



**POLSKIE TOWARZYSTWO  
TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI**

# **ŻYWNOŚĆ**

**NAUKA • TECHNOLOGIA • JAKOŚĆ**

**Nr 1 (38)**

**Kraków 2004**

**Rok 11**

# ŻYWNOSC

## Organ naukowy PTTŻ – kwartalnik

Nr 2 (39)

Kraków 2004

Rok 11

### SPIS TREŚCI

Od Redakcji .....	3
MIROSŁAW FIK: Czerstwienie pieczywa i sposoby przedłużania jego świeżości .....	5
GRAŻYNA KRASNOWSKA, EWA DWORECKA: Ocena przydatności proteaz trzustkowych do degradacji surowców zwierzęcych bogatych w tkankę łączną .....	23
BOŻENA DANYLUK, ARKADIUSZ MEDYŃSKI, EDWARD POSPIECH, ANDRZEJ ŁYCYŃSKI, BOŻENA GRZEŚ: Ocena wpływu mikrokapsułkowanego chlorku sodu na stan mikrobiologiczny mięsa ze schabu i z karkówki przechowywanego w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych .....	32
TADEUSZ SZMAŃKO, ZBIGNIEW DUDA, JAROSŁAW SZCZEPAŃSKI, EWA DWORECKA: Zmiany przechowalnicze tłuszczu oraz zanieczyszczenie mikrobiologiczne wędzonek w zależności od warunków przechowywania .....	46
ROMAN PAWŁOWICZ, BRONISŁAW DROZDOWSKI: Oznaczanie fazy stałej w tłuszczach ..	59
ROMAN PAWŁOWICZ: Wpływ procedury termostatowania oraz sposobu przeprowadzenia pomiaru na wyniki oceny zawartości fazy stałej w wybranych tłuszczach.....	69
MAŁGORZATA ZIARNO, EWA SEMENIUK, KATARZYNA KYCIA: Zastosowanie preparatów błonnikowych różnego pochodzenia jako dodatków do wypieku chlebów bezglutenowych.....	81
HANNA GIRYN, BARBARA SZTEKE, KRYSZYNA SZYMCZYK: Wpływ procesu technologicznego i przechowywania na zawartość kwasów organicznych w zagęszczonych sokach jabłkowych .....	92
MAREK GAJEWSKI, JADWIGA RADZANOWSKA: Skład chemiczny i jakość sensoryczna kapusty głowiastej w zależności od jej odmiany i dawki azotu stosowanej w nawożeniu mineralnym .....	108
PIOTR REGIEC: Zastosowanie membran z tworzyw syntetycznych do oczyszczania soku dyfuzyjnego.....	121
TOMASZ SADŁOŃ, KRZYSZTOF PIEKARCZYK: Kontrola bakteriologiczna urządzeń dozujących wodę po zastosowaniu zabiegów mycia i dezynfekcji .....	134
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie krajowym .....	141
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, KATARZYNA MARCINIAK-DARMOCHWAŁ: Współczesny leksykon wiedzy o żywności .....	146
STANISŁAW POPEK: Nowe książki .....	148
PROF. DR HAB. STANISŁAW BUJAK 1914–2003 .....	152
<b>Technolog Żywności .....</b>	<b>154</b>

*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 2 (39)

Kraków 2004

Vol. 11

## CONTENTS

From the Editor .....	3
MIROSŁAW FIK: Bread staling and methods of prolonging its freshness .....	5
GRAŻYNA KRASNOWSKA, EWA DWORECKA: The use of pancreas proteases for the degradation of animal products rich in connective tissue.....	23
BOŻENA DANYLUK, ARKADIUSZ MEDYŃSKI, EDWARD POSPIECH, ANDRZEJ ŁYCYŃSKI, BOŻENA GRZEŚ: Evaluation of the effect of microencapsulated NaCl on microbial quality of loin and neck stored under chilled and frozen conditions .....	32
TADEUSZ SZMAŃKO, ZBIGNIEW DUDA, JAROSŁAW SZCZEPAŃSKI, EWA DWORECKA: The impact of long-term storage of processed meat products under varying conditions on the microbial contamination and intramuscular fat deterioration .....	46
ROMAN PAWŁOWICZ, BRONISŁAW DROZDOWSKI: The determination of solid fat content in fats .....	59
ROMAN PAWŁOWICZ: The effect of thermostating procedures and methods of measurements on the evaluation results of solid fat contents in some selected fats .....	69
MAŁGORZATA ZIARNO, EWA SEMENIUK, KATARZYNA KYCIA: The impact of the calcium salts addition on the stability of milk used in the cottage cheese production .....	81
HANNA GIRYN, BARBARA SZTEKE, KRYSZYNA SZYMCZYK: The effect of processing and storing on the organic acid content in concentrated apple juices.....	92
MAREK GAJEWSKI, JADWIGA RADZANOWSKA: Chemical composition and sensory quality of white cabbage depending on the cabbage cultivar and nitrogen dose as applied in mineral fertilization .....	108
PIOTR REGIEC: A purification treatment of diffusion juice using synthetic membranes .....	121
TOMASZ SADŁOŃ, KRZYSZTOF PIEKARCZYK: Bacteriological analysis of cleaned and disinfected distributors .....	134
GRAŻYNA MORKIS: Food Problems in Polish Legislation.....	141
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, KATARZYNA MARCINIAK-DARMOCHWAŁ: Food Science Lexicon – Contemporary Terms.....	146
STANISŁAW POPEK: Book Reviews .....	148
PROF. DR HAB. STANISŁAW BUJAK 1914–2003 .....	152
<b>The Food Technologist. ....</b>	<b>154</b>

---

*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.pttz.org](http://www.pttz.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 1444 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 Baryłko-Pikielna, prof. dr hab. Janusz Czapski,  
prof. dr hab. Mirosław Fik, prof. dr hab. Józef Fornal, prof. dr hab. Roman A. Grzybowski,  
prof. dr hab. Jan Kiszka, prof. dr hab. Henryk Kostyra, prof. dr hab. Andrzej Lenart,  
prof. dr hab. Helena Oberman, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, prof. dr hab. Stanisław  
Tyszkiewicz

**RADA KONSULTACYJNA:**

prof. dr Henryk Daun (USA), prof. dr Jerzy Jankun (USA), dr Józef Korolczuk (Francja),  
prof. dr Marian Naczka (Kanada), prof. dr Jan Pokorný (Czechy), prof. dr Roman Przybylski  
(Kanada), dr Andrzej Sośnicki (USA), dr Leszek Stepaniak (Norwegia), dr Alina Surmacka-  
Szcześniak (USA), dr John Wojciak (Kanada).

**WYDAWCA:**

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW 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; www.akapit.krakow.pl

e-mail: wn@akapit.krakow.pl



MIROSŁAW FIK

## CZERSTWIENIE PIECZYWA I SPOSOBY PRZEDŁUŻANIA JEGO ŚWIEŻOŚCI

### Streszczenie

Pieczywo charakteryzuje się krótkim okresem trwałości i przydatności do spożycia, co jest związane z szybkim jego czerstwieniem. W pracy przedstawiono obecny stan wiedzy z zakresu czerstwienia i omówiono wpływ tego procesu na jakość oraz przydatność chleba do spożycia. Szczególnie wiele miejsca poświęcono na omówienie roli w tym procesie niektórych składników chemicznych takich, jak: skrobia, białka, woda i węglowodany nieskrobiowe. Wyjaśniono również znaczenie poszczególnych substancji (preparaty enzymatyczne, emulgatory i hydrokoloidy, związki lipidowe, białka, węglowodany nieskrobiowe) bądź procesów (mrożenie, pakowanie i przechowywanie w modyfikowanej atmosferze) w przedłużaniu świeżości i trwałości pieczywa.

**Słowa kluczowe:** pieczywo, czerstwienie, przedłużanie świeżości, trwałość.

### Wprowadzenie

Chleb jest jednym z podstawowych produktów zbożowych, dostarczającym konsumentom wielu cennych składników odżywczych. Na przestrzeni wieków ulegał on przemianom, których celem było zwiększenie jego trwałości oraz dostosowanie cech do zmieniających się preferencji konsumentów. Aby przyspieszyć proces przygotowywania ciasta do wypieku zaczęto w połowie XIX w. dodawać sprasowane drożdże. Ówczesne receptury miały prosty skład i na ogół zawierały w odpowiednich proporcjach jedynie mąkę, wodę, drożdże i sól. Obecnie do uzyskania wyrobów o pożądanych cechach jakościowych stosuje się wiele rozmaitych dodatków do mąki takich, jak: tłuszcze, mleko, spulchniacze, ziarna zbóż i wiele innych. Odpowiednio dobrana receptura jest bowiem, obok prawidłowego procesu technologicznego, jednym z zasadniczych warunków otrzymania dobrego produktu finalnego.

Jakość pieczywa jest zagadnieniem dość złożonym oraz trudnym do prostego zdefiniowania. Obejmuje ona bowiem zespół rozmaitych cech takich, jak: wartość odżywcza, zdrowotność, smakowitość, świeżość i trwałość, a także atrakcyjność dla konsumenta. Pieczywo należy do produktów nietrwałych i niekorzystne zmiany fizykochemiczne zaczynają się w nim pojawiać bezpośrednio po wypieku. Procesy te powodują stosunkowo szybkie pogorszenie jakości sensorycznej oraz struktury przestrzennej miękiszu i niekiedy już nawet po kilku godzinach chleb może być zdyskwalifikowany przez konsumentów. Trwałość oraz jego przydatność do spożycia w trakcie przechowywania jest na ogół ograniczana częściowymi ubytkami wilgoci, chociaż nie jest to zwyczajne wysychanie, rozwojem pleśni i drożdży oraz przede wszystkim procesem czerstwienia [10]. Na ogół chleb żytni oraz mieszany z udziałem mąki żytniej wolniej czerstwieją niż chleb pszenny, podobnie jak wyroby piekarskie z mąką o wyższej zawartości i lepszej jakości białka. Problem świeżości chleba jest zagadnieniem budzącym od lat duże zainteresowanie piekarzy i konsumentów, toteż procesowi starzenia się pieczywa ciągle poświęca się bardzo wiele uwagi w literaturze polskiej i światowej [22, 26, 32, 45, 65, 69, 70, 79, 84, 92, 96].

### **Proces czerstwienia pieczywa**

Czerstwienie pieczywa jest zwykle definiowane jako ogół kompleksowych zmian (bez udziału mikroorganizmów), które pojawiają się po wypieku i prowadzą do utraty świeżości i pogorszenia jakości wypieczonego produktu [37]. Z ważniejszych można wymienić niekorzystne zmiany cech sensorycznych i właściwości fizykochemicznych, szczególnie struktury i mechanicznego charakteru miękiszu oraz skórki, a także zmniejszenie rozpuszczalności skrobi z jednoczesnym wzrostem stopnia jej rekrytalizacji i spadek zdolności wiązania wody przez miękisz składowanego chleba [46, 91]. Procesy te nasilają się z różną szybkością i w ich wyniku następuje wzrost twardości, suchości i kruchości miękiszu oraz utrata jego elastyczności, zmniejszenie chrupkości skórki, a także zanik aromatu i charakterystycznych cech świeżości w miarę przechowywania produktów piekarskich [52]. Czerstwienie jest więc objawem starzenia się pieczywa, ograniczającym jego przydatność konsumpcyjną. Może być ono częściowo spowodowane migracją wilgoci z miękiszu do skórki w wyniku zmian zachodzących w układach koloidalnych [12], ale niekoniecznie proces ten musi być związany ze stratami wody. Potwierdził to Kulp [57], który jednocześnie za główny czynnik czerstwienia chleba uznał przemiany frakcji skrobi. Stwierdził on również, że tworzenie się kompleksów pomiędzy polimerami skrobiowymi, tłuszczami oraz białkami hamuje agregację amylozy i amylopektyny. W związku z tym ilość tych składników znacząco wpływa na powstrzymywanie szybkości starzenia się pieczywa i dlatego produkty takie, jak ciastka i herbatniki, które mają większą niż chleb zawartość tłuszczu, czerstwieją wolniej, ale mogą być bardziej podatne na oksydację lipidów i



rozwój zjełczałego zapachu [86]. Czerstwienie jest zatem procesem bardzo złożonym, uzależnionym od wielu czynników i dotychczas nie w pełni poznany. Znaczny wpływ na rozwój tego procesu mają przemiany niektórych składników chemicznych, których znaczenie omówiono poniżej.

### *Skrobia*

Przez wiele lat uważano, że wzrastająca twardość miękiszu związana jest z przemianami frakcji skrobiowej mąki, a w szczególności z rekryształizacją rozgałęzionej amylopektyny [78], ale niektórzy autorzy [35, 81] nie zgadzali się z tym, aby uważać te procesy za jednoznaczne. Jednakże wyniki nowszych badań wskazują, że z mechanizmu twardnienia miękiszu chleba nie można całkowicie wykluczyć retrogradacji skrobi [31], chociaż w niektórych przypadkach na jego twardnienie mogą silniej wpływać inne czynniki niż krystalizacja amylopektyny [42]. Skrobia jako podstawowy składnik pieczywa podlega z różną intensywnością istotnym przemianom fizykochemicznym. W surowym cieście występuje ona w postaci natywnej, podczas wypieku kleikuje, a w trakcie przechowywania gotowego produktu następuje jej retrogradacja, której sprzyja duże stężenie amylozy oraz niska temperatura. Skrobie tzw. woskowe oraz amylopektyna retrogradują o wiele słabiej ze względu na przestrzenne rozgałęzienie cząsteczki. Napęczniałe ziarenka i częściowo rozpuszczalna skrobia są charakterystyczne dla świeżego pieczywa [54], ponieważ wypiek uwodnionego ciasta powoduje przemianę jej uporządkowanej formy na amorficzną. Proces kleikowania prowadzi do uwodnienia skrobi oraz wzrostu objętości granulek skrobiowych, ich rozrywania i utraty struktury krystalicznej. Z upływem czasu składowania chleba cząsteczki skrobiowe ponownie się łączą i mogą rozwinąć bardziej zwartą oraz uporządkowaną strukturę, co objawia się wzrostem twardości oraz utratą pożądanej elastyczności miękiszu [19]. Duże znaczenie w tym procesie przemian ma retrogradacja amylopektyny, której rozgałęzienia nakładają się i wzajemnie asocjują, zwiększając tym samym sztywność struktury miękiszu. Według Durana i wsp. [19], w badaniach zmian mikrostruktury frakcji skrobiowych przydatna jest różnicowa kalorymetria skaningowa, która umożliwia także ocenę wpływu na zachodzące przemiany i innych składników takich, jak: gluten, tłuszcze, sól czy cukry. W studiach nad zmianami tej mikrostruktury mogą być także wykorzystywane metody mikroskopii świetlnej [47, 75].

### *Białka*

Wyniki nowszych badań [68] wskazują, że oprócz skrobi w tworzeniu struktury ciasta i miękiszu niezmiernie ważne są również przemiany mącznych frakcji nieskrobiowych takich, jak: substancje białkowe, tłuszcze, woda i cukry. W przypadku mąki, szczególnie pszennej, ważną rolę spełniają tzw. białka glutenowe (gliadyna i

glutenina), tworzące po uwodnieniu gąbczastą strukturę glutenu [18, 94], który w wyniku polimeryzacji podczas ogrzewania przechodzi z żelu w zol [20]. Natomiast w powstawaniu struktury ciasta żytniego bierze udział głównie skrobia. Możliwości wspomnianych białek w tworzeniu tej unikalnej struktury glutenowej były przedmiotem badań wielu naukowców [13], ale do tej pory nie w pełni udało się wyjaśnić jak ona powstaje w różnych etapach wypieku pieczywa [9, 84]. Prawdopodobnie znaczącą rolę mogą tu mieć ilości i rozmiary makropolimeru gluteniny [39]. Ilość nierozpuszczalnych glutenin wpływa nie tylko na strukturę miękiszu, ale i na jego właściwości mechaniczne. Pewne znaczenie w tworzeniu struktury podczas wypieku mają także interakcje pomiędzy zdenaturowanym glutenem i napęczniałą skrobią, co zostało stwierdzone na podstawie badań prowadzonych z zastosowaniem skaningowego mikroskopu elektronowego [76], przy czym udział dużych ziarenek skrobiowych jest tu znacznie większy niż małych. W utworzonej ze skoagulowanych białek strukturze szkieletowej wtopione są ziarenka napęczniałej i częściowo skleikowanej skrobi. W pieczywie świeżym przylegają one szczelnie do białka, natomiast w produkcie czerstwym brak jest takiej szczelności, a w wolnych przestrzeniach występuje wokół ziarenek skrobiowych warstwa powietrza. Im bardziej czerstwy chleb, tym większe są komory powietrzne świadczące o zmniejszaniu się objętości tych ziarenek w miarę postępującego procesu starzenia. Martin i wsp. [68] oraz Hosenev i Miller [46] przedstawili nową teorię, która wyjaśnia mechanizm starzenia się chleba. Według nich wzrost twardości podczas czerstwienia związany jest z powstawaniem wiązań krzyżowych pomiędzy napęczniałą skrobią i zdenaturowanym glutenem. Im bardziej napęczniałe granulki skrobiowe, tym większa jest powierzchnia kontaktu i liczba tych wiązań. Na ogół są to stosunkowo słabe wiązania wodorowe, łatwo ulegające rozrywaniu w podwyższonej temperaturze, np. przy odświeżaniu pieczywa. Zawartość tzw. mokrego glutenu należy więc do ważnych cech mąki, a charakterystycznym wskaźnikiem ilościowo-jakościowym jest tzw. liczba glutenowa, która określa jakość tego surowca w odniesieniu do takich cech, jak zdolność ciasta do zatrzymywania gazów i odporność na obróbkę mechaniczną. Chleb dobrze wyrośnięty, pulchny i o równomiernej porowatości miękiszu uzyskuje się z mąk charakteryzujących się liczbą glutenową w zakresie 40–60. Składnik ten w pewnej mierze pełni rolę lepiszcza ziarenek skrobiowych w pieczywie, natomiast przypuszczalnie mniejszy jest jego bezpośredni wpływ na powstrzymanie procesu twardnienia miękiszu. Morgan i wsp. [73] udowodnili bowiem, że chleb z mąki pozbawionej glutenu twardnieje w takim samym stopniu jak jego odpowiednik z mąki normalnej. Badania tych autorów nie wykazały istotnej korelacji pomiędzy stopniem zestalenia i wzajemnymi reakcjami skrobi z glutenem, toteż wciąż najważniejsze znaczenie w procesie czerstwienia wydają się mieć przemiany składnika skrobiowego [98], a podatność produktów piekarskich na niekorzystne zmiany podczas starzenia

uzależniona jest w znacznej mierze od wielkości ziarenek skrobiowych oraz stopnia ich napęcznienia i skleikowania [31].

#### *Woda*

Pewne znaczenie w procesie czerstwienia pieczywa ma również zawarta w nim woda, ale jak wykazali Kamel i Stauffer [53], proces ten nie jest spowodowany przez jej straty. Optymalna zawartość wody jest niezbędna do utworzenia pożądanej formy produktu finalnego. Woda występuje w postaci związanej, tworząc odpowiednią strukturę wyrobów piekarskich, oraz wolnej, która jest odpowiedzialna za prawidłową konsystencję ciasta [36]. Ilość dodawanej wody do mąki w czasie przygotowywania ciasta zależy od jej fizykochemicznych właściwości i zawartości w niej wilgoci. Ciasto zwykle zawiera od 40 do 60% wody, co odpowiada 0,67–0,85 g/g mąki, a jej udział zwiększa się wraz ze wzrostem stężenia białka i ilości uszkodzonych ziarenek skrobiowych. W obecności H<sub>2</sub>O poniżej 35% nie następuje formowanie ciasta, natomiast przy zawartości powyżej 50% otrzymuje się ciasto bardzo płynne. Bushuk i MacRitchie [13] podają, że woda w cieście jest absorbowana przez skrobię (46%), białka (31%) i pentozany (23%), przy czym skrobia może zaabsorbować od 40 do nawet 200% H<sub>2</sub>O, w zależności od tego czy występuje w formie natywnej, czy uszkodzonej. Na ogół ilość wody mocno związanej jest większa w produktach czerstwych i termodynamicznie stabilnych niż w świeżych, w stanie metastabilnym, przy czym skrobia skleikowana zawiera jej więcej niż gluten. Nadmiar H<sub>2</sub>O mocno związanej zmniejsza się podczas przechowywania chleba. Badania przeprowadzone przez Gila i wsp. [36] wykazały, że wzrost wilgotności nie polepsza jakości i zachowania pożądanych właściwości składowanych produktów piekarskich otrzymywanych z mąki standardowej, ale chleb wyprodukowany z mąki wzbogaconej w gluten charakteryzuje się przy wyższej zawartości wody lepszą jakością i sprężystością oraz wolniej czerstwieje. Zawartość wody jest ważnym i podstawowym czynnikiem wpływającym przede wszystkim na stopień rekrystalizacji skrobi oraz połączone z tym częściowe czerstwienie wyrobów przemysłu piekarskiego, chociaż wzrost ich twardości w czasie przechowywania nie jest związany ze stratami wilgoci, ale z jej przemieszczaniem się z glutenu do skrobi lub odwrotnie. Szybkość tego przemieszczania uzależniona jest między innymi od stopnia pęcznienia, uwodnienia i degradacji oligosacharydów i dekstryn, ilości i rodzaju składników cukrowych oraz ich interakcji, a także obecności w stosowanych surowcach pentozanów i lipidów.

#### *Zmiany aromatu i smaku*

Czerstwienie to także utrata przyjemnego aromatu i smaku pieczywa świeżego. Bezpośrednio po wypieku substancje smakowo-zapachowe są nierównomiernie rozmieszczone w produkcie. W skórce pochodzą one głównie z kompleksowych

reakcji cukrów i związków azotowych oraz z pirolizy składników węglowodanowych, a w miększu powstają podczas fermentacji ciasta. W czasie schładzania gorącego pieczywa lotne składniki smakowo-zapachowe ulegają kondensacji i są absorbowane przez skrobię oraz substancje białkowe, a część z nich jest tracona poprzez parowanie, utlenianie lub tworzenie nierozpuszczalnych kompleksów ze skrobią. W związku z tym smak i zapach świeżych wyrobów piekarskich są bardziej złożone niż produktów przechowywanych. Przyczyną zaniku aromatu i charakterystycznego ich smaku są między innymi zmiany związków karbonylowych, a przede wszystkim duży spadek zawartości aldehydów w trakcie składowania [22].

### **Stosowane substancje i procesy do przedłużania świeżości oraz trwałości produktów piekarskich**

#### *Preparaty enzymatyczne*

Straty ekonomiczne związane ze starzeniem się pieczywa skłaniają do poszukiwania optymalnych sposobów powstrzymujących rozwój tego procesu i przedłużenia jego bardzo krótkiej świeżości, wynoszącej zwykle od jednego do dwóch dni. Od wielu lat wiadomo, że jako czynniki spowalniające proces czerstwienia mogą działać niektóre preparaty enzymatyczne [63, 91]. W odniesieniu do pieczywa szczególnie interesującymi i skutecznymi enzymami są amylazy, które dodane do ciasta powodują rozkład skrobi do dekstryn i dwucukrów, polepszają porowatość miększu, zwiększają objętość i znacząco powstrzymują szybkość starzenia się chleba [2, 73, 96]. Optymalne są takie enzymy, które wykazują aktywność powyżej temperatury kleikowania skrobi i tracą ją w wyniku inaktywacji termicznej pod koniec wypieku. Dlatego preparaty enzymatyczne o niskiej termostabilności takie, jak amylazy grzybowe i zbożowe, nie mogą znacznie zmniejszyć twardości miększu, a preparaty o wysokiej stabilności termicznej (amylazy bakteryjne), pomimo wpływu na strukturę, powodują jego gumowatość i brak typowej elastyczności. W związku z tym, aby otrzymać pieczywo o korzystnych właściwościach strukturalnych, należy kontrolować działanie amylaz bakteryjnych, ale jest to bardzo trudne, gdyż proces wypieku nie inaktywuje tych enzymów i nadal są one aktywne w gotowych produktach. Najlepsze do tego celu są egzoenzymy o średniej termostabilności [12, 44], produkowane przez *Bacillus megaterium* i *Aspergillus niger*. Do jednych z najlepiej poznanych enzymów, skutecznie ograniczających szybkość procesu czerstwienia i zwiększających trwałość chleba, należą  $\alpha$ -amylazy [91], które po dodaniu do ciasta powodują podczas wypieku uwolnienie ze skrobi niskocząsteczkowych dekstryn utrudniających retrogradację amylopektyny [2] i powstawanie wiązań krzyżowych pomiędzy glutenem oraz skleikowanymi ziarenkami skrobiowymi [67]. Również Rojas i wsp. [82] na podstawie wyników

przeprowadzonych badań modelowych sugerują, że dekstryny mogą być odpowiedzialne za powstrzymywanie szybkości twardnienia miękiszu i retrogradacji amylopektyny.  $\alpha$ -Amylaza dostarcza też drożdżom odpowiedniej ilości cukrów do procesu fermentacji, przez co polepsza ich wzrost i stwarza warunki do produkcji gazu w cieście oraz korzystnie modyfikuje właściwości teksturalne pieczywa [77]. Yaseen i wsp. [96] stwierdzili, że dodanie tego enzymu i pektyny z jabłek do ciasta chlebowego z mąki pszennej powoduje zwiększenie objętości właściwej chleba świeżego i porowatości, a także zmniejszenie twardości i gumowatości przy jednocześnie podwyższonej elastyczności, kohezji i współczynnika powrotu objętości miękiszu. Zastosowane przez wspomnianych autorów dodatki hamowały czerstwienie chleba przechowywanego w temperaturze pokojowej, nie obniżając jego jakości. Jako środki polepszające jakość pieczywa można stosować, oprócz enzymów rozkładających skrobię, również enzymy rozkładające białka, tłuszcze [89] i hemicelulozę [43, 89] oraz należące do niej pentozany [83]. Dodatek proteaz stosowany jest do mąk z mocnym glutenem, co powoduje rozluźnienie jego struktury i polepszenie konsystencji ciasta oraz barwy skórki, a także zwiększenie objętości pieczywa. Dodatki celulaz zmniejszają twardość miękiszu i spowalniają retrogradację skrobi [43], a pentozanazy rozkładając pentozany poprawiają strukturę miękiszu oraz powodują wzrost objętości bochenków i umożliwiają równomierne rozmieszczenie w nich wody [78, 83]. Natomiast dzięki działalności lipaz uwalniane są z dodanych tłuszczów mono- i diglicerydy, które wpływają na poprawę miękkości chleba [56], a korzystny wpływ dodanych do mąki specyficznych lipaz łącznie z triglicerydami objawia się również poprawą objętości bochenków i zmniejszeniem szybkości ich twardnienia oraz czerstwienia. Gil i wsp. [37] stwierdzili, że dodatek  $\alpha$ -amylazy bakteryjnej łącznie z lipazą i pentozanazą do ciasta chlebowego z mąki pszennej polepsza od drugiego dnia składowania jakość gotowego produktu poprzez obniżenie twardości i zwiększanie elastyczności miękiszu, przedłużając o dwa dni jego przydatność do spożycia. W wielu krajach, w tym również w Polsce, stosuje się aktywne enzymatycznie dodatki mączki słodowej lub ekstraktów słodowych. Ze względu na ich skład i zawartość cukrów oraz substancji azotowych zwiększają one zdolności fermentacyjne drożdży oraz w pewnym stopniu objętość chleba, nadają mu charakterystyczny aromat, powodują lepsze zbrązowienie skórki i spowalniają proces czerstwienia [4]. Często stosowane są w piekarstwie także dodatki mąki sojowej i syropu ziemniaczanego, zawierające lipooksygenazę. Enzym ten utlenia barwniki karotenoidowe oraz nienasycone kwasy tłuszczowe, co ma wpływ na rozjaśnienie barwy miękiszu pieczywa, poprawienie jego struktury, zwiększenie objętości i modyfikację aromatu. Niekiedy zamiast preparatów enzymatycznych korzystne jest dodawanie do ciasta części surowca w postaci skleikowanej, np. zaparzonej mąki lub gotowanych ziemniaków. Skleikowaną skrobię łatwiej hydrolizują endogenne enzymy zawarte w mące, a powstałe dekstryny

zwiększając hydratację miększu i powstrzymują jego twardnienie. Według Gambuś i wsp. [33], przy produkcji chleba pszennego optymalny jest dodatek 5% zaparzonej mąki żytniej i pszenżytniej. Podobną rolę może spełniać skrobia ekstrudowana, która ze względu na znaczny stopień rozkładu i zwiększoną zawartość dekstryn zapobiega starzeniu się pieczywa poprzez interakcje z glutenem [97]. W przemyśle piekarskim USA i niektórych krajów europejskich do poprawy jakości pieczywa powszechnie stosuje się dodatek gotowych hydrolizatów skrobiowych lub wysuszonych maltodekstryn [28], przy czym coraz częściej są one stosowane jako zamienniki tłuszczu.

#### *Emulgatory i hydrokoloidy*

Korzystny wpływ na jakość i trwałość pieczywa mają substancje powierzchniowo czynne kształtujące strukturę, a przede wszystkim emulgatory i hydrokoloidy [45, 55]. Według Ambroziaka [4] tworzą one w procesie mieszenia silne połączenia z białkiem i wzmacniają w ten sposób strukturę ciasta, a podczas wypieku w wysokiej temperaturze łączą się w kompleksy ze skrobią, wpływając na zwiększenie elastyczności miększu chleba i przedłużenie jego świeżości. Jako emulgatory tłuszczów piekarniczych oraz wyrobów ciastkarskich i pieczywa cukierniczego stosowane są mono- i diglicerydy kwasów tłuszczowych względnie ich mieszaniny, a także ich estry z niektórymi kwasami, m.in. winowym, bursztynowym, mlekowym, cytrynowym i octowym. Naturalnym emulgatorem jest lecytyna, która jako fosfolipid towarzyszy tłuszczom zwierzęcym i roślinnym. W skali przemysłowej otrzymuje się ją przez hydratację olejów roślinnych, najczęściej sojowego i rzepakowego. Haber i wsp. [40] stwierdzili, że chleb pszenny z dodatkiem lecytyny rzepakowej lub sojowej, w porównaniu z jego odpowiednikiem bez dodatków, charakteryzował się mniejszą twardością i ściśliwością miększu, zwolnionym tempem czerstwienia oraz większą objętością bochenków, co było skorelowane z ilością zatrzymywanego w cieście CO<sub>2</sub>. W badaniach tych najkorzystniejszym działaniem wykazała się lecytyna hydroksylowana. Według Lewczuka i Sobczyk [62], dodatek 1% surowej albo sproszkowanej lecytyny sojowej do mąki pszennej miał korzystny wpływ na jakość i przedłużenie przydatności konsumpcyjnej pieczywa. Również duże znaczenie, szczególnie w tworzeniu ciasta oraz kształtowaniu micelarnej matrycy glutenowej, mają hydrokoloidy [71, 72]. Charakteryzują się one dużą zdolnością pochłaniania wody i ich obecność wyraźnie wpływa na cechy fizyczne glutenu oraz zmniejszoną szybkość twardnienia miększu, a tym samym i na jakość chleba [16]. W skali przemysłowej najczęściej stosowane są spośród nich naturalne gumy roślinne, mączki z nasion lub bulw roślinnych oraz hydrokoloidy otrzymywane metodami mikrobiologicznymi.

### *Związki lipidowe*

Znaczny wpływ na jakość i trwałość pieczywa mają także dodawane tłuszcze oraz lipidy endogenne mąki [15, 58, 88]. W trakcie wypieku ciasta tworzą one kompleksy ze skrobią i tym samym opóźniają czerstwienie oraz twardnienie miększu chleba, przy czym bardziej zmiękcza jego strukturę wpływa smalec niż oleje [81, 87]. Lipidy mogą być też kompleksowane przez białka mąki w trakcie rozrostu ciasta [14]. Powstawanie agregatów lipidowo-skrobiowych jest związane głównie z obecnością niskocząsteczkowych białek hydrofobowych o silnych tendencjach agregacyjnych (tzw. ligoliny), które odpowiedzialne są za rozmieszczenie tłuszczu pomiędzy białkiem glutenu [29]. Tłuszcze wbudowane w matrycę białkową mają zasadnicze znaczenie, gdyż kształtują odpowiednie właściwości lepkością usieciowanego glutenu, które są konieczne w celu ekspansji i retencji dwutlenku węgla [66]. Collar i wsp. [15] stwierdzili, że pożądane trendy w parametrach lipidowych ciasta, wynikające ze wzmocnienia glutenu, jak również opóźnione żelowanie skrobi, większa miękkość chleba i zmniejszone jego czerstwienie korespondują z wyższą zawartością lipidów wolnych, jak i związanych ze skrobią. Na ogół zawartość tłuszczów endogennych w mąkach jest stosunkowo niewielka, toteż ich odpowiedni dodatek przedłuża świeżość chleba i zapewnia drobno porowatą strukturę miększu.

### *Białka*

Pozytywny wpływ na wiele cech pieczywa wykazuje dodatek do mąki glutenu pszennego lub innych białek albo surowców bogatych w te składniki takich, jak mąka sojowa i produkty mleczarskie [30, 34, 48]. Odtłuszczone mleko w proszku dodawane w ilościach nieprzekraczających 3% nie tylko zwiększa wartość odżywczą białek i ilość wapnia w mące, ale także polepsza porowatość miększu, barwę skórki oraz smakowość chleba i przedłuża jego świeżość. Również chleb z dodatkiem serwatki wykazuje lepszą elastyczność i porowatość, korzystniejsze walory smakowo-zapachowe oraz intensywniejsze zabarwienie skórki i charakteryzuje się dłuższą przydatnością do spożycia niż jego odpowiednik bez tego składnika [21, 65]. Według Habera i wsp. [41] dodatki zagęszczonej serwatki kwasowej albo jej odpowiednika z zawartością sacharozy do ciasta pszennego miały korzystny wpływ na jakość pieczywa, przy czym za najważniejsze ze względu na wyższy stopień zagęszczenia (do ok. 60% s.m.) jest wykorzystanie do tego celu tej ostatniej. Zawarty w serwatce wapń powoduje jednak pewien wzrost stopnia agregacji białek poprzez formowanie się połączeń jonowych pomiędzy grupami karbonylowymi sąsiednich łańcuchów białkowych. Mannie i Asp [65] podkreślają, że zjawisko to ma znaczący wpływ na twardość chleba, toteż mniejsza zawartość wapnia w białkach serwatkowych może ułatwiać zachowanie przez miększ pożądanej miękkości. Jednakże inni amerykańscy

badacze [21] stwierdzili, że poddane obróbce termicznej białka serwatkowe zmniejszają szybkość czerstwienia pieczywa.

#### *Węglowodany nieskrobiowe*

Korzystny wpływ na wartość technologiczną ciasta i na jakość pieczywa wywiera nieskrobiowa frakcja cukrów, stanowiąca dużą część błonnika pokarmowego. W skład tej frakcji w ziarnie żyta wchodzi głównie substancje pentozanowe (arabinoksylany) zarówno rozpuszczalne, jak i nierozpuszczalne w wodzie, celuloza, ligniny, beta-glukany i niewielkie ilości pektyn [64]. Najwięcej pentozanów zawierają mąki żytnie (3–8%), natomiast mniejsze ich ilości (2–3%) stwierdzono w mąkach pszennych [9, 38, 83]. Substancje te charakteryzują się dużą wodochłonnością oraz zdolnością do tworzenia roztworów wodnych o zwiększonej lepkości i stąd są one ważnym składnikiem funkcjonalnym ciasta chlebowego oraz otrzymanego z niego pieczywa [17]. Niezależnie od podobieństw struktury chemicznej pentozanów rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych wykazują one różny wpływ na właściwości technologiczne ciast i cechy jakościowe chleba. Na ogół istnieje przekonanie, że pentozały nierozpuszczalne korzystnie wpływają na objętość bochenków chleba i właściwości teksturalne miękiszu, natomiast dodatek pentozanów rozpuszczalnych powoduje jedynie wzrost ich objętości. Michniewicz i wsp. [70] stwierdzili, że substancje te ograniczają tworzenie się międzycząsteczkowych połączeń amylozy w matrycy skrobiowo-glutenowej i opóźniają proces retrogradacji żelu skrobiowego oraz szybkość czerstwienia pieczywa. Objawia się to zmniejszeniem spadku zawartości rozpuszczalnej amylozy w przechowywanym pieczywie oraz zwiększoną podatnością skrobi na działanie  $\alpha$ -amylazy [51], a także wpływem dodanych pentozanów na niektóre cechy fizyczne i technologiczne ciasta oraz glutenu [69]. Podobny wpływ na polepszenie jakości i świeżości wyrobów piekarskich ma również dodatek do mąki 2% suchego ekstraktu pektyny z jabłek [8].

#### *Inne czynniki wpływające na trwałość pieczywa*

Na trwałość pieczywa wpływają nie tylko dodatki do mąki lub ciasta rozmaitych substancji naturalnych czy polepszaczy syntetycznych, ale także dobra jakość podstawowego surowca jakim jest mąka, odpowiednie przygotowanie ciasta, prawidłowy proces wypieku oraz warunki przechowywania gotowych wyrobów. Duże znaczenie w istotnym wydłużeniu okresu ich przydatności do spożycia ma proces intensywnego mieszania i zaparzania części mąki. Również odpowiednio dobrane warunki procesu fermentacyjnego, właściwe parametry obróbki i optymalny rozrost ciasta, a zwłaszcza optymalna temperatura jego wypieku, są ściśle powiązane z końcową jakością i trwałością przechowalniczą chleba [3]. Jankiewicz i wsp. [50] stwierdzili, że także utrwalanie radiacyjne dawką 1,5 kGy uprzednio zapakowanego



chleba pszennego oraz żytniego jasnego i razowego w folię aluminiową i papier kraft warunkuje utrzymanie ich dobrej jakości mikrobiologicznej (powstrzymanie rozwoju pleśni) i trwałości w okresie 30 dni składowania w temperaturze pokojowej lub wyższej, przy czym czerstwienie pieczywa jest w większym stopniu uzależnione od metody produkcji niż utrwalania mikrobiologicznego, które nie chroni go przed zmianami właściwości koloidowych skleikowanej skrobi. Według tych autorów, do utrwalania pieczywa opakowanego można z powodzeniem stosować też metodę termiczną, polegającą na jego ogrzaniu do temperatury 95°C wewnątrz miękiszu. W Polsce dopuszcza się również do konserwacji pieczywa substancje tzw. antypleśniowe, tj. kwas propionowy oraz niektóre jego sole, a przede wszystkim sodową i wapniową. Dodatek ich do mąki w ilości 0,2% (m/m) pozwala na przedłużenie trwałości chleba do 10 dni, ale opóźnia on nieco fermentację ciasta, a w przypadku wyrobu z mąk jasnych zmienia jego posmak. Dobrymi właściwościami antyseptycznymi charakteryzuje się także alkohol etylowy [86]. Substancje konserwujące nie są jednak uniwersalnym i radykalnym środkiem, ale jedynie pomocniczym w uzyskaniu dłuższej trwałości. W niektórych krajach istnieje zakaz ich stosowania do pieczywa.

#### *Mrożenie pieczywa*

Bardzo skutecznym sposobem opóźniania czerstwienia i przedłużania trwałości oraz przydatności do spożycia jest proces zamrażania i przechowywania pieczywa w stanie zamrożonym [23]. Ogólnie bowiem wiadomo, że obok wilgotności względnej powietrza znaczący wpływ na jego świeżość ma temperatura składowania. Najkorzystniejsze warunki do przechowywania chleba istnieją w temp. poniżej -15°C i powyżej +35°C. Natomiast przedział temperatury od -15 do +35°C jest niekorzystny do utrzymywania świeżości produktów piekarskich, gdyż w tym zakresie temperaturowym, a szczególnie w pobliżu -2 do 0°C, szybko przebiega ich czerstwienie i proces retrogradacji skrobi. Wystudzone pieczywo poddaje się szybkiemu procesowi mrożenia najczęściej do temp. około -20°C w środku termicznym i w tej temperaturze jest ono składowane. W niższej temperaturze istnieje niebezpieczeństwo wymrożenia wody z układu koloidalnego skrobia-woda i po rozmrożeniu przejście skrobi w postać krystaliczną. Przechowywanie zamrażalnicze znacznie zwiększa jego trwałość, ale nie powstrzymuje całkowicie zmian sensorycznych i fizykochemicznych [24]. Intensywność tych przemian uzależniona jest od rodzaju pieczywa, składu recepturowego i procesu technologicznego, prędkości zamrażania, a także od warunków i okresu zamrażalniczego składowania oraz sposobu rozmrażania [25]. W ostatnich latach ukazało się wiele prac dotyczących zamrażania i zamrażalniczego przechowywania także samego ciasta chlebowego. Wskazuje się przy tym, że wypiekane pieczywo z tego półproduktu mrożonego ma tendencję do zmniejszania objętości, co związane jest ze zjawiskiem zamrażalniczego uszkodzenia

w nim drożdży, szczególnie przy długim okresie składowania [95] i znacznych wahaniami temperatury [7]. To niekorzystne działanie niskiej temperatury można zmniejszyć przez zastosowanie do przygotowania ciasta mąki wzbogaconej dodatkiem glutenu [93]. Zdolność wypiekową ciasta mrożonego mogą też zwiększyć dodatki miodu [1] lub oleju roślinnego [11]. Istnieje także możliwość zmniejszenia tego rodzaju problemów technologicznych poprzez właściwy dobór parametrów zamrażania lub ograniczony proces fermentacji i zastosowanie specjalnych drożdży odpornych na uszkodzenia podczas mrożenia [85]. W zamrażalnictwie pieczywa szczególnie popularna staje się metoda oparta na częściowym wypieku, zamrażaniu oraz zamrażalniczym przechowywaniu produktu i następnie dopieczeniu go po uprzednim rozmrożeniu. Badania wykazały, że optymalny czas częściowego podpiekania chleba przed zamrożeniem wynosi od 74 do 86% czasu koniecznego do jego pełnego wypieku [27]. Jednocześnie stwierdzono, że produkt mrożony o takim stopniu podpiekania charakteryzuje się dużą stabilnością cech sensorycznych oraz parametrów teksturalnych podczas jedenastotygodniowego składowania zamrażalniczego i po rozmrożeniu oraz całkowitym dopieczeniu przewyższa pod względem jakości jego mrożony odpowiednik o pełnym wypieku. Częściowe podpiekanie oraz mrożenie jest więc dobrą metodą powstrzymywania czerstwienia i otrzymywania gotowego wyrobu, zbliżonego jakością do niemrożonego pieczywa świeżego.

#### *Pakowanie i przechowywanie w modyfikowanej atmosferze*

Na podstawie wyników badań wielu autorów [6, 49, 61, 74, 80] należy stwierdzić, że okres trwałości pieczywa można znacznie przedłużyć również poprzez jego przechowywanie w modyfikowanej atmosferze. Jednym z zasadniczych czynników ograniczających trwałość produktów piekarskich, oprócz czerstwienia, jest ich pleśnienie. Ten rodzaj ich psucia się jest częstszy niż powodowany przez bakterie [90]. Dlatego głównym składnikiem stosowanych atmosfer gazowych jest dwutlenek węgla, który działa hamująco na wzrost tych drobnoustrojów. Zalecane mieszaniny do pakowania chleba w modyfikowanych atmosferach zwykle zawierają 60–80% CO<sub>2</sub> i 20–40 N<sub>2</sub>. O okresie trwałości decyduje nie tylko optymalny dobór mieszanin gazowych i odpowiednich opakowań, ale też rodzaj i jakość produktu oraz utrzymanie dobrych warunków sanitarno-higienicznych w czasie przetwarzania i pakowania. W niektórych krajach europejskich i USA szczególnie popularna jest metoda oparta na częściowym wypieku pieczywa i składowaniu go po zapakowaniu w mieszaninie gazów [86]. Liczne badania potwierdziły, że chleb składowany w temperaturze niższej od pokojowej starzeje się szybciej, ale w przypadku pieczywa częściowo podpieczonego przechowywanie chłodnicze w otoczeniu mieszaniny gazowej ma korzystne oddziaływanie na jego jakość. Świadczą o tym wyniki kompleksowych badań przeprowadzonych przez Leuschner i wsp. [59, 60, 61], którzy wykazali, że

proces dopiekania takiego chleba po uprzednim jego przechowywaniu w warunkach modyfikowanej atmosfery i temp. 4°C pozwala na otrzymanie produktu finalnego o cechach charakterystycznych dla wyrobu świeżego. Jednocześnie stwierdzono, że pakowanie w modyfikowanej atmosferze i 13-tygodniowe składowanie w temp. 4°C hamuje wzrost zanieczyszczenia mikrobiologicznego pieczywa. Według autorów, jakość dopiekanego chleba jest uzależniona od jego jakości po wstępnym podpieczeniu oraz warunków przechowywania i parametrów dopiekania. Nie ulega żadnej wątpliwości, że pieczywo pakowane w modyfikowanej atmosferze z reguły charakteryzuje się dłuższym okresem trwałości mikrobiologicznej niż próby kontrolne [60, 61, 74], natomiast wpływ tego sposobu pakowania na hamowanie niekorzystnych zmian fizykochemicznych w trakcie składowania, a w szczególności na powstrzymywanie zjawiska twardnienia miększu, nie zawsze jest jednoznaczny [79]. Kontrowersje te mogą wynikać z różnorodnych czynników mających wpływ na czerstwienie chleba takich, jak zróżnicowana jakość mąk stosowanych do przygotowania ciasta, różne metody produkcji i parametry procesu technologicznego, rodzaj pieczywa oraz jego jakość wyjściowa, rodzaj opakowań i skład mieszanin gazowych, warunki przechowywania i stosowane do oceny jakości różne metody analityczne.

### **Podsumowanie**

Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że czerstwienie pieczywa jest złożonym procesem kompleksowych przemian fizykochemicznych wielu jego składników, w tym przede wszystkim skrobi, białek, tłuszczów i wody, oraz wzajemnych interakcji między nimi. Dlatego całkowite powstrzymanie zjawiska starzenia się wyrobów piekarskich jest nie tylko bardzo utrudnione, ale praktycznie nieosiągalne. Najskuteczniejszym, chociaż związanym z pewnymi kosztami, sposobem zachowania świeżości i zwiększenia trwałości przechowalniczej chleba jest zamrażanie lub składowanie w modyfikowanej atmosferze. Chleb szybko zamrożony do temp. około -20°C i dobrze opakowany może w stanie zamrożonym zachować świeżość konsumpcyjną przez praktycznie nieograniczony czas. Szczególnie dobrą świeżością charakteryzuje się produkt mrożony po częściowym wstępnym podpieczeniu, który po rozmrożeniu i całkowitym dopieczeniu może uzyskać jakość zbliżoną do jakości pieczywa świeżego.

### **Literatura**

- [1] Addo K.: Effects of honey type and level on the baking properties of frozen wheat flour doughs. *Cereal Foods World*, 1997, **42**, 36-40.

- [2] Akers A.A., Hosenev R.C.: Water soluble dextrans from  $\alpha$ -amylase-treated bread and their relationship to bread firming. *Cereal Chem.*, 1994, **71**, 223-226.
- [3] Ambroziak Z.: *Piekarnictwo i ciastkarstwo*. WSiP, Warszawa 1992.
- [4] Ambroziak Z.: *Produkcja ciastkarsko-piekarska, część 1*. WSiP, Warszawa 1998.
- [5] Armero E., Collar C.: Texture properties of formulated wheat doughs. Relationships with dough and bread technological quality. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, 1997, **204(2)**, 136-145.
- [6] Avital Y., Mannheim C.H., Miltz J.: Effect of carbon dioxide atmosphere on staling and water relations in bread. *J. Food Sci.*, 1990, **55 (2)**, 413-416, 461.
- [7] Bail A., Grinand C., Cleach S., Martinez S., Quilin E.: Influence of storage conditions on frozen French bread dough. *J. Food Eng.*, 1999, **39**, 289-291.
- [8] Ballinger H.: Influence of apple pectin extract (APE) on the quality and freshness of baked goods. *Food Marketing Technol.*, 1992, **6 (4)**, 6, 8, 10.
- [9] Bengtsson S., Andersson R., Westerlund E., Aman P.: Content, structure and viscosity of soluble arabinoxylans in rye grain from several countries. *J. Sci. Food Agric.*, 1992, **58 (3)**, 331-337.
- [10] Black R.G., Quail K.J., Reyes V., Kuzyk M., Ruddick L.: Shelf-life extension of pita bread by modified atmosphere packaging. *Food Australia*, 1993, **45 (8)**, 387-391.
- [11] Brümmer J.M., Neumann H., Morgenstern G.: Baking of frozen wholemeal dough. *Brot Backwaren*, 1994, **42(7/8)**, 22-26.
- [12] Burrington K.J.: Prolonging bakery product life. *Food Product Design*, 1998, **7**, 12-20.
- [13] Bushuk W., MacRitchie F.: Wheat proteins: aspects of structure that determine breadmaking quality, in: *Protein quality and the effects of processing* (eds R.D. Phillips and J.W. Finley). Marcel Dekker Inc., New York 1989.
- [14] Carr N.O., Daniels N.W.R., Frazier P.J.: Lipid interactions in breadmaking. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1992, **31**, 237-258.
- [15] Collar C., Armero E., Martinez J.: Lipid binding of formula bread doughs. Relationships with dough and bread technological performance. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, 1998, **207**, 110-121.
- [16] Davidou S., Meste Mle, Debever E., Bekaert D.: A contribution to the study of staling of white bread: effect of water and hydrocolloid. *Food Hydrocolloids*, 1996, **10 (4)**, 375-383.
- [17] Denli E., Ercan R.: Effect of added pentosans isolated from wheat and rye grain on some properties of bread. *Eur. Food Res. Technol.*, 2001, **212**, 374-376.
- [18] Dewettinck K.: *Bread and yeast-leavened bakery food. Technology of vegetable products*. Academic Press, University of Gent, 2001, p. 72-88.
- [19] Duran E., Leon A., Barber B., Benedito de Barber C.: Effect of low molecular weight dextrans on gelatinization and retrogradation of starch. *Eur. Food Res. Technol.*, 2001, **212(2)**, 203-207.
- [20] Eliasson A.C., Larsson K.: *Cereals in breadmaking*. Marcel Dekker Inc., New York 1993.
- [21] Erdogdu-Arnoczky N., Czuchajowska Z., Pomeranz Y.: Functionality of whey and casein in fermentation and in breadbaking by fixed and optimized procedures. *Cereal Chem.*, 1996, **73 (3)**, 309-316.
- [22] Fik M., Celej A.: Niektóre aspekty czerstwienia pieczywa i sposoby jego powstrzymywania. *Chłodnictwo*, 1993, **28 (1)**, 29-31.
- [23] Fik M., Celej A.: Zastosowanie zamrażania w przemyśle piekarniczym. *Chłodnictwo*, 1993, **28 (2)**, 31-34.
- [24] Fik M., Celej A.: Zmiany jakości pieczywa podczas zamrażalniczego przechowywania. *Chłodnictwo*, 1993, **28 (3)**, 32-34.
- [25] Fik M., Macura R.: Quality changes during frozen storage and thawing of mixed bread. *Nahrung/Food*, 2000, **45 (2)**, 138-142.

- [26] Fik M., Michalczyk M., Surówka K., Maciejaszek I.: Characterisation of the staling process of wholemeal bread. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2000, **9/50 (2)**, 23-28.
- [27] Fik M., Surówka K.: Effect of prebaking and frozen storage on the sensory quality and instrumental texture of bread. *J. Sci. Food Agric.*, 2002, **82**, 1268-1275.
- [28] Fortuna T., Sobolewska J.: Maltodekstryny i ich wykorzystanie w przemyśle spożywczym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **2(23)**, 100-109.
- [29] Frazier P.J., Daniels N.W.R., Eggitt P.W.R.: Lipid-protein interactions during dough development. *J. Sci. Food Agric.*, 1981, **32 (9)**, 877-897.
- [30] Gallagher E., Polenghi O., Gormley T.R.: Improving the quality of gluten-free breads. *Farm and Food*, 2002, **12 (1)**, 8-13.
- [31] Gambuś H.: Wpływ fizyczno-chemicznych właściwości skrobi na jakość i starzenie się pieczywa. *Zeszyty Naukowe AR w Krakowie, Rozprawy nr 226, Kraków 1997*.
- [32] Gambuś H.: Funkcja skrobi w produktach piekarskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **3 (24)**, 20-32.
- [33] Gambuś H., Gumul D., Mikulec A., Bania M.: Możliwość zastosowania dodatku zaparzonej mąki pszennej, żytniej i pszenżytniej do wypieku chleba pszennego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **1 (26)**, 58-75.
- [34] Gerrard J.A., Abbot R.C., Newberry M.P., Gilpin M.J., Ross M., Fayle S.E.: The effect of non-gluten proteins on the staling of bread. *Starch/Stärke*, 2001, **53 (6)**, 278-280.
- [35] Ghiasi K., Hosney R.C., Zeleznak K., Rogers D.E.: Effect of waxy barley starch and reheating on firmness of bread crumb. *Cereal Chemistry*, 1984, **61 (4)**, 281-285.
- [36] Gil M.J., Callejo M.J., Rodriguez G.: Effect of water content and storage time on white pan bread quality: instrumental evaluation. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, 1997, **205**, 268-273.
- [37] Gil M.J., Callejo M.J., Rodriguez G., Ruiz M.V.: Keeping qualities of white pan bread upon storage: effect of selected enzymes on bread firmness and elasticity. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, 1999, **208**, 394-399.
- [38] Girhammar U., Nair B.M.: Isolation, separation and characterization of water soluble non-starch polysaccharides from wheat and rye. *Food Hydrocolloids*, 1992, **6 (3)**, 285-299.
- [39] Gupta R.B., Khan K., MacRitchie F.: Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I. Effects of variation in the quantity and size distribution of polymeric protein. *J. Cereal Sci.*, 1993, **18 (1)**, 23-41.
- [40] Haber T., Lewczuk J., Chmielewska I.: Próby zastosowania lecytyny rzepakowej w piekarstwie. *Przegl. Piek. i Cuk.*, 1992, **40 (2)**, 6-8.
- [41] Haber T., Lewczuk J., Soszyńska-Masny M.: Wykorzystanie zagęszczonej serwatki kwasowej dla celów piekarskich. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1993, **41(8)**, 19-22.
- [42] Hallberg L.M., Chinachoti P.: A fresh perspective on staling: the significance of starch recrystallization on the firming of bread. *J. Food Sci.*, 2002, **67(3)**, 1092-1096.
- [43] Haros M., Rosell C.M., Benedito C.: Effect of different carbohydrases on fresh bread texture and bread staling. *Eur. Food Res. Technol.*, 2002, **215 (5)**, 425-430.
- [44] Hebeda R.E., Bowles L.K., Teague W.M.: Use of intermediate temperature stability enzymes for retarding staling in baked goods. *Cereal Foods World*, 1991, **36 (8)**, 619-620, 622, 624.
- [45] Hebeda R.E., Zobel H.F. (editors): *Baked goods freshness. Technology, evaluation, and inhibition of staling*. Marcel Dekker, New York 1996.
- [46] Hosney C., Miller R.: Current understanding of staling of bread. *Technical Bulletin (American Institute of Baking Research Department)*, 1998, **20 (6)**, 1-6.
- [47] Hug-Iten S., Handschin S., Conde-Petit B., Escher F.: Changes in starch microstructure on baking and staling of wheat bread. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1999, **32 (5)**, 255-260.

- [48] Hyunjung Kim, Tae Wha Moon: Quality attributes of bread with soymilk residue dietary fiber. *Food Sci. Biotechnol.*, 1999, **8** (4), 245-250.
- [49] Jagannath J.H., Jayaraman K.S., Arya S.S.: Effect of wrappers, temperature, humidity and modified atmosphere on phase transitions during staling of bread. *J. Food Sci. Technol. India*, 1998, **35** (2), 132-137.
- [50] Jankiewicz M., Kędzior Z., Kiryluk J., Michniewicz J., Chalcarz A., Ciesielska H., Paschke H., Olechnowicz H.: Radiacyjne i termiczne utrwalanie chleba – porównanie. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1994, **42** (6), 32.
- [51] Jankiewicz M., Michniewicz J.: The effect of soluble pentosans isolated from rye grain on staling of bread. *Food Chem.*, 1987, **25**, 241-249.
- [52] Jankowski S.: *Zarys technologii zbóż i strączkowych jadalnych. III. Technologia piekarstwa, makaronu, preparatów zbożowych i pasz*, PWN, Warszawa 1969.
- [53] Kamel B.S., Stauffer C.E.: *Advances in baking technology*, Blackie Academic and Professional, Glasgow 1993.
- [54] Keetels C.J.A.M., Visser K.A., van Vliet T., Jurgens A., Walstra P.: Structure and mechanics of starch bread. *J. Cereal Sci.*, 1996, **24**, 15-26.
- [55] Korus A., Achremowicz B.: Substancje stosowane do poprawiania jakości pieczywa. Część II. Związki powierzchniowo czynne oraz inne substancje. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1994, **42** (3), 6-7.
- [56] Krog N., Olesen S.K., Toernaes H., Joensson T.: Retrogradation of the starch fraction in wheat bread. *Cereal Foods World*, 1989, **34**, 282-285.
- [57] Kulp K.: Staling of bread. *QIB Research Department Technical Bulletin*, vol. 1, issue 8, 1979.
- [58] Kweon M.R., Park K.H.: Phospholipid hydrolysate and antistaling amylase effects on retrogradation of starch in bread. *J. Food Sci.*, 1994, **59**, 1072-1080.
- [59] Leuschner R.G.K., O'Callaghan M.J.A., Arendt E.K.: Optimisation of baking parameters of part-baked and rebaked Irish brown soda bread by evaluation of some quality characteristics. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1997, **32**, 487-493.
- [60] Leuschner R.G.K., O'Callaghan M.J.A., Arendt E.K.: Bacilli spoilage in part-baked and rebaked brown soda bread. *J. Food Sci.*, 1998, **63**, 915-918.
- [61] Leuschner R.G.K., O'Callaghan M.J.A., Arendt E.K.: Moisture distribution and microbial quality of part baked breads as related to storage and rebaking conditions. *J. Food Sci.*, 1999, **64** (3), 543-546.
- [62] Lewczuk J., Sobczyk M.: Wykorzystanie w piekarstwie sproszkowanej krajowej lecytyny sojowej. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1994, **42** (8), 23-25.
- [63] Lin W., Lineback D.R.: Changes in carbohydrate fractions in enzyme-supplemented bread and the potential relationship to staling. *Starch/Stärke*, 1990, **42** (10), 385-394.
- [64] Ławrukajtis-Klimkowska M., Ławrukajtis M.: Wpływ pentozanów na cechy reologiczne ciasta z mąki żytniej. *Cukiernictwo*, 1999, **4/99**, 22, 24, 26.
- [65] Mannie E., Asp E.H.: Dairy ingredients for bread baking. *Cereal Foods World*, 1999, **44** (3), 143-146.
- [66] Marion D., LeRoux C., Akoka S., Tellier C., Gallant D.: Lipid-protein interactions in wheat gluten: a phosphorus nuclear magnetic resonance spectroscopy and freeze-fracture electron microscopy study. *J. Cereal Sci.*, 1987, **5** (2), 101-115.
- [67] Martin M.L., Hosney R.C.: A mechanism of bread firming. II. Role of starch hydrolyzing enzymes. *Cereal Chem.*, 1991, **68** (5), 503-507.
- [68] Martin M.L., Zeleznak K.J., Hosney R.C.: A mechanism of bread firming. I. Role of starch swelling. *Cereal Chem.*, 1991, **68** (5), 498-503.

- [69] Michniewicz J., Biliaderis C.G., Bushuk W.: Effect of added pentosans on some properties of some physical and technological characteristics of dough and gluten. *Cereal Chem.*, 1991, **68** (3), 252-258.
- [70] Michniewicz J., Biliaderis C.G., Bushuk W.: Effect of added pentosans on some properties of wheat bread. *Food Chem.*, 1992, **43** (4), 251-257.
- [71] Michniewicz J., Kołodziejczyk P., Sobkowiak G.: Wpływ dodatku hydrokoloidów na niektóre właściwości fizyczne glutenu pszennego. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 1998, **42** (3), 23-26.
- [72] Michniewicz J., Tyma R., Gielert-Jezioro K.: Wpływ dodatku hydrokoloidów na niektóre właściwości ciasta i jakość pieczywa pszennego. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1995, **43** (3), 30-31.
- [73] Morgan K.R., Gerrard J., Every D., Ross M., Gilpin M.: Staling in starch breads: the effect of antistaling alpha-amylase. *Starch/Stärke*, 1997, **49** (2), 54-59.
- [74] Phillips C.A.: Modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1996, **31**, 463-479.
- [75] Pomeranz Y., Meyer D.: Light and scanning electron microscopy of wheat- and rye-bread crumb. Interpretation of specimens prepared by various methods. *Food Microstructure*, 1984, **3** (2), 159-164.
- [76] Pomeranz Y., Meyer D., Seibel W.: Wheat, wheat-rye dough and bread studied by scanning electron microscopy. *Cereal Chem.*, 1984, **61**, 53-59.
- [77] Pritchard P.E.: Studies on the bread-improving mechanism of fungal alpha-amylase. *J. Biol. Education*, 1992, **26**, 12-18.
- [78] Pyler E.J.: *Baking science and technology*, vol. II, Sosland Publishing Corporation, Merriam 1988.
- [79] Rasmussen P.H., Hansen A.: Staling of white bread stored in modified atmosphere. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 2001, **34**(7), 487-491.
- [80] Rodriguez M., Medina L.M., Jordano R.: Effect of modified atmosphere packaging on the shelf life of sliced wheat flour bread. *Nahrung/Food*, 2000, **44**(4), 247-252.
- [81] Rogers D.E., Zeleznak K.J., Lai C.S., Hoseney R.C.: Effect of native lipids, shortening, and bread moisture on bread firming. *Cereal Chem.*, 1988, **65**(5), 398-401.
- [82] Rojas J.A., Rosell C.M., Benedito de Barber C.: Role of maltodextrins in the staling of starch gels. *Eur. Food Res. Technol.*, 2001, **212**(3), 364-368.
- [83] Rouau X., El-Hayek M.L., Moreau D.: Effect of an enzyme preparation containing pentosanases on the bread-making quality of flours in relation to changes in pentosan properties. *J. Cereal Sci.*, 1994, **19** (3), 259-272.
- [84] Scanlon M.G., Sapirstein H.D., Fahloul D.: Mechanical properties of bread crumb prepared from flours of different dough strength. *J. Cereal Sci.*, 2000, **32** (3), 235-243.
- [85] Sluimer P.: Preparation of bread dough for interrupted fermentation and bake-off. *Vödingmiddelentechnologie*, 1990, **23** (19), 19-23.
- [86] Smith J.P.: *Bakery products*, in: Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods (ed. R.T. Parry), Blackie Academic and Professional, Glasgow 1993.
- [87] Soral-Śmietana M.: Interakcje skrobia-tłuszczowce w kształtowaniu jakości pieczywa. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1989, **37** (2), 17-19.
- [88] Stauffer C.: *Functional additives for bakery foods*. Van Nostrand Reinhold, New York 1993.
- [89] Tenkanen M., Salmenkallio-Marttila M., Poutanen K.: Baking with enzymes. What makes it happen? *World of Ingredients*, 1998, **5/6**, 38-41.
- [90] Thompson J.M., Dodd C.E.R., Waites W.M.: Spoilage of bread by *Bacillus*. *Int. Biodeter. Biodegr.*, 1993, **32**, 55-66.
- [91] Van Dam H.W., Hille J.D.R.: Yeast and enzymes in bread making. *Cereal Foods World*, 1992, **37**, 245-252.

- [92] Wang F.C., Sun X.S.: Frequency dependence of viscoelastic properties of bread crumb and relation to bread staling. *Cereal Chem.*, 2002, **79** (1), 108-114.
- [93] Wang Z.J., Ponte J.G.: Storage stability of gluten-fortified frozen dough. *Cereal Foods World*, 1995, **40**, 827-831.
- [94] Weegels P.L., Hamer R.J., Schofield J.D.: Functional properties of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.*, 1996, **23**, 1-18.
- [95] Yamauchi H., Ichinose Y., Takata K., Iriki N., Shiina T., Kobayashi T.: A kinetic study on staling of white bread made by frozen dough method. *J. Japan. Soc. Food Sci. Technol.*, 1999, **46**, 212-219.
- [96] Yaseen A.A.E., Shouk A.A., Sadowska J., Fornal J., Jeliński T.: Effect of pectin and  $\alpha$ -amylase on the microstructure and staling of bread. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2001, **10/51** (4), 19-25.
- [97] Ziobro R., Gambuś H., Nowotna A., Bala-Piasek A., Sabat R.: Starch extrudates as a source of low molecular dextrins slowing down bread staling. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1998, **4** (17) **Supl.**, 251-258.
- [98] Zobel H.F., Kulp K.: The staling mechanism, in: *Baked goods freshness* (eds E. Hebeda and H.F. Zobel). Dekker, New York 1996.

## BREAD STALING AND METHODS OF PROLONGING ITS FRESHNESS

### S u m m a r y

Generally, bakery products are characterized by a short-term stability and shelf life as a result of a fast running process of staling. This review presents the current state of knowledge on staling process and its effect on the quality and storing time of bread. A role of some chemical compounds participating in this process, such as starch, proteins, water, and non-starch carbohydrates, was expressly emphasized. Furthermore, it was explained the significant effect of some substances (e.g.: enzyme preparations, emulsifiers and hydrocolloids, lipids, proteins, and non-starch carbohydrates) or processes (e.g.: freezing, packaging, and storage in modified atmosphere) on prolonging the freshness of bakery products, as well as their shelf life.

**Key words:** bakery products, staling, prolongation of freshness, shelf life ☒



GRAŻYNA KRASNOWSKA, EWA DWORECKA

## OCENA PRZYDATNOŚCI PROTEAZ TRZUSTKOWYCH DO DEGRADACJI SUROWCÓW ZWIERZĘCYCH BOGATYCH W TKANKĘ ŁĄCZNA

### Streszczenie

W pracy scharakteryzowano właściwości proteolityczne preparatu enzymatycznego uzyskanego z trzustek indyjskich oraz oceniono przydatność tych enzymów do degradacji skór wieprzowych. Hydrolizę enzymatyczną surowca prowadzono w środowisku o pH = 7,0, a następnie przedłużano ją o hydrolizę kwasową w pH = 3,2. Na podstawie wyników badań wykazano wysoką aktywność proteolityczną proteaz trzustkowych wobec kazeiny oraz stwierdzono aktywność wobec substratów kolagenowych. Efektywność hydrolizy enzymatycznej skór wieprzowych, wyrażona ilością uwalnianej hydroksyprowliny, wolnych grup aminowych oraz białka, była kilkakrotnie większa niż hydrolizy kwasowej. Ponadto poprzez odpowiedni dobór warunków prowadzenia procesu (temperatura, pH oraz rozdrobnienie surowca) można istotnie wpływać na jego wydajność. Reasumując, enzymy z trzustek indyjskich charakteryzują się wysoką aktywnością proteolityczną w stosunku do białek skór wieprzowych.

**Słowa kluczowe:** enzymy proteolityczne, aktywność kolagenolityczna, trzustki indyjskie, skóry wieprzowe.

### Wprowadzenie

W przemyśle spożywczym mniej cenne surowce znajdują różne, niekonwencjonalne zastosowania dzięki postępowi technologicznemu w ich przetwarzaniu i modyfikowaniu, a w szczególności dzięki rozwojowi metod biotechnologicznych. Enzymatyczne modyfikowanie białek żywności umożliwia poprawę ich cech reologicznych i funkcjonalnych, usunięcie lub inaktywację szkodliwych składników żywności czy też wytworzenie nowych produktów. Istotny jest również fakt, że procesy, w których wykorzystywane są enzymy, prowadzi się najczęściej w warunkach mało uciążliwych dla środowiska [3, 4, 18].

Skóry świń są tanim surowcem wykorzystywanym bezpośrednio w produkcji przetworów mięsnych bądź są źródłem kolagenu o szerokim, przemysłowym

zastosowaniu. Białko to dzięki specyficznym cechom fizykochemicznym decyduje o właściwościach reologicznych produktów żywnościowych, do których jest dodawane. Powszechnie znane są zastosowania kolagenu w medycynie, w przemyśle kosmetycznym, garbarskim i wielu innych gałęziach gospodarki [5, 6].

Celem niniejszych badań była próba degradacji skór wieprzowych, wykorzystując właściwości proteolityczne preparatu enzymatycznego uzyskanego z trzustek indyckich.

### **Materiał i metody badań**

Wstępna część badań dotyczyła charakterystyki preparatu enzymatycznego uzyskanego z trzustek indyckich zgodnie z metodyką Tłuścika i wsp.[17]. Trzustki pochodziły od indyków rasy BUT 8T.

Preparat enzymatyczny oceniono pod względem właściwości proteolitycznych wobec standardowych substratów białkowych: kazeiny (Serva), żelatyny (Serva), hemoglobiny (preparat przygotowany laboratoryjnie z krwi wołowej) i preparatów syntetycznych (Sigma): elastyny Congo Red, Azocollu, Hide Power Azure, peptydu BApNA. Aktywność wobec tych substratów oznaczano spektrofotometrycznie, a jako jednostkę aktywności przyjęto taką ilość enzymu, która powoduje przyrost ekstynkcji o 0,01 pomiędzy próbą właściwą a kontrolną, po dwugodzinnej inkubacji substratu w temp. 35°C z preparatem enzymów trzustkowych w buforze TRIS-HCl o pH = 8,0 lub w buforze Brittona-Robinsona o pH = 6,0 [2, 8, 10]. Ponadto przeprowadzano ocenę właściwości kolagenolitycznych wobec 1% roztworu kolagenu rozpuszczalnego (Serva) oraz wobec natywnych białek z wołowych ścięgien Achillesa. Podatność na degradację enzymów trzustkowych kolagenu rozpuszczalnego oceniano na podstawie dynamiki przyrostu wolnych grup aminowych [7, 15] i hydroksyproliny [1] w roztworze 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 poddawano działaniu proteaz trzustkowych w analogicznych warunkach, a intensywność procesu degradacji surowca określano po 24, 48 i 72 h czasu jego trwania.

W dalszym etapie doświadczenia prowadzono enzymatyczną hydrolizę skór wieprzowych w środowisku o pH = 7,0, którą następnie przedłużano o hydrolizę kwasową w pH = 3,2. Materiał ten uzyskano z partii bocznych skór świń rasy Pietrain i poddano oczyszczeniu z tkanki tłuszczowej. Jednocześnie analizowano wpływ zmienności takich czynników, jak: stopień rozdrobnienia skór, czas i temperatura prowadzenia procesu. Ocenę efektywności degradacji doświadczalnego surowca prowadzono w oparciu o analizę przyrostu wolnej hydroksyproliny, wolnych grup aminowych i białka [9] w roztworach po hydrolizie oraz zmiany podstawowego składu

chemicznego i zawartości kolagenu w skórach. Przeprowadzone warianty hydrolizy skór oznaczono:

- A – hydroliza skór rozdrobnionych w wilku laboratoryjnym ( $\emptyset$  3 mm) – enzymatyczna 8 h w temp. 20°C, pH = 7,0 oraz kwasowa w pH = 3,2 w temp. 4°C przez 24 i 48 h;
- B – hydroliza skór rozdrobnionych na paski o wymiarach ok. 1 x 5 cm – enzymatyczna 8 h w temp. 20°C, pH = 7,0 oraz kwasowa w pH = 3,2 w temp. 4°C przez 24 i 48 h;
- C – hydroliza skór rozdrobnionych na paski o wymiarach ok. 1 x 5 cm – enzymatyczna 8 h w temp. 20°C, pH = 7,0 oraz kwasowa w pH = 3,2 w temp. 20°C przez 24 i 48 h.

Wyniki poddano wielokierunkowej analizie wariancji za pomocą programu STATISTICA w wersji 5.0.

### Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczeń właściwości proteolitycznych doświadczalnego preparatu enzymatycznego wobec wybranych substratów przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Aktywność preparatu enzymatycznego z trzustek indyjskich.  
Activity of the enzymatic preparation from turkey pancreases.

Substrat Substrate	pH	Aktywność / Activity	
		[j. a./cm <sup>3</sup> ] [u.a./ cm <sup>3</sup> ]	[j.a./mg białka] [u.a./mg protein]
Hemoglobina Hemoglobin	8,0	825	55,0
Kazeina Casein	8,0	10266	684,4
	6,0	6066	404,4
Żelatyna Gelatin	8,0	975	65,0
	6,0	brak aktywności no activity	brak aktywności no activity
Elastyna Congo Red Congo Red Elastin	6,0	924	61,6
Azocoll	6,0	1046	69,7
Hide Power Azure (HPA)	6,0	510	34,0
BAPNa	6,0	4095	273,0

Uzyskany preparat wykazywał najwyższą aktywność hydrolityczną w stosunku do kazeiny, przy czym bardzo istotny wpływ na efektywność tych enzymów miało pH środowiska, gdyż obniżenie o 2 jednostki spowodowało 40% spadek ich aktywności w stosunku do tego białka. Spośród pozostałych analizowanych substratów wysoką aktywność enzymów trzustkowych odnotowano w stosunku do substratów syntetycznych – peptydu BApNa i Azocollu. Wobec hemoglobiny i żelatyny aktywność była niższa, a przy obniżeniu pH środowiska działania proteaz trzustkowych nie stwierdzono aktywności wobec żelatyny. Wykazano również aktywność elastazową na poziomie ponad 900 j.a./cm<sup>3</sup> preparatu. Oznaczona aktywność specyficzna ocenianego preparatu enzymatycznego w stosunku do kazeiny kształtowała się na poziomie 684 j.a./cm<sup>3</sup> przy pH = 8,0, a 404 j.a./cm<sup>3</sup> przy pH = 6,0. Blisko dwukrotnie niższą aktywność wykazały białka enzymatyczne preparatu wobec peptydu BApNa, natomiast na wyraźnie niższym poziomie, w granicach 62–69 j.a./cm<sup>3</sup>, kształtowała się ona w stosunku do żelatyny, elastyny Congo Red i Azocollu. Hemoglobina, mimo optymalnego dla proteaz trzustkowych pH prowadzenia analizy, okazała się również opornym substratem.

W dalszej części badań przeprowadzono ocenę aktywności kolagenolitycznej uzyskanego preparatu enzymatycznego z trzustek indyjskich. Zastosowanymi substratami był 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. Wyniki oznaczeń zestawiono w tab. 2.

Tabela 2

Aktywność kolagenolityczna preparatu enzymatycznego z trzustek indyjskich.  
Collagenolytic activity of enzymatic preparation from turkey pancreases.

Substrat Substrate	Czas degradacji Time of degradation [h]	Przyrosty wolnej hydroksyproliny Increases in free hydroxyprolin	Przyrosty wolnych grup aminowych Increases in free amine groups
		[µg Hyp/g substratu] [µg Hyp/g substrate]	[µg Gly/g substratu] [µg Gly/g substrate]
Kolagen rozpuszczalny Soluble collagen	2	25,4	185,5
	5	29,2	487,4
	24	35,7	836,8
Wołowe ścięgna Achillesa Achilles tendon from beef	24	11,5	160,0
	48	13,8	195,2
	72	21,2	210,4

Białka wołowych natywnych ścięgien Achillesa były bardziej opornym substratem na działanie proteaz trzustkowych niż zastosowany roztwór kolagenu rozpuszczalnego. Powszechnie znane działanie enzymów trzustkowych [16] na wiązania peptydowe tworzone przez aminokwasy zasadowe i aromatyczne oraz elastazy degradującej wiązania peptydowe niskocząsteczkowych aminokwasów, jak np. glicyna, było wyraźnie efektywniejsze w stosunku do roztworu kolagenu rozpuszczalnego niż wobec białek ścięgien Achillesa. Wydłużanie czasu trwania procesu hydrolizy o kolejną dobę w nieznacznym stopniu intensyfikowały ten proces. Przyrosty wolnych grup aminowych i hydroksyproliny kształtowały się tylko na nieznacznie wyższym poziomie w stosunku do okresu poprzedniego i po 72 h prowadzenia procesu był on na poziomie dużo niższym niż w wyniku degradacji kolagenu rozpuszczalnego po 24 h. Obserwowany przyrost ilości hydroksyproliny utrzymywał się przez 72 h prowadzenia procesu na poziomie 20% w stosunku do poprzedniej doby, natomiast ilość oznaczanej glicyny przyrastała o 20% po 48 h hydrolizy, a po 72 h tylko o 10%.

Proteoliza kolagenu rozpuszczalnego była bardziej widoczna w pomiarze przyrostu grup aminowych niż hydroksyproliny w roztworze. Stopień degradacji tego białka po 2 h prowadzenia hydrolizy wyrażał się przyrostem wolnych grup aminowych na poziomie 185  $\mu\text{g Gly/g}$  substratu i ponad 25  $\mu\text{g Hyp}$ . Wydłużenie procesu o 3 h spowodowało ponad 2,5-krotny przyrost grup aminowych oraz niespełna 20% przyrost uwalnianej hydroksyproliny. Dwudziestoczęterogodzinna hydroliza tego substratu nie była już tak efektywna i poziom przyrostu hydroksyproliny był podobny do obserwowanego między 2. a 5. h, zaś przyrost grup aminowych był prawie dwukrotnie wyższy w stosunku do poprzednio ocenianego okresu.

Ostatnim etapem badań, dotyczących oceny właściwości proteolitycznych preparatu enzymatycznego uzyskanego z trzustek indyjskich, było określenie efektywności degradacji skór wieprzowych poddanych różnym wariantom hydrolizy enzymatycznej połączonej z kwasową. Analizę wyników przeprowadzono w oparciu o przyrosty zawartości wolnej hydroksyproliny, białka i wolnych grup aminowych w roztworach (tab. 3) oraz zmiany podstawowego składu chemicznego skór po hydrolizie (rys. 1).

Analiza statystyczna potwierdziła istotność wpływu rozdrobnienia skór na ich degradację, co znalazło odzwierciedlenie w wynikach oznaczeń wszystkich ocenianych parametrów. Przyrosty zawartości hydroksyproliny, białka i wolnych grup aminowych w roztworach po hydrolizie skór, w przypadku surowca rozdrobnionego w wilku laboratoryjnym, były ponad dwukrotnie większe po 8 h hydrolizy enzymatycznej w stosunku do surowca pociętego w paski. Przedłużenie prowadzenia procesu w warunkach hydrolizy kwasowej wpłynęło na dalszą degradację skór i było również

czynnikiem istotnie intensyfikującym ten proces. Ponadto stwierdzono istotny wpływ temperatury prowadzenia hydrolizy kwasowej na jej intensywność. Zawartość hydroksyproliny w roztworach po hydrolizie skór w postaci pasków (warianty B i C) była istotnie mniejsza w porównaniu z surowcem o większym rozdrobnieniu. Hydroliza kwasowa prowadzona w temp. 4°C przez 48 h doprowadziła do uwolnienia zbliżonej zawartości tego aminokwasu jaki oznaczono po 8 h prowadzenia procesu enzymatycznego skór rozdrobnionych w wilku laboratoryjnym.

Tabela 3

Zawartość białka, hydroksyproliny i wolnych grup aminowych w roztworach po hydrolizie.  
Contents of protein, hydroksyprolin, and free amino groups in the solutions after hydrolysis.

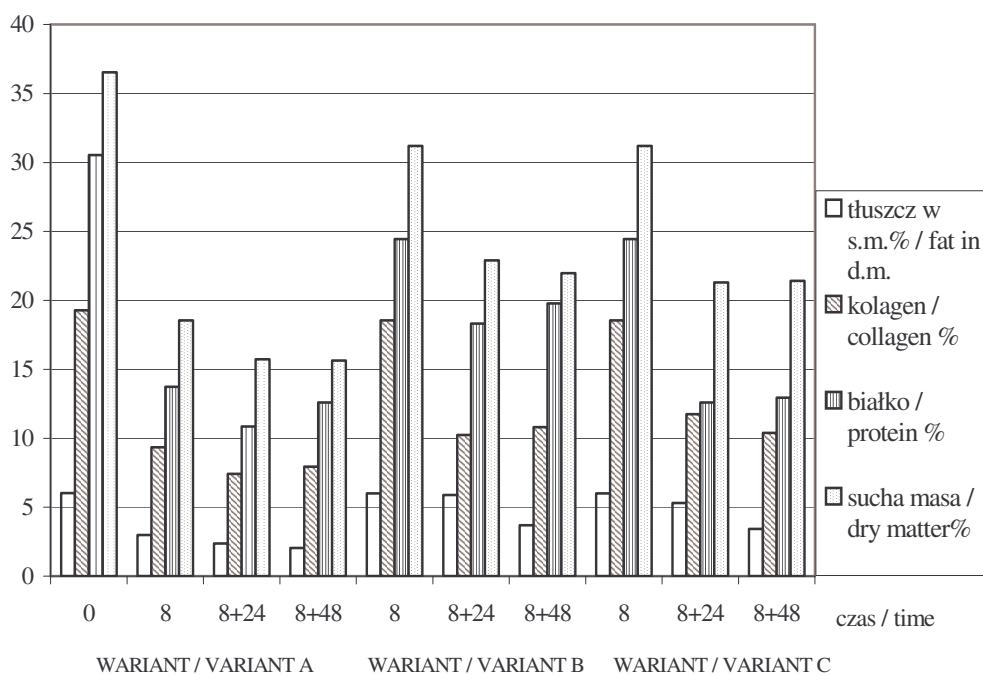
Wariant hydrolizy Variant of hydrolysis	Parametry procesu Parameters of process				Przyrosty wolnej Hyp Increases in free Hyp	Przyrosty białka Increases protein	Przyrosty wolnych grup aminowych Increases in free amino groups
	Rozdrobnienie Comminuted to..	Temp. [°C]	pH	Czas Time [h]	[µg Hyp/g] substratu substrate	[%] substratu substrate	[µg Gly/g] substratu substrate
A	ϕ 3mm	20		0	0,00 <sup>A*</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>
		20	7,0	8	8,97 <sup>E</sup>	0,98 <sup>D</sup>	24,33 <sup>E</sup>
		4	3,2	24	13,06 <sup>F</sup>	1,58 <sup>F</sup>	32,05 <sup>F</sup>
		4	3,2	48	15,42 <sup>G</sup>	1,91 <sup>G</sup>	35,83 <sup>G</sup>
B	0,5 × 3 cm	20		0	0,00 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>
		20	7,0	8	3,91 <sup>B</sup>	0,42 <sup>B</sup>	10,09 <sup>B</sup>
		4	3,2	24	7,48 <sup>D</sup>	0,89 <sup>C</sup>	16,21 <sup>C</sup>
C	0,5 × 3 cm	4	3,2	48	9,55 <sup>E</sup>	0,98 <sup>D</sup>	18,56 <sup>D</sup>
		20		0	0,00 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>
		20	7,0	8	3,91 <sup>B</sup>	0,42 <sup>B</sup>	10,09 <sup>B</sup>
C	0,5 × 3 cm	20	3,2	24	6,56 <sup>C</sup>	1,30 <sup>E</sup>	24,56 <sup>E</sup>
		20	3,2	48	6,66 <sup>C</sup>	1,60 <sup>F</sup>	26,06 <sup>E</sup>

Wartości średnie w tej samej kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$

Mean values in the same column and designated by various letters are significantly different at  $p \leq 0,05$

Podobną dynamikę przyrostu stwierdzono w przypadku oznaczenia wolnych grup aminowych i białka w roztworze. Natomiast w pozostałych porównywanych wariantach doświadczenia ilości hydroksyproliny były istotnie mniejsze. W przypadku pozostałych analizowanych wyróżników (białka i wolnych grup aminowych)

wydłużenie prowadzenia hydrolizy kwasowej pozwoliło nieznacznie zmniejszyć różnicę efektu degradacji skór przy różnym stopniu ich rozdrobnienia, niemniej jednak różnice te były istotne. Na podstawie omówionych wyników oznaczeń należy stwierdzić, że proteoliza skór przebiegała najintensywniej podczas procesu enzymatycznego.



Rys. 1. Skład chemiczny skór po hydrolizie

Fig. 1. Chemical contents of skins after hydrolysis.

W surowcu doświadczalnym przeprowadzono analizę podstawowego składu chemicznego i stwierdzono, że charakteryzuje się on wartościami odnośnych parametrów zbliżonymi do danych cytowanych w literaturze [13]. Zawartość białka kształtowała się na poziomie 30,54%, przy czym oznaczono 19,27% kolagenu, przy zawartości suchej masy 36,53% i tłuszczu 6,02%. Analiza składu chemicznego skór wieprzowych po procesie hydrolizy (rys. 1) potwierdziła omówione wyżej wyniki dotyczące stopnia degradacji w zależności od zastosowanych czynników zmienności. Największy wpływ na zmiany zawartości białka i kolagenu miał stopień rozdrobnienia surowca, a mniejszy czas i temperatura prowadzenia procesu. Z pewnością na efektywność ekstrakcji białka i rozpuszczalnych frakcji kolagenu skór wieprzowych

miał również wpływ bufor cytrynianowo-fosforanowy zastosowany w procesie hydrolizy. Źródła literaturowe podają, że zastosowanie kwasów i buforów o pH około 3,5 pozwala na uzyskanie kolagenu rozpuszczalnego zdolnego do rekonstrukcji. W buforze fosforanowym rozpuszcza się tylko młody tropokolagen, natomiast bufor cytrynianowy degraduje również część kowalencyjnych wiązań sieciujących w kolagenie. Wydajności tych procesów są niewielkie i osiągają poziom do 20% [11, 12, 14]. Skóra zbudowana jest głównie z kolagenu typu I i II, które mają strukturę włóknistą, ale różnią się rozpuszczalnością. Kolagen typu I rozpuszcza się w znacznym stopniu w rozcieńczonych roztworach kwasów i soli, natomiast kolagen typu II jest praktycznie nierozpuszczalny w tych warunkach. Dostępność kolagenu dla niespecyficznym enzymów wyraźnie można poprawić poprzez mechaniczne rozdrobnienie surowca czy też rozluźnienie struktury kolagenu poprzez działanie czynników chemicznych o odpowiedniej sile jonowej [12, 13]. Przedstawione badania potwierdziły również istotny wpływ tych czynników, czyli rozdrobnienia surowca, czasu, temperatury i odczynu środowiska prowadzenia procesu na degradację białek skór wieprzowych.

### **Wnioski**

1. Przeprowadzone badania wykazały, że preparat enzymatyczny z trzustek indyjskich charakteryzuje się najwyższą aktywnością proteolityczną wobec kazeiny.
2. Proteazy trzustkowe również wykazywały aktywność w stosunku do substratów kolagenowych.
3. Hydroliza enzymatyczna skór wieprzowych prowadzona w środowisku o pH = 7,0 charakteryzowała się kilkakrotnie większą wydajnością niż hydroliza kwasowa w pH = 3,2.
4. Stopień rozdrobnienia doświadczalnego surowca miał istotny wpływ na poziom degradacji jego białek.
5. Wydłużenie czasu prowadzenia procesu degradacji kwasowej skór wpływało na zwiększenie ilości uwalnianych związków azotowych, w tym również hydroksyproliny.

*Praca została wykonana w ramach grantu KBN 5 P06G 028 19*

### **Literatura**

- [1] A.O.A.C.: Official methods of analysis. 15<sup>th</sup> Ed. 1<sup>st</sup> Supplement. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C. 1990, 36-37.



- [2] Bichodka M.J., Khachatourians G.G.: Purification and properties of an extracellular protease produced by enthomopathogenic fungi. *Appl. Environ Microbiol.*, 1987, **7**, 1679-1684.
- [3] Frokjaer S.: Use of hydrolysates for protein supplementation. *Food Technol.*, 1994, **10**, 86-88.
- [4] Kalinowska H., Bielecki S., Turkiewicz M.: Enzymy nowej generacji w produkcji żywności . Cz. I. *Przem. Spoż.* 2000, **10**, 3-5.
- [5] 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.
- [6] Krasnowska G.: Kolagen – właściwości i znaczenie technologiczne. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu*, 1998, **328**, 137 –146.
- [7] 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.
- [8] Leger R.J., Cooper R.M., Charnley A.K.: Cuticle-degradation enzymes of enthomopatogenic fungi. Cuticle degradation in vitro by enzymes from enthomopathogen. *J. Invertebr. Pathol.*, 1986, **47**, 167-177.
- [9] Mejbbaum-Katzenellenbogen W., Mochnacka I.: *Kurs praktyczny biochemii*. PWN, Warszawa 1968.
- [10] Morihara K., Tsuzuki H.: Elastolytic properties of various proteinases from microbiol origin. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1967, **120**, 68-78.
- [11] Nagai T., Suzuki N.: Isolation of collagen from fish waste material – skin, bone and fins. *Food Chemistry*, 2000, **68**, 277-281
- [12] Powell T.H., Hunt M.C., Dickeman M.E.: Enzymatic assay to determine collagen thermal denaturation and solubilization. *Meat Sci.*, 2000, **54**, 307-311.
- [13] Sadowska M., Kotłowski R.: Fizykochemiczne właściwości kolagenu ryb, świń i bydła. W: *Żelatyna. Właściwości, technologia, użytkowanie*. Polska Izba Dodatków do Żywności, Konin 1999, s. 13-25.
- [14] Sikorski Z.E.: Charakterystyka białek głównych surowców żywnościowych. W: *Chemia żywności - pod red. Z. E. Sikorskiego*, WNT, Warszawa 2002, s. 304-333.
- [15] Snyder S.L., Sobociński P.Z.: An improved 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid method for determination of amines. *Analys. Bioch.*, 1975, **64**, 285-288.
- [16] Styer L.: *Biochemia*. Wyd. Nauk. PWN. Warszawa 2003.
- [17] Tuścik F., Polanowski A., Guyonnet V., Long P.L.: Affinity purification of chicken pancreas proteinases and their N-terminal amino acid sequences. *Acta Bioch. Pol.*, 1994, 174-177.
- [18] Warchalewski J.R.: Zastosowanie enzymów w produkcji żywności na przełomie wieków. *Przem. Spoż.*, 2001, **8**, 40-44.

#### THE USE OF PANCREAS PROTEASES FOR THE DEGRADATION OF ANIMAL PRODUCTS RICH IN CONNECTIVE TISSUE

##### S u m m a r y

The study presents the proteolytic qualities of an enzymatic preparation obtained from turkey pancreas and the usefulness of enzymes for the degradation of pigskins. Enzymatic hydrolysis of the material was carried out at pH = 7.0, and, then, acid hydrolysis was conducted at pH = 3.2. The results indicated a high proteolytic activity of pancreas proteases towards the casein. Their activity towards collagen substrates was also observed. The efficiency of enzymatic hydrolysis of pigskins, expressed by the amount of freed hydroxyproline, free amine groups and protein, was several times higher than the efficiency of acid hydrolysis. Moreover, the proper selection of the process conditions (temperature, pH and material

comminuting) significantly increases its efficiency. It may be concluded that the enzymes from turkey pancreas are characterized by a high proteolytic activity towards proteins from pigskins.

**Key words:** proteolytic enzymes, collagenolytic activity, turkey pancreas, pigskins ✕

BOŻENA DANYLUK, ARKADIUSZ MEDYŃSKI, EDWARD POSPIECH,  
ANDRZEJ ŁYCZYŃSKI, BOŻENA GRZEŚ

**OCENA WPŁYWU MIKROKAPSULKOWANEGO CHLORKU SODU  
NA STAN MIKROBIOLOGICZNY MIĘSA ZE SCHABU  
I Z KARKÓWKI PRZECHOWYWANEGO W WARUNKACH  
CHŁODNICZYCH I ZAMRAŻALNICZYCH**

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku mikrokapsulkowanego chlorku sodu, azotanu(III) sodu i kwasu mlekowego na stan mikrobiologiczny mięsa schabu i karkówki. Mięso przechowywano w warunkach chłodniczych (2 i 14 dób) i zamrażalniczych (3 i 9 miesięcy), po uprzednim umieszczeniu go w woreczkach z folii laminowanej PAPE, zamkniętych próżniowo. Z reguły stwierdzano istotnie wyższe zanieczyszczenie bakteriami tlenowymi mięsa karkówki w porównaniu ze schabem zarówno po 2, jak i po 14 dobach przechowywania w chłodni. Dodanie, oprócz soli, azotanu(III) sodu i kwasu mlekowego miało korzystny wpływ na trwałość mikrobiologiczną mięsa przechowywanego w chłodni przez okres 2 tygodni. Wydłużenie czasu zamrażalniczego przechowywania mięsa z 3 do 9 miesięcy powodowało redukcję liczby bakterii tlenowych w materiale zawierającym tylko sól, a wzrost bakterii zakwaszających, niezależnie od rodzaju stosowanej substancji dodatkowej. Przyczyniło się także do znacznej redukcji bakterii z grupy coli w mięsie schabu, czego nie zaobserwowano w przypadku karkówki. Użycie mikrokapsulkowanej soli nie stanowiło zagrożenia mikrobiologicznego mięsa nawet po 14 dniowym przechowywaniu.

**Słowa kluczowe:** mięso wieprzowe, przechowywanie, mikrokapsulkowany NaCl, stan mikrobiologiczny.

## Wprowadzenie

Dodatek chlorku sodu do mięsa jest powszechny, co wynika z jego oddziaływania na właściwości funkcjonalne (wodochłonność, zdolność emulgowania i żelowania), sensoryczne a także trwałość mięsa. Dane literaturowe [8, 9, 10, 11, 14] wskazują

---

*Dr B. Danyluk, prof. dr hab. E. Pospiech, dr B. Grześ, Instytut Technologii Mięsa Akademii Rolniczej im. A. Cieszkowskiego, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, dr A. Medyński, Barentz Sp. z o. o., ul. Nowoberestecka 14, 02-204 Warszawa, prof. dr hab. A. Łyczyński, Katedra Surowców Pochodzenia Zwierzęcego Akademii Rolniczej im. A. Cieszkowskiego, ul. Wołyńska 33, 60-627 Poznań*

jednak, że chlorek sodu ma działanie prooksydacyjne. Fakt ten nie jest bez znaczenia w przypadku mięsa przeznaczonego do długotrwałego, zamrażalniczego przechowywania, a zwłaszcza mięsa o dużej zawartości tłuszczu. Działanie to można ograniczyć stosując, jeśli to dopuszcza proces przetwórczy, azotan(III) sodu, pełniący funkcję przeciwutleniacza, oraz kwas mlekowy wzmacniający aktywność przeciwutleniaczy.

W niniejszej pracy zastosowano mikrokapsulkowaną sól kuchenną. Mikrokapsulkowanie jest metodą polegającą na wytworzeniu otoczki wokół substancji stałej, ciekłej lub gazowej tak, aby zawartość powstałej kapsułki uwalniała się w sposób kontrolowany, w określonych warunkach [6, 7]. Substancje mikrokapsulkowane w technologii żywności spełniają najczęściej funkcję dodatków o specyficznych właściwościach. Użycie składnika mikrokapsulkowanego powinno mieć na celu poprawę cech jakościowych produktu finalnego [7].

Problem użycia mikrokapsulkowanego chlorku sodu w technologii mięsa jest najczęściej marginalizowany. Firmy produkujące sól tego typu swoje dane przekazują w formie prospektów reklamowo-informacyjnych. Brak jest w nich informacji dotyczących oddziaływania mikrokapsulkowanego chlorku sodu na przebieg solenia/peklowania, jego wpływu na zmiany oksydacyjne lipidów, wodochłonność, barwę, cechy sensoryczne czy rozwój niepożądaną mikroflory. Zamknięcie soli w otoczkę, a tym samym brak jej dostępu do tkanki, może jednak niekorzystnie oddziaływać na trwałość mięsa podczas jego składowania, co prawdopodobnie można minimalizować stosując dodatek kwasu mlekowego lub też w przypadku ograniczania procesów utleniania przez zastosowanie azotanów(III).

W niniejszej pracy przeanalizowano wpływ mikrokapsulkowanego chlorku sodu na stan mikrobiologiczny mięsa wykrojonego ze schabu i karkówki, przechowywanego w warunkach chłodniczych oraz w stanie zamrożonym, stosując dodatkowo w określonych wariantach kwas mlekowy i azotan(III) sodu.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem badawczym było mięso wycięte z dwóch elementów zasadniczych, tzn. ze schabu (mięsień najdłuższy grzbietu – *m. longissimus*) oraz z karkówki (składającej się z wielu mięśni m. in. z: najdłuższego szyi – *m. longissimus cervicis*, najdłuższego głowy – *m. longissimus capitis*, długiego szyi – *m. longus colli*, płatowego – *m. splenius*) [12]. Surowiec pochodził z półtuszy wychłodzonych przez 24 h po uboju i był wolny od wad jakościowych typu PSE i DFD. Selekcji dokonywano w oparciu o pomiar wartości pH, przewodności elektrycznej i wizualnej oceny barwy. Jako mięso o normalnej jakości uznawano to, w którym wartość pH<sub>2</sub> była większa od 5,5, przewodność elektryczna nie wyższa od wartości 8 mS/cm<sup>2</sup>, a powierzchnia mięsa miała barwę od jasnoróżowej do czerwonej.

Surowiec krojono na plastry o szerokości 35–40 mm i masie ok. 150 g, które przydzielono do 4 eksperymentalnych wariantów doświadczenia:

- S – plaster z dodatkiem 2,3% NaCl,
- SA – plaster z dodatkiem 2,3% NaCl i 0,0125% azotanu(III) sodu,
- SAK – plaster z dodatkiem 1,73% NaCl, 0,0125% azotanu(III) sodu i 0,3% kwasu mlekowego,
- SK – plaster z dodatkiem 1,73% NaCl i 0,3% kwasu mlekowego.

Zastosowana sól była mikrokapsułkowana (Cap-Shure® 85 Salt, firmy Balchem Corp., USA). Przed przystąpieniem do badań przeprowadzono ocenę ww. preparatu. Wyboru dokonano w oparciu o wcześniejsze badania [5]. Porównywano wybrany preparat Cap-Shure® 85 Salt z odmianą Cap-Shure® Sodium Chloride 70 Salt (Balchem Corp., USA) i preparatami rodzimej produkcji (firmy „Paula” z Kalisza). Zastosowane mikrokapsułki odznaczały się najlepszą szczelnością i jednorodnością. Podstawową charakterystykę handlową obu rodzajów soli Cap-Shure (materiały informacyjne firmy Balchem Corp.) przedstawiono w tab. 1. Obie odmiany różniły się statystycznie istotnie pod względem udziału trwale zakapsułkowanej soli (TZ<sub>s</sub>), wielkością kapsułki i wartością pH. Bardziej trwale zakapsułkowaną sól miała wersja 85 Salt, miała też mniejsze kapsułki (tab. 1 i 2).

Tabela 1

Charakterystyka handlowa soli mikrokapsułkowanych (Balchem Corp. USA).  
Commercial characteristic of micro-encapsulated salts (Balchem Corp. USA).

Specyfikacja / Specification	Cap-Shure® 85 Salt	Cap-Shure® 70 Salt
Udział substancji zakapsułkowanej Share of micro-encapsulated salt [%]	83-87	68-72
Udział substancji kapsułkującej Share of substance used for micro-encapsulation [%]	13-17	28-32
Rodzaj substancji kapsułkującej Type of substance for capsule	Częściowo uwodorniony olej roślinny / Partly hydrogenated plant oil	Częściowo uwodorniony olej roślinny / Partly hydrogenated plant oil
Temperatura topnienia mikrokapsułki Melting point of microcapsule [°C]	67-70	64-69
Wygląd Appearance	białe, sypkie granulki/white, loose granules	białe, sypkie granulki white, loose granules
Rozmiar mikrokapsulek Size of microcapsules	Powyżej 0,6 mm;/ 30 mesh (17-25% wszystkich kapsulek / 17-25% of all capsules)	Maksymalnie 2% wszystkich kapsulek o wielkości 10 mesh (2 mm)
	0,3-0,6 mm; / 30-50 mesh (70-	maximum 2% of all capsules

	80% wszystkich kapsułek / 70-80% of all capsules)	have the size of 10 mesh (2 mm)
--	---	---------------------------------

Tabela 2

Właściwości preparatów mikrokapsułkowanego chlorku sodu.

Properties of micro-encapsulated sodium chloride.

Rodzaj soli Type of the salt	TZ <sub>s</sub> * [%] (n = 3)**	Wartość pH wodnej mieszaniny pH-value of water mixture		Średnia wielkość kapsułek Mean size of capsules [mm] (n = 50)
		przed ogrzewaniem before heating (n=3)	po ogrzewaniu after heating (n=3)	
85 Salt	92,6***±0,02 <sup>x</sup>	7,10 <sup>a</sup> ±0,02	6,37 <sup>c</sup> ±0,03	0,512 <sup>a</sup> ±0,215
70 Salt	87,3 <sup>b</sup> ±0,03	6,69 <sup>b</sup> ±0,04	6,61 <sup>b</sup> ±0,03	0,772 <sup>b</sup> ±0,347

\*TZ<sub>s</sub> – ilość trwale zakapsułkowanej soli / amount of stable encapsulated salt; <sup>x</sup> odchylenie standardowe / standard deviation; \*\* liczba pomiarów / number of measurements; \*\*\* wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $\alpha = 0,05$ ) / mean values estimated for indicated properties designated by various letters show statistically significant differences ( $\alpha = 0,05$ ).

Nieznacznie, ale istotnie statystycznie, zmieniła się wartość pH wodnej mieszaniny 85 Salt po ogrzewaniu. Poza dobrą szczelnością wersja 85 odznaczała się małym udziałem substancji powlekającej, przy podobnej jej temperaturze topnienia. Do solenia wybrano więc mikrokapsułkowany chlorek sodu Cap-Shure® 85 Salt. Ilość mikrokapsułkowanej soli została zwiększona o 15% ze względu na taki w niej udział substancji kapsułkującej. Chlorek sodu uwalniał się z kapsułki dopiero w trakcie obróbki cieplnej, tj. gdy kapsułka (otoczka) topiła się. Gdy podczas solenia stosowano kwas mlekowy, ilość dodanej soli zmniejszono o 0,5%, ponieważ wzmagał on słoność mięsa. Dodatek kwasu ograniczono do poziomu 0,3% celem uzyskania zakwaszenia sensorycznie akceptowanego. Składniki peklujące dodawane były w postaci solanki nastrzykowej w ilości 20%. Sól mikrokapsułkowaną dodawano na sucho na powierzchnię plastrów, gdyż preparat ten nie rozpuszczał się w wodzie.

Zasolone mięso umieszczano w woreczkach (laminatach) PAPE-poliamidowo-polietylenowych o przepuszczalności: tlenu – 50 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/24 h; dwutlenku węgla – 140 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/24 h i wody – 6–8 g/m<sup>2</sup>/24 h). Następnie zamykano je próżniowo (próżnia 50 mbar) i część prób przechowywano w szafie chłodniczej w temp. 2–4°C przez 2 i 14 dób, a część zamrażano i składowano w temp. -18°C przez 3 i 9 miesięcy. Mięsa zamrożone przed przystąpieniem do badań rozmrażano, przechowując przez około 12–14 h w temp. 6°C.

### *Ocena mikrobiologiczna*

Po danym okresie składowania w próbach określano ogólną liczbę bakterii tlenowych w 1 g, liczbę bakterii kwaszących w 1 g oraz miano bakterii z grupy coli i miano beztlenowych laseczek przetrwalnikujących. Sprawdzano również liczbę gronkowców chorobotwórczych w 1 g. Przygotowanie materiału do badań, posiewy i odczyty wykonano zgodnie z zasadami podanymi przez Burbiankę i wsp. [3]. Do oznaczenia bakterii stosowano następujące podłoża:

- agar odżywczy dla bakterii tlenowych,
- agar z mannitolem (Chapmana) dla gronkowców chorobotwórczych,
- agar MRS dla bakterii kwaszących,
- podłoże z żółcią i zielenią brylantową dla bakterii z grupy coli,
- podłoże Wrzoska dla beztlenowych laseczek przetrwalnikujących.

### *Oznaczanie wartości pH*

Wartość pH mierzono po soleniu. W każdej próbie wykonano minimum trzy pomiary, przez umieszczenie elektrody pH-metru (Handylab) bezpośrednio wewnątrz naciętego kawałka [4].

### *Analiza statystyczna*

Wyniki oznaczeń poddano analizie statystycznej. Zastosowano trójczynnika analizę wariancji z powtórzeniami [13].

## **Wyniki i dyskusja**

### *Mięso przechowywane w warunkach chłodniczych*

Wyniki oceny mikrobiologicznej mięsa wykrojonego ze schabu przechowywanego w warunkach chłodniczych przedstawiono w tab. 3. i 4. Próby z dodatkiem tylko soli mikrokapsułkowanej (S) charakteryzowały się stosunkowo małym zanieczyszczeniem drobnoustrojami tlenowymi. Liczba tych bakterii, po 2 dobach przechowywania w chłodni, wynosiła od  $1,5 \cdot 10^3$  do  $5,6 \cdot 10^3$  w 1 g, a po 14 d od  $1,6 \cdot 10^5$  do  $8,1 \cdot 10^5$  w 1 g. W pozostałych próbach, tzn. z dodatkiem soli, azotanu(III) sodu i kwasu mlekowego (SA, SAK i SK) oznaczono większą liczbę bakterii tlenowych w 1g, ale zróżnicowanie pomiędzy próbami nie było istotne statystycznie. Podczas dłuższego przechowywania zaznaczył się bakteriostatyczny wpływ  $\text{NaNO}_2$  i kwasu mlekowego na mikroflorę. Po 14 dobach składowania w chłodni, w próbach z dodatkiem azotanu(III) sodu i kwasu mlekowego, w połączeniu z mikrokapsułkowanym chlorkiem sodu (SA i SAK), oznaczono mniejszą liczbę drobnoustrojów tlenowych niż po 2 dobach. W próbie SA średnie zanieczyszczenie

bakteriami tlenowymi zmniejszyło się z  $1,1 \cdot 10^6/\text{g}$  po 2 dobach do  $3,7 \cdot 10^5/\text{g}$  po 14 dobach (tab. 3).

Tabela 3

Ogólna liczba bakterii tlenowych w 1 g mięsa przechowywanego w warunkach chłodniczych.  
Total aerobic bacteria count in 1 g of meat after its storage under chilled conditions.

Czas przechowywania [doby] Storing time [days]	Próba Sample	Części zasadnicze Primal cuts	Ogólna liczba bakterii tlenowych w 1 g Total aerobic bacteria count per g		
			$\bar{x} \pm s$	M	m
2	S	schab / loin	$3,6 \times 10^3 \pm 2,1 \times 10^{3a}$	$5,6 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$
		karkówka neck	$2,3 \times 10^7 \pm 5,6 \times 10^{6abc}$	$2,7 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$
	SA	schab / loin	$1,1 \times 10^6 \pm 9,1 \times 10^{5a}$	$2,1 \times 10^6$	$4,4 \times 10^5$
		karkówka neck	$2,4 \times 10^7 \pm 3,5 \times 10^{6abc}$	$2,6 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$
	SAK	schab / loin	$2,5 \times 10^6 \pm 1,6 \times 10^{6a}$	$4,3 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$
		karkówka neck	$4,3 \times 10^7 \pm 1,3 \times 10^{7cd}$	$5,2 \times 10^7$	$3,3 \times 10^7$
	SK	schab / loin	$2,0 \times 10^6 \pm 1,3 \times 10^{6a}$	$3,1 \times 10^6$	$5,2 \times 10^5$
		karkówka neck	$3,7 \times 10^7 \pm 7,8 \times 10^{6bc}$	$4,2 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$
14	S	schab / loin	$4,8 \times 10^5 \pm 3,2 \times 10^{5a}$	$8,1 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$
		karkówka neck	$6,6 \times 10^7 \pm 4,6 \times 10^{6d}$	$9,8 \times 10^7$	$3,3 \times 10^7$
	SA	schab / loin	$3,7 \times 10^5 \pm 4,1 \times 10^{5a}$	$8,4 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$
		karkówka neck	$1,6 \times 10^7 \pm 4,2 \times 10^{6abc}$	$1,9 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$
	SAK	schab / loin	$3,0 \times 10^6 \pm 4,4 \times 10^{6a}$	$8,1 \times 10^6$	$1,1 \times 10^4$
		karkówka neck	$1,3 \times 10^7 \pm 1,2 \times 10^{7ab}$	$2,1 \times 10^7$	$4,0 \times 10^6$
	SK	schab / loin	$1,8 \times 10^5 \pm 1,5 \times 10^{5a}$	$3,2 \times 10^5$	$2,3 \times 10^4$
		karkówka neck	$3,6 \times 10^7 \pm 4,5 \times 10^{7bc}$	$6,8 \times 10^7$	$4,6 \times 10^6$

\*abc – wartości średnie oznaczone różnymi indeksami różnią się istotnie przy  $\alpha \leq 0,05$  / mean values designated by various indexes significantly differ at  $\alpha \leq 0,05$ .

x – wartość średnia / mean value,

M – wartość maksymalna / maximum value,

m – wartość minimalna / minimum value,

$\pm s$  – odchylenie standardowe / standard deviation,

S – plaster z 2% dodatkiem NaCl / slice with 2% NaCl,

SA – plaster z 2% dodatkiem NaCl i 0,0125% azotanu(III) sodu / slice with 2% NaCl and 0,0125% sodium nitrite,



SAK – plaster z 1,5% NaCl, 0,0125 azotanu(III) sodu i 0,3% kw. mlekowego / slice with 1,5% NaCl, 0,0125% sodium nitrite and 0,3% lactic acid,

SK – plaster z 1,5% dodatkiem NaCl i 0,3% kwasu mlekowego / slice with 1,5% NaCl, and 0,3% lactic acid.

Tabela 4

Wyniki oceny mikrobiologicznej mięsa przechowywanego w warunkach chłodniczych.  
Results of microbial quality evaluation of meat after its storage under chilled conditions.

Czas przechowywania [doby] Storing time [days]	Próba Sample	Części zasadnicze Primal cuts	Liczba bakterii kwaszących w 1 g Lactic acid bacteria count per g	Obecność bakterii z grupy coli Occurrence of a coliform		Obecność beztlenowych laseczek przetrwalnikujących w 0,1 g Occurrence of sporulating anaerobic bacteria in 0.1 g	Gronkowce chorobotwórcze w 1 g Occurrence of pathogenic <i>Staphylococcus</i> per 1 g
				0,1g	0,01g		
2	S	schab loin	<30×10	+	-	-	<30×10
		karkówka neck	<30×10	-	-	-	<30×10
	SA	schab loin	<30×10	+	-	-	<30×10
		karkówka neck	<30×10	-	+	-	<30×10
	SAK	schab loin	<3,0×10	-	-	-	<30×10
		karkówka neck	<30×10	-	-	-	<30×10
	SK	schab loin	<4,0×10 <sup>2</sup>	+	-	-	<30×10
		karkówka neck	<30×10	-	-	-	<30×10
14	S	schab loin	<30×10	+	-	-	<30×10
		karkówka neck	<30×10	+	-	-	<30×10
	SA	schab loin	<30×10	+	-	-	<30×10
		karkówka neck	<30×10	+	-	-	<30×10

	SAK	schab loin	<30×10	-	-	-	<30×10
		karkówka neck	<30×10	+	-	-	<30×10
	SK	schab loin	<30×10	+	-	-	<30×10
		karkówka neck	<30×10	+	-	-	<30×10

Objaśnienia jak w tab. 3 / Explanations as in Tab. 3.

W przypadku próby SK liczba ta zmniejszyła się odpowiednio z  $2,0 \cdot 10^6$  do  $1,8 \cdot 10^5$  (tab. 3). Jednoczesne użycie azotanu(III) sodu i kwasu mlekowego oraz mikrokapsułkowanej soli (SAK) powodowało mniejszy skutek bakteriostatyczny niż w przypadku wariantów SA i SK. Po 14 dobach przechowywania średnia liczba bakterii tlenowych w 1 g nieznacznie zwiększyła się z  $2,5 \cdot 10^6$  (po 2 dobach) do  $3,0 \cdot 10^6$ . Należy jednak wziąć pod uwagę, że zastosowanie tylko soli mikrokapsułkowanej (S) spowodowało, że średnie zanieczyszczenie bakteriami tlenowymi wzrosło z  $3,6 \cdot 10^3/g$  po 2 dobach przechowywania do  $4,8 \cdot 10^5/g$  po 14 dobach magazynowania. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała jednak, że materiał doświadczalny nie był zróżnicowany pod względem zanieczyszczenia bakteriami tlenowymi. Powyższe wskazuje, że zachowując wysoki poziom higieny produkcji liczba bakterii tlenowych w próbach traktowanych tylko solą mikrokapsułkowaną nie przekraczała wielkości zalecanych dla mięsa świeżego, nawet po 14 dobach przechowywania. [3, 15].

Bakteriostatyczne działanie substancji chemicznych (sól,  $\text{NaNO}_2$ , kwas mlekowy) widoczne było w przypadku innych grup drobnoustrojów (tab. 4). W badanych próbach nie oznaczono więcej niż 30 kolonii przy posiewie z rozcieńczenia 1:10 w kierunku bakterii kwaszących i gronkowców chorobotwórczych, stąd ich liczbę określono jako <30·10 w 1 g. Wyjątek stanowiła próba SK w II serii, po 2 dobach przechowywania, gdzie liczba bakterii kwaszących wzrosła w 1 g i wynosiła  $6,1 \cdot 10^2$ . Również zanieczyszczenie bakteriami z grupy coli nie budziło zastrzeżeń. Bakterie te występowały jedynie w 0,1 g. Nie stwierdzono obecności beztlenowych laseczek przetrwalnikujących w 0,1 g. Wyniki te są zgodne z wymaganiami przedstawionymi w rozporządzeniu MRiRW z 21.12.2002 r. [1].

W porównaniu z mięsem schabu, stan mikrobiologiczny karkówki przechowywanej w warunkach chłodniczych był znacznie gorszy (tab. 3. i 4). Większa liczba bakterii tlenowych w 1 g karkówki, w porównaniu z mięsem schabu, mogła wynikać z różnic w wartościach pH.

W tab. 5. przedstawiono wyniki pomiaru wartości pH poszczególnych prób. Wskazują one, że karkówka charakteryzowała się wyższymi wartościami pH niż schab. Bez względu na rodzaj zastosowanej substancji chemicznej w próbach, po 2 dobach składowania w warunkach chłodniczych, liczba bakterii tlenowych była duża. Po 14

dobach przechowywania średnia liczba bakterii tlenowych w 1g próby z dodatkiem tylko mikrokapsułkowanego chlorku sodu była najwyższa ( $6,6 \cdot 10^7$ ) i różniła się statystycznie istotnie od pozostałych wartości (tab. 3). W żadnej z ocenionych prób nie stwierdzono wzrostu bakterii kwaszących i gronkowców chorobotwórczych w liczbie przekraczającej 30 kolonii, z rozcieńczenia 1:10. Bakterie z grupy coli występowały w 0,1 g, sporadycznie w 0,01 g. W żadnej z przebadanych prób nie stwierdzono obecności beztlenowych laseczek przetrwalnikujących w 0,1 g (tab. 4).

Tabela 5

Wartość pH mięsa niepoddanego ogrzewaniu.  
The pH-value of unheated meat.

Rodzaj próby Sample	Rodzaj surowca Raw material	2 doby (2-4°C) 2 days	14 dób (2-4°C) 14 days	3 mies. (-18°C) 3 months
		$x \pm s$	$x \pm s$	$x \pm s$
S	schab loin	$5,40 \pm 0,07^f$	$5,39 \pm 0,05^{ef}$	$5,56 \pm 0,14^h$
	karkówka neck	$5,68 \pm 0,12^i$	$5,63 \pm 0,20^{hi}$	$5,64 \pm 0,13^{hi}$
SA	schab loin	$5,40 \pm 0,12^f$	$5,46 \pm 0,08^{fg}$	$5,54 \pm 0,15^{gh}$
	karkówka neck	$5,80 \pm 0,21^j$	$5,72 \pm 0,14^{ij}$	$5,75 \pm 0,18^{ij}$
SAK	schab loin	$5,11 \pm 0,11^c$	$5,08 \pm 0,09^{bc}$	$5,24 \pm 0,09^d$
	karkówka neck	$5,10 \pm 0,12^c$	$5,10 \pm 0,12^c$	$5,22 \pm 0,09^d$
SK	schab loin	$4,95 \pm 0,14^a$	$5,09 \pm 0,09^{bc}$	$5,24 \pm 0,11^d$
	karkówka neck	$5,00 \pm 0,20^{ab}$	$5,04 \pm 0,12^{abc}$	$5,28 \pm 0,12^{de}$

Objaśnienia jak w tab. 3 / Explanations as in Tab. 3.

### Mięso przechowywane w warunkach zamrażalniczych

Dane dotyczące stanu mikrobiologicznego mięsa schabu przechowywanego w temp. -18°C przedstawiono w tab. 6. i 7. Po 3. miesiącach składowania średnia liczba bakterii tlenowych w 1g była największa w próbie SK ( $4,1 \cdot 10^8$ ) i różniła się statystycznie istotnie od pozostałych wartości (tab. 6). Tak duże zanieczyszczenie bakteriami tlenowymi tłumaczyć można tym, że ocenę mikrobiologiczną wykonywano po całkowitym rozmrożeniu prób. Był to stan, kiedy drobnoustroje namnażały się

bardzo szybko, ze względu na wysoką aktywność wody. Ponadto próby przygotowane były w postaci małych kawałków (plastrów), co również sprzyjało zwiększeniu zanieczyszczenia mikrobiologicznego.

Po 3 miesiącach przechowywania również stwierdzono bardzo duże zanieczyszczenie prób bakteriami z grupy coli (tab. 7). Obecność bakterii z grupy coli stwierdzono w rozcieńczeniu  $10^{-5}$  lub  $10^{-4}$ . Źródłem występowania pałeczek z grupy coli może być nie tylko mięso, ale także solanka, w której wprowadzie bakterie te nie rozwijają

Tabela 6

Wyniki oceny mikrobiologicznej mięsa (bakterie tlenowe i beztlenowe) przechowywanego w temp. -18°C.

Results of microbial quality evaluation (aerobic and anaerobic bacteria) of meat stored at -18°C.

Czas przechowywania [mies.] Storing time [month]	Próba Sample	Części zasadnicze Primary cuts	Ogólna liczba bakterii tlenowych w 1 g Total aerobic bacteria count in 1g			Obecność beztlenowych laseczek przetrwalnikujących w 1 g Occurrence of sporulating anaerobic bacteria in 0,1 g
			x ± s	M	m	
3	S	schab loin	$1,6 \times 10^7 \pm 2,1 \times 10^{7a}$	$4,0 \times 10^7$	$1,4 \times 10^6$	-
		karkówka neck	$1,1 \times 10^8 \pm 3,1 \times 10^{7ab}$	$1,3 \times 10^8$	$8,6 \times 10^7$	-
	SA	schab loin	$1,3 \times 10^7 \pm 8,7 \times 10^{6a}$	$2,1 \times 10^7$	$3,8 \times 10^6$	-
		karkówka neck	$3,4 \times 10^8 \pm 9,8 \times 10^{7ab}$	$4,1 \times 10^8$	$2,7 \times 10^8$	-
	SAK	schab loin	$3,2 \times 10^7 \pm 4,3 \times 10^{3a}$	$8,2 \times 10^7$	$4,5 \times 10^6$	-
		karkówka neck	$2,3 \times 10^8 \pm 7,8 \times 10^{7ab}$	$2,8 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	-
	SK	schab loin	$4,1 \times 10^8 \pm 4,3 \times 10^{8b}$	$8,7 \times 10^8$	$1,4 \times 10^7$	-
		karkówka neck	$3,2 \times 10^7 \pm 1,4 \times 10^{6a}$	$3,3 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$	-
9	S	schab loin	$4,8 \times 10^6 \pm 2,9 \times 10^{6a}$	$6,8 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6$	-
		karkówka neck	$6,8 \times 10^6 \pm 5,8 \times 10^{6a}$	$1,2 \times 10^7$	$5,2 \times 10^5$	-

	SA	schab loin	$5,1 \times 10^7 \pm 3,2 \times 10^{7ab}$	$7,4 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$	-
		karkówka neck	$9,4 \times 10^7 \pm 1,1 \times 10^{8ab}$	$2,2 \times 10^8$	$2,4 \times 10^5$	-
	SAK	schab loin	$9,6 \times 10^7 \pm 2,0 \times 10^{7ab}$	$1,1 \times 10^8$	$8,2 \times 10^7$	-
		karkówka neck	$9,5 \times 10^7 \pm 1,6 \times 10^{8ab}$	$2,8 \times 10^8$	$3,7 \times 10^5$	-
	SK	schab loin	$7,4 \times 10^7 \pm 8,0 \times 10^{7ab}$	$1,3 \times 10^8$	$1,7 \times 10^7$	-
		karkówka neck	$3,0 \times 10^8 \pm 4,8 \times 10^{8ab}$	$8,5 \times 10^8$	$1,2 \times 10^6$	-

Objaśnienia jak w tab.3. / Explanations as in Tab. 3.

Tabela 7

Wyniki oceny mikrobiologicznej mięsa przechowywanego w temp. -18°C.

Results of microbial quality evaluation of meat stored at -18°C.

Czas przechowywania [mies.] Storing time [month]	Próba Sample	Części zasadnicze Primary cuts	Liczba bakterii kwaszących w 1 g Lactic acid bacteria in 1 g			Obecność bakterii z grupy coli Occurrence of coliform 10 <sup>-1</sup> 10 <sup>-2</sup> 10 <sup>-3</sup> 10 <sup>-4</sup> 10 <sup>-5</sup>					Liczba gronkowców chorobotwórczych w 1 g Pathogenic <i>Staphylococcus</i> per 1 g
			x ± s	M	m						
3	S	schab / loin	7,5 × 10 <sup>2</sup> ± 3,1 × 10 <sup>2a</sup>	9,9 × 10 <sup>2</sup>	4,0 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	-	-	<30 × 10
		karkówka neck	3,4 × 10 <sup>3</sup> ± 4,3 × 10 <sup>3a</sup>	6,4 × 10 <sup>3</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	+	-	<30 × 10
	SA	schab / loin	4,9 × 10 <sup>2</sup> ± 3,2 × 10 <sup>2a</sup>	8,6 × 10 <sup>2</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	-	-	<30 × 10
		karkówka neck	2,1 × 10 <sup>3</sup> ± 2,0 × 10 <sup>3a</sup>	3,5 × 10 <sup>3</sup>	6,8 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	+	-	<30 × 10
	SAK	schab / loin	3,5 × 10 <sup>2</sup> ± 8,6 × 10 <sup>1a</sup>	4,5 × 10 <sup>2</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	+	-	<2,5 × 10 <sup>2</sup>
		karkówka neck	3,3 × 10 <sup>2</sup> ± 4,2 × 10 <sup>a</sup>	3,6 × 10 <sup>2</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	+	-	<30 × 10
SK	schab / loin	8,0 × 10 <sup>2</sup> ± 8,7 × 10 <sup>2a</sup>	1,9 × 10 <sup>3</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	+	-	<30 × 10	
	karkówka neck	1,4 × 10 <sup>3</sup> ± 1,5 × 10 <sup>3a</sup>	2,5 × 10 <sup>3</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	-	-	<30 × 10	
9	S	schab / loin	3,0 × 10 <sup>2</sup> ± 0,00 × 10 <sup>0a</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-	<30 × 10
		karkówka neck	7,5 × 10 <sup>2</sup> ± 6,5 × 10 <sup>2a</sup>	1,5 × 10 <sup>3</sup>	3,7 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	+	-	<30 × 10
	SA	schab / loin	1,2 × 10 <sup>4</sup> ± 1,4 × 10 <sup>4a</sup>	2,2 × 10 <sup>4</sup>	1,3 × 10 <sup>3</sup>	+	-	-	-	-	<30 × 10
		karkówka neck	8,2 × 10 <sup>3</sup> ± 1,3 × 10 <sup>4a</sup>	2,4 × 10 <sup>4</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	+	-	<30 × 10
	SAK	schab / loin	3,2 × 10 <sup>3</sup> ± 2,8 × 10 <sup>3a</sup>	5,2 × 10 <sup>3</sup>	1,2 × 10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	-	<30 × 10
		karkówka neck	2,3 × 10 <sup>4</sup> ± 1,3 × 10 <sup>4ab</sup>	3,2 × 10 <sup>4</sup>	8,1 × 10 <sup>3</sup>	+	+	+	+	-	<30 × 10
SK	schab / loin	2,6 × 10 <sup>3</sup> ± 3,0 × 10 <sup>3a</sup>	4,7 × 10 <sup>3</sup>	5,1 × 10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-	<30 × 10	
	karkówka neck	4,6 × 10 <sup>4</sup> ± 4,7 × 10 <sup>4b</sup>	9,4 × 10 <sup>4</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>	+	+	+	+	-	<30 × 10	

Objaśnienia jak w Tab.3 / Explanations as in Tab. 3.

się, ale mogą utrzymywać się bardzo długo [3]. Rozwój pałeczek z grupy coli następował natomiast bardzo szybko podczas rozmrażania prób, czym można tłumaczyć znaczne zanieczyszczenie ocenianych prób pałeczkami z grupy coli. Problemu nie stanowiły natomiast beztlenowe laseczki przetrwalnikujące i gronkowce chorobotwórcze. Beztlenowe laseczki przetrwalnikujące nie występowały w 0,1 g (tab. 6). Przy posiewie, z rozcieńczenia  $10^{-1}$ , na płytce Petriego w kierunku gronkowców chorobotwórczych nie stwierdzano więcej niż 30 kolonii. Stąd ich liczbę określano jako  $<30 \cdot 10$  w 1 g. Wyjątek stanowiła próba z dodatkiem soli,  $\text{NaNO}_2$  i kwasu mlekowego (SAK) w serii I, gdzie liczba gronkowców chorobotwórczych wynosiła  $1,5 \cdot 10^2$  w 1 g. W próbach przechowywanych w warunkach zamrażalniczych stwierdzono także występowanie bakterii kwaszących. Liczba tych bakterii w 1g próby wynosiła od  $<30 \cdot 10$  do  $1,9 \cdot 10^3$  (tab. 7).

Wydłużenie czasu składowania w temp.  $-18^\circ\text{C}$  do 9 miesięcy poprawiło stan mikrobiologiczny materiału doświadczalnego. Nie stwierdzono obecności beztlenowych laseczek przetrwalnikujących w 0,1 g. Liczba bakterii tlenowych w 1 g zmniejszyła się w przypadku użycia soli (S) i soli z kwasem mlekowym (SK). Natomiast w przypadku zastosowania azotanu(III) sodu (SA i SAK) liczba bakterii tlenowych nieznacznie wzrastała (tab. 6). Analiza statystyczna wykazała jednak, że pod względem zanieczyszczenia bakteriami tlenowymi próby nie były zróżnicowane i ich liczba była podobna we wszystkich grupach. Miano coli było mniejsze lub równe  $10^{-1}$  we wszystkich przebadanych próbach (tab. 7). We wszystkich próbach liczbę gronkowców chorobotwórczych określono jako  $<30 \cdot 10$ . Liczba bakterii kwaszących w 1 g próby utrzymywała się na poziomie od  $<30 \cdot 10$  do  $2,2 \cdot 10^4$  (tab. 7).

Karkówka, przechowywana w warunkach zamrażalniczych, była znacznie bardziej zanieczyszczona mikrobiologicznie niż schab składowany w identycznych warunkach (tab. 6 i 7). Średnia liczba bakterii tlenowych w 1 g po 3 miesiącach magazynowania wynosiła od  $3,2 \cdot 10^7$  w przypadku próby z dodatkiem soli i kwasu mlekowego (SK) do  $3,4 \cdot 10^8$  w próbie z solą i azotanem(III) sodu (SA) (tab. 6). Jednak w porównaniu z okresem 2 dobowego składowania w warunkach chłodniczych, podczas 3 miesięcy przechowywania w temp.  $-18^\circ\text{C}$  nie następował tak znaczny wzrost liczby bakterii tlenowych jak w przypadku schabu (tab. 6). Średnia liczba bakterii kwaszących w 1 g tak magazynowanych prób wynosiła od  $<30 \cdot 10$  do  $3,4 \cdot 10^3$  (tab. 7).

Obecność bakterii z grupy coli stwierdzono w rozcieńczeniach  $10^{-3}$  lub  $10^{-4}$  w zależności od rodzaju próby (tab. 7). W żadnej z przebadanych prób nie stwierdzono natomiast obecności beztlenowych laseczek przetrwalnikujących w 0,1 g (tab. 6). We wszystkich przypadkach liczba gronkowców chorobotwórczych była mniejsza niż  $30 \cdot 10$ . Wydłużenie czasu składowania w temp.  $-18^\circ\text{C}$  do 9 miesięcy powodowało zmniejszenie liczby bakterii tlenowych w 1g próby z dodatkiem soli (S), soli i

azotanu(III) sodu (SA) oraz soli, azotanu(III) sodu i kwasu mlekowego (SAK) (tab. 7). Największa redukcja liczby tych bakterii wystąpiła w karkówce z dodatkiem tylko chlorku sodu (S). W próbie z dodatkiem soli i kwasu mlekowego (SK) liczba tych bakterii wzrosła 10-krotnie. Podczas zamrażalniczego przechowywania nie zaobserwowano, jak to miało miejsce w przypadku schabu, zjawiska obumierania komórek bakterii z grupy coli. Miano coli nadal równe było  $10^4$ . W opisanych warunkach przechowywania nie obserwowano namnożenia się beztlenowców przetrwalnikujących i gronkowców chorobotwórczych. Obecności beztlenowców nie stwierdzono w 0,1 g próby (tab. 6), liczba gronkowców chorobotwórczych w 1 g była mniejsza od  $30 \cdot 10$ . Liczba bakterii kwaszących w 1 g wzrosła a najwięcej (średnio  $4,6 \cdot 10^4$ ) ich występowało w karkówce składowanej 9 miesięcy, do której dodano kwas mlekowy (SK). Próba różniła się statystycznie istotnie od pozostałych (tab. 7).

### Wnioski

1. Mięso karkówki było wyjściowo bardziej zanieczyszczone bakteriami tlenowymi niż schab.
2. Dodanie, oprócz soli, azotanu(III) sodu i kwasu mlekowego miało korzystny wpływ na trwałość mikrobiologiczną mięsa przechowywanego w chłodni przez 14 dób.
3. Użycie mikrokapsulkowanej soli nie stanowiło zagrożenia mikrobiologicznego mięsa nawet przy 14 dobowym przechowywaniu chłodniczym.
4. W mięsie schabu i karkówki zawierających tylko sól kuchenną wydłużenie czasu zamrażalniczego przechowywania z 3 do 9 miesięcy powodowało redukcję liczby bakterii tlenowych. Liczba bakterii kwaszących zwiększała się niezależnie od rodzaju stosowanej substancji.
5. Składowanie prób mięsa schabu w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  przez 9 miesięcy powodowało znaczną redukcję bakterii z grupy coli w porównaniu z próbami przechowywanymi 3 miesiące. W mięsie karkówki składowanej 9 miesięcy było ich znacznie więcej w porównaniu z mięsem schabu

### Literatura

- [1] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych warunków weterynaryjnych wymaganych przy produkcji, składowaniu i transporcie mięsa mielonego i wyrobów mięsnych niepoddanych obróbce termicznej, Dz. U. 2002. Nr 241, poz. 2086.
- [2] Budślawski J., Drabent Z.: Metody analizy żywności, WNT, Warszawa 1972.
- [3] Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: Mikrobiologia żywności, PZWL, Warszawa 1983.
- [4] Demos B. P., Mandigo R. W.: Physical, chemical and organoleptic properties of ground beef manufactured with mechanically recovered neck bone lean. J. Muscle Foods, 1996, 7, 175-186.



- [5] Dropek G.: Ocena właściwości preparatów mikrokapsułkowanych w technologii mięsa. Praca magisterska nr Pm/1100, Akademia Rolnicza w Poznaniu 1999.
- [6] Jackson L.S., Lee K.: Microencapsulated iron for food fortification. *J. Food Sci.*, 1991, **(56)**, **4**, 1047-1050.
- [7] Jankowski T.: Mikrokapsułkowanie składników żywności. W: *Food Product Development. Opracowanie nowych produktów żywnościowych* – pod red. J. Czapskiego, Wyd. AR w Poznaniu, 1995, s. 256-276.
- [8] Lee S. K., Mei L., Decker E. A.: Influence of sodium chloride on antioxidant enzyme activity and lipid oxidation in frozen ground pork. *Meat Sci.*, 1997, **46**, **4**, 349-355.
- [9] Osinchak J. E., Hultin H. O., Zajicek O. T., Kelleher S.D., Huang C. H.: Effect of NaCl catalysis of lipid oxidation by the soluble fraction of fish muscle. *Free Rad. Biol. Med.*, 1992, **12**, 35-41.
- [10] Rhee K. S., Ziprin Y. A.: Pro-oxidative effects of NaCl in microbial growth-controlled and uncontrolled beef and chicken. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 105-112.
- [11] Rhee K. S.: Storage stability of meat products as affected by organic and inorganic additives and functional ingredients. *Quality Attributes of Muscle Food*, ed. Xiong et al., 1999, **7**, 95-113.
- [12] Sobociński M.: Surowce zwierzęce. Elementy anatomii i fizjologii zwierząt użytkowych. PWN, Warszawa 1987.
- [13] Stanisław A.: Przystępny kurs statystyki w oparciu o program Statistica PL na przykładach z medycyny. StatSoft Polska Sp. z o. o., Kraków 1998.
- [14] Woods K. L., Rhee K. S., Adams A. R.: Tenderizing spent fowl meat with calcium chloride. 4. Improved oxidative stability and the effects of additional aging. *J. Poultry Sci.*, 1997, **76**, 548-551.
- [15] Zaleski S. J.: Mikrobiologia żywności pochodzenia zwierzęcego. WNT, Warszawa 1985.

#### EVALUATION OF THE EFFECT OF MICROENCAPSULATED NaCl ON MICROBIAL QUALITY OF LOIN AND NECK STORED UNDER CHILLED AND FROZEN CONDITIONS

##### S u m m a r y

The objective of this study was to evaluate the influence of microencapsulated sodium chloride (Cap-Shure<sup>®</sup> Sodium Chloride 85 Salt), sodium nitrite, and lactic acid on the microbiological stability of pork meat (loin and neck). Experimental primal cuts were stored at a temperature ranging from 2 to 4°C during 2 and 14 days, and at a temperature of -18°C (frozen) during 3 and 9 months after their having been packed in a laminate foil 'PAPE' bags that were vacuum closed. Generally, after the 2 and 14 day storage of meat under chilled conditions, it was stated a higher contamination level caused by aerobic bacteria in the neck meat compared with the loin meat investigated. Nitrite and lactic acids, if added together with sodium chloride, positively influenced microbiological stability of the meat stored 14 days in a cold room. If the period of storing meat under freezing conditions was prolonged from 3 to 9 months, it was usually stated a reduced aerobic bacteria count in slices with salt, and an increased number of lactic acid bacteria irrespective of additive types applied. It also caused an essential reduction in the number of coli forms in the loin meat; however, with regard to the neck meat, the count of coli forms did not decrease. From the microbiological point of view, the application of microencapsulated salts was safe and constituted no microbiological danger for meat stored under chilling conditions even as long as 14 days.

**Key words:** pork meat, storage, microencapsulated NaCl, microbiological state 

TADEUSZ SZMAŃKO, ZBIGNIEW DUDA, JAROSŁAW SZCZEPAŃSKI,  
EWA DWORECKA

**ZMIANY PRZECHOWALNICZE TŁUSZCZU ORAZ  
ZANIECZYSZCZENIE MIKROBIOLOGICZNE WĘDZONEK  
W ZALEŻNOŚCI OD WARUNKÓW PRZECHOWYWANIA**

Streszczenie

Oceniono zanieczyszczenie mikrobiologiczne oraz przechowalnicze zmiany tłuszczu wędzonek (szynka, baleron, boczek), magazynowanych w formie peklowanych półproduktów w temperaturze bliskiej krioskopowej (-3°C) przez 4 tygodnie i w temp. -18°C przez 4 i 8 tygodni. Po ukończeniu składowania półprzetwory wędzono i poddawano obróbce cieplnej. Materiał doświadczalny przechowywano również w formie wyrobów finalnych w wymienionych zakresach temperatury (-3°C, -18°C) przez 4 i 8 tygodni. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne produktów oceniano także po dodatkowym 7-dobowym przechowywaniu w chłodziarce (w temp. 3°C). W wędzonkach przechowywanych w temperaturze bliskiej krioskopowej i w stanie zamrożonym przez 4 i 8 tygodni, a następnie przez 7 dób w chłodziarce, nie stwierdzono obecności mikroflory chorobotwórczej. Ośmiotygodniowe przechowywanie szynki, baleronów i boczku w temperaturze bliskiej krioskopowej lub w stanie zamrożonym nie powodowało dyskwalifikującego zaawansowania zmian oksydacyjnych i hydrolitycznych tłuszczu międy mięśniowego.

**Słowa kluczowe:** wędzonki, przechowywanie, mikroflora, zmiany tłuszczu.

**Wstęp**

Wśród wyróżników jakości przetworów mięsnych wysoce znaczące są: wielkość zanieczyszczenia mikrobiologicznego oraz zaawansowanie zmian tłuszczu. Dotyczy to zarówno wyrobów po zakończeniu procesu ich wytwarzania, jak i poddanych przechowywaniu [1, 4, 7, 9, 23, 25, 26, 27]. Niewiele jest jednak danych źródłowych analizujących jakość przetworów na różnych etapach ich przetwarzania i/lub

---

przechowywania, zwłaszcza w stanie głęboko schłodzonym lub w warunkach zamrażalniczych [26, 27, 28]. Brak jest również danych literaturowych odnoszących się do trwałości przetworów mięsnych, przechowywanych w warunkach chłodziarek domowych, po uprzednim składowaniu zamrażalniczym lub w temperaturze bliskiej krioskopowej.

Celem badań była ocena stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego, zmian w tłuszczu międzymięśniowym, pH a także poziomu wolnych azotanów(III) i azotanów(V) wędzonek (szynka, baleron, boczek), przechowywanych w formie peklowanych półproduktów (P), w temp.  $-3^{\circ}\text{C}$  przez 4 tygodnie lub w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  przez 4 i 8 tygodni, a także w formie produktów finalnych (F) w ww. zakresach temp. ( $-3^{\circ}\text{C}$ ,

$-18^{\circ}\text{C}$ ) przez okres 4 i 8 tygodni. Przetwory przechowywane w formie peklowanych półproduktów, po zakończeniu składowania, poddano wędzeniu i obróbce cieplnej. Jakość mikrobiologiczną wędzonek określano również po dodatkowym siedmiodniowym ich przechowywaniu w chłodziarce (w temp.  $+3^{\circ}\text{C}$ ).

### **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 o pH<sub>45</sub> mięśnia najdłuższego klatki piersiowej, zmierzonym na wysokości ostatniego kręgu piersiowego, wynoszącym 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 nastrzykiwano solanką o składzie: woda – 85,5%; peklosól – 11,3%; polifosforany – 1,6%; sacharoza – 1,1%; azotan(III) sodu – 0,056%; glutaminian sodu – 0,224%; askorbinian sodu – 0,22%. Stosowano nastryk 20% solanki w stosunku do masy elementów. Nastryknięte mięśnie masowano przez 10 godz. 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).<sup>1)</sup> 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 produkty finalne. Połowę każdego przetworu w obrębie poszczególnych grup doświadczalnych wykorzystywano do badań fizykochemicznych i mikrobiologicznych, a pozostałą pakowano indywidualnie w papier pergaminowy, umieszczano w chłodziarce w temp.  $3 \pm 1^\circ\text{C}$  i składowano przez 7 dób (II etap przechowywania), po czym ponownie badano poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego.

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<sup>2)</sup> wyprodukowano z półproduktami przeznaczonymi do przechowywania (oceniono je po zakończonym procesie produkcyjnym i wychłodzeniu); następne 3<sup>2)</sup> 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<sup>2)</sup> 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 tych produktów, zawiniętą 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.

<sup>1)</sup> Ze względu na pogorszenie jakości peklowanych półproduktów przechowywanych w t.b.k. przez 8 tyg., okres składowania ww. formy wyrobu w temp.  $-3^\circ\text{C}$  ograniczono do 4 tygodni.

<sup>2)</sup> Wybierano 3 wędzonki z grupy 9 przetworów, takie których wartości zanieczyszczenia mikrobiologicznego były najbardziej zbliżone do średniej.

Dynamikę przechowalniczych zmian mikrobiologicznych oceniano na podstawie: ogólnej liczby drobnoustrojów [13], liczby bakterii z grupy coli [19], liczby gronkowców chorobotwórczych [16], obecność pałeczek rodzaju *Salmonella* [14] i beztlenowych bakterii przetrwalnikujących [17], liczby bakterii kwasu mlekowego [18] oraz pleśni i drożdży [15].

Natomiast zmiany tłuszczu międzymięśniowego oceniano jedynie w pierwszym etapie badań, oznaczając: liczbę kwasową, nadtlenkową [12, 20] i obecność aldehydu epihydrynowego [11]. Do oznaczania liczb tłuszczowych wykorzystano tłuszcz międzymięśniowy.

Ponadto oznaczono (również jedynie w I etapie badań) a odczyn (pH) bezpośrednio w doświadczalnym materiale, przy zastosowaniu pH-metru CP-551, zawartość wolnych azotanów(III) i azotanów(V) w przeliczeniu na azotan(III) [10].

Wyniki badań poddano analizie statystycznej (wartości średnie, odchylenie standardowe, analiza wariancji). O istotności różnic pomiędzy średnimi wnioskowano przy  $p \leq 0,05$ . Przetwory wyprodukowano w trzech seriach produkcyjnych. Populację doświadczalną w każdej grupie eksperymentalnej stanowiło 9 wędzonek.

#### *Wykaz najważniejszych symboli*

- K** – próby kontrolne, tj. szynka, baleron, boczek, poddane peklowaniu, wędzeniu i obróbce cieplnej, nieprzechowywane / control samples, i.e. hams, collars, streaky bacons that were cured, smoked, and thermally treated, not stored;
- 3P4, -3P8** – próby przechowywane w formie peklowanych półproduktów w temp.  $-3^{\circ}\text{C}$  przez okres 4 lub 8 tyg., następnie poddane wędzeniu i obróbce cieplnej / samples, i.e. hams, collars, streaky bacons that have been stored as cured semi-raw products at a temperature of  $-3^{\circ}\text{C}$  for 4 or 8 weeks, and, then, smoked and thermally treated;
- 3F4, -3F8** – wędzonki przechowywane w formie produktów finalnych w temp.  $-3^{\circ}\text{C}$  przez okres 4 lub 8 tygodni / hams, collars, streaky bacon stored as final products at a temperature of  $-3^{\circ}\text{C}$  during a period of 4 or 8 weeks;
- 18P4, -18P8** – próby przechowywane w formie peklowanych półproduktów w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  przez okres 4 lub 8 tyg., następnie rozmrożone, poddane wędzeniu i obróbce cieplnej / hams, collars, streaky bacon stored as cured semi-raw products at a temperature of  $-18^{\circ}\text{C}$ , during a period of 4 or 8 weeks, and, then, thawed, smoked and thermally treated;
- 18F4, -18F8** – wędzonki przechowywane w formie produktów finalnych w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  przez okres 4 lub 8 tyg., następnie rozmrożone / hams, collars, streaky bacon stored as final products at a temperature of  $-18^{\circ}\text{C}$  during a period of 4 or 8 weeks, and, next, thawed.

## Wyniki i dyskusja

Średnia wartość odczynu (pH) doświadczalnych sortymentów wędzonek kontrolnych wynosiła około 6,2 (tab. 3). Statystycznie istotne obniżenie wartości pH szynek do poziomu 6,01 i 6,12 stwierdzono dopiero po 8 tyg. ich przechowywania, odpowiednio w temp.  $-3^{\circ}\text{C}$ , jak również w stanie zamrożonym ( $-18^{\circ}\text{C}$ ).

Przechowywanie baleronów przez 4 tyg. w formie przetworów finalnych w temp.  $-3^{\circ}\text{C}$  powodowało istotne obniżenie, a składowanie ww. przetworów w formie peklowanych półproduktów w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  przez identyczny okres skutkowało zwiększeniem ich zasadowości. Wartości pH wyrobów składowanych w ww. zakresach temperatury zawierały się w granicach odczynu charakterystycznego dla peklowanych przetworów poddanych obróbce cieplnej [2, 15, 23, 28].

Składowanie boczku powodowało obniżenie wartości pH (tab. 3), jednak istotne jedynie w wyrobach grupy doświadczalnej -18P8. Były to wartości niewskazujące na niepożądane zaawansowanie zmian fizykochemicznych i/lub mikrobiologicznych [5, 23, 28].

Średnie wyjściowe zanieczyszczenie mikrobiologiczne eksperymentalnych przetworów było zróżnicowane i wynosiło w przypadku szynek, baleronów i boczków odpowiednio:  $9,5 \cdot 10^2$ ;  $2,2 \cdot 10^2$ ;  $1,6 \cdot 10^2$  jtk w 1g (tab. 1 i 2).

Stwierdzono występowanie odwrotnie proporcjonalnej zależności zanieczyszczenia mikrobiologicznego poszczególnych sortymentów wędzonek od zawartości tłuszczu mięśniowego (uwarunkowanej fizjologicznie), występującej w elementach stosowanych w produkcji doświadczalnych przetworów.

Przechowywanie szynek, baleronów i boczków zarówno w temp.  $-3^{\circ}\text{C}$ , jak i w stanie zamrożonym ( $-18^{\circ}\text{C}$ ), powodowało wzrost liczby drobnoustrojów w porównaniu z początkową wartością. Największy, istotny wzrost liczby drobnoustrojów odnotowano w przetworach grup doświadczalnych: -3F4 i -18F4. Prezentowane wyniki wskazują na podobny efekt czterotygodniowego przechowywania przetworów w temp.  $-3^{\circ}\text{C}$  i  $-18^{\circ}\text{C}$ . Zarówno warunki przechowywania w t.b.k., jak również składowanie w stanie zamrożonym powinny sprzyjać zmniejszeniu zakażenia wędzonek [7]. Zasadnicza różnica pomiędzy porównywanymi metodami składowania (oprócz temperatury) wynika z możliwości postępowania zakażenia produktu magazynowanego w temp.  $-3^{\circ}\text{C}$ , od jego powierzchni w głąb (do centrum). W wyrobie zamrożonym przemieszczanie się mikroorganizmów wydaje się mało prawdopodobne. Pomimo to zróżnicowane warunki przechowywania materiału doświadczalnego skutkowały zbliżonym efektem końcowym zakażenia, przekładającym się na podobną liczbę mikroorganizmów w wędzonkach grup -3F4 i -18F4, co na etapie aktualnego stanu zaawansowania badań trudno jest wytłumaczyć.

Składowanie szynek i baleronów grup doświadczalnych -18F8 i -18P8 nie powodowało statystycznie istotnego wzrostu ogólnej liczby drobnoustrojów.

Zarówno zamrożenie, jak również przechowywanie w stanie zamrożonym powinno letalnie oddziaływać na mikroorganizmy [7]. Podobny skutek na drobnoustroje wykazuje temperatura tuż poniżej punktu zamarzania [7]. Należy jednak podkreślić, że podczas przechowywania doświadczalnych wyrobów nie przekraczano temperatury ich zamarzania, bowiem składowano je w temperaturze bliskiej krioskopowej, a zatem nieznacznie wyższej od temp. zamarzania. W referowanych badaniach składowanie odbywało się w warunkach niezabezpieczających przed wtórnym zakażeniem, co może tłumaczyć wyższą liczbę mikroorganizmów w przetworach również po przechowywaniu zamrażalniczym.

Można przyjąć, że doświadczalne szynki przechowywane w t.b.k. oraz w stanie zamrożonym charakteryzowały się podobną jakością mikrobiologiczną.

Tabela 1

Ogólna liczba mikroorganizmów w wędzonkach [jtk/g].

The general count of aerobic bacteria in meat products [cfu/g].

Grupy doświadczalne Experimental groups		x		min.		max	
		I	II	I	II	I	II
S	K	$9,5 \cdot 10^2$	$1,8 \cdot 10^3$	10	10	$7 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^3$
	-3P4	$1,7 \cdot 10^3$	$1,9 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$	$2,4 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$
	-3F4	$7,4 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$	$3,9 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$
	-18P4	$2,6 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	$9 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^5$
	-18F4	$4,2 \cdot 10^3$	$2,3 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^2$	$8 \cdot 10^3$	$9 \cdot 10^3$
	-3F8	$4,1 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$9 \cdot 10^3$	$4,2 \cdot 10^3$
	-18P8	$3,1 \cdot 10^3$	$1,9 \cdot 10^4$	$9 \cdot 10^2$	$4 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^4$
	-18F8	$1,5 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$	$6 \cdot 10^3$	$6,3 \cdot 10^3$
B	K	$2,2 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^3$	10	10	$1 \cdot 10^3$	$5,4 \cdot 10^3$
	-3P4	$1,5 \cdot 10^3$	$7,2 \cdot 10^3$	$2,9 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$4,2 \cdot 10^3$	$2,6 \cdot 10^4$
	-3F4	$3,4 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$1,3 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^4$
	-18P4	$1,1 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$	$1,8 \cdot 10^2$	$2,7 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^3$
	-18F4	$3 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$8 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^3$
	-3F8	$1,4 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^3$	$5,2 \cdot 10^3$
	-18P8	$8,3 \cdot 10^2$	$4,6 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$	$3,2 \cdot 10^3$	$3,3 \cdot 10^4$
	-18F8	$1,8 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^3$	20	$1 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^3$
b	K	$1,6 \cdot 10^2$	$3,9 \cdot 10^3$	10	10	$5 \cdot 10^2$	$1,8 \cdot 10^4$
	-3P4	$1,7 \cdot 10^3$	$5,4 \cdot 10^3$	10	$2,5 \cdot 10^2$	$5,5 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^4$
	-3F4	$3,2 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^2$	$4 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^4$	$7 \cdot 10^4$
	-18P4	$1,3 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$	$5,4 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^3$

	-18F4	$6 \cdot 10^3$	$8,8 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^4$	$2,8 \cdot 10^3$
	-3F8	$2,0 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^3$	$3,2 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$	$7 \cdot 10^3$	$2,3 \cdot 10^3$
	-18P8	$1 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$	$2,1 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^4$
	-18F8	$1,1 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^3$	10	10	$5 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10^3$

S – szynka /ham; B – baleron /collar; b – boczek /streaky bacon; x – wartość średnia /mean value.

I – Materiał doświadczalny przechowywany w temp.  $-3^{\circ}\text{C}$  lub  $-18^{\circ}\text{C}$  / Experimental material stored at a temp. of  $-3^{\circ}\text{C}$  or  $-18^{\circ}\text{C}$ ;

II – Wędzonki przechowywane w temp.  $3^{\circ}\text{C}$  / Cured smoked meat products stored at a temp. of  $3^{\circ}\text{C}$ .

Tabela 2

Ogólna liczba mikroorganizmów w wędzonkach [log jtk/g].

The general count of aerobic bacteria in experimental meat products [log cfu/g].

Wyszczególnienie Specification		Grupy doświadczalne / Experimental groups								
		K	-3P4	-3F4	-18P4	-18F4	-3F8	-18P8	-18F8	
S	I	x	2,98a <sup>o</sup>	3,23a	3,87b	3,41abA	3,62b	3,61bB	3,49abA	3,18a
		SD	0,95	0,51	0,78	0,54	0,31	0,20	0,37	0,51
	II	x	3,25a	3,28a	4,20b	4,11bB	3,36a	3,30aA	4,28bB	3,25a
		SD	1,26	0,41	1,02	0,85	2,58	0,14	0,48	0,44
B	I	x	2,34a	3,18b	3,53bA	3,04b	3,48b	3,25b	2,92aA	3,25b
		SD	0,68	0,37	0,71	0,48	0,48	0,44	0,37	0,92
	II	x	3,04a	3,86a	4,23bB	3,38a	3,20a	3,18a	3,66aB	3,18a
		SD	1,26	0,71	0,85	0,51	0,51	0,48	0,85	0,58
b	I	X	2,20aA <sup>oo</sup>	3,23b	3,50bcA	3,11bc	3,78cB	3,30bc	3,00bA	3,04b
		SD	0,92	1,26	0,75	0,58	0,42	0,44	0,34	0,92
	II	X	3,59abB	3,73ab	4,25bB	3,11a	2,94aA	3,08a	4,08bB	3,20a
		SD	1,46	0,61	0,75	0,58	0,51	0,48	0,99	0,99

SD – odchylenie standardowe /standard deviation,

<sup>o</sup> Wartości średnie na tym samym poziomie w sąsiednich kolumnach, oznaczone różnymi małymi literami różnią się istotnie przy  $p \leq 0,05$ .

Mean values at the same level that stand in neighboring columns and are designated by small letters are significantly different at  $p \leq 0,05$ .

<sup>oo</sup> Wartości średnie w tej samej kolumnie oznaczone różnymi dużymi literami różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$ .

Mean values in the some column and designated by various capital letters are significantly different at  $p \leq 0,05$ .

Pozostałe objaśnienia jak w tab. 1 / The remaining explanations are as in Tab. 1.

Zakażenie doświadczalnych przetworów było zbliżone do odnotowanego w szynkach przechowywanych w stanie zamrożonym oraz w połówkach wędzonych i składowanych w temperaturze bliskiej krioskopowej [8, 26, 27].

Dodatkowe 7-dobowe przechowywanie chłodnicze wyrobów powodowało statystycznie istotne pogorszenie jakości mikrobiologicznej szynek (-18P4, -18P8),



baleronów (-3F4, -18P8) i boczków (K, -3F4, -18P8), (tab. 1 i 2). Mogło ono być spowodowane zarówno wtórnym zakażeniem, jak również namnożeniem się mikroflory występującej w przetworach po ich uprzednim przechowywaniu. Wtórne zakażenie podczas dodatkowego 7-dobowego chłodniczego składowania prawdopodobnie miało mniejsze znaczenie w przypadku szynek i baleronów, w obrębie których największym zanieczyszczeniem mikrobiologicznym przed i po składowaniu w temp. 3°C charakteryzowały się przetwory tych samych grup doświadczalnych. Wtórne zakażenie w większym stopniu mogło dotyczyć boczków, w przypadku których przetwory najbardziej zakażone przed i po składowaniu chłodniczym pochodziły z różnych grup doświadczalnych. Większa podatność boczków na zakażenie zewnętrzne, w porównaniu z pozostałymi przetworami, mogła być konsekwencją ich mniej korzystnej (większej) wartości stosunku powierzchni do objętości.

Tabela 3

Odczyn (pH) wędzonek oraz zmiany oksydacyjne i hydrolityczne tłuszczu międzymięśniowego.  
pH value of meat products and hydrolytic & oxidative changes in the intermuscle fat.

Wyszczególnienie Specification			Grupy doświadczalne / Experimental groups							
			K	-3P4	-3F4	-18P4	-18F4	-3F8	-18P8	-18F8
Wyróżniki oceny / Parameters under assessment										
pH										
S	I	x	6,23b	6,18b	6,30b	6,24b	6,22b	6,01a	6,18b	6,12a
		SD	0,17	0,07	0,14	0,07	0,14	0,14	0,10	0,14
B	I	x	6,21b	6,29b	6,09a	6,31c	6,27b	6,22b	6,21b	6,17ab
		SD	0,14	0,10	0,14	0,10	0,07	0,10	0,10	0,07
b	I	x	6,21b	6,30b	6,22b	6,17b	6,28b	6,22b	6,05a	6,25b
		SD	0,17	0,10	0,17	0,14	0,07	0,10	0,14	0,10
L K / Acid value [mg KOH/g]										
S	I	x	0,50a	0,67d	0,65c	0,60b	0,70e	1,00f	1,02g	1,09h
		SD	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00
B	I	x	0,50a	0,68c	0,69d	0,61b	0,69d	1,02f	1,00e	1,09g
		SD	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
b	I	x	0,50a	0,70c	0,70c	0,62b	0,72d	1,01e	1,04f	1,08g
		SD	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
L. Lea / Peroxide value [meq akt.O <sub>2</sub> /kg]										
S	I	x	0,01a	0,15c	0,12b	0,12b	0,10b	0,30d	0,45f	0,42e
		SD	0,00	0,03	0,04	0,04	0,00	0,05	0,05	0,04
B	I	x	0,01a	0,13bc	0,15c	0,10b	0,10b	0,31d	0,46f	0,37e
		SD	0,00	0,02	0,05	0,00	0,00	0,03	0,05	0,08

b	I	x	0,01a	0,11b	0,16c	0,12b	0,10b	0,28d	0,42e	0,40e
		SD	0,00	0,02	0,05	0,04	0,00	0,03	0,04	0,07

Objaśnienia jak w tabeli 1. i 2. / Footnotes see Table 1 and 2

Borch i Arinder [3] uważają, że chłodnicze przechowywanie produktu mięsnego stwarza ryzyko jego kontaminacji. Przechowywanie tych wyrobów przez kolejne 7 dób w chłodziarce powodowało statystycznie istotne pogorszenie jakości mikrobiologicznej szynek -18P4 i -18P8 (tab. 2). Największą liczbę drobnoustrojów w wyrobach po II etapie składowania stwierdzono w przetworach -3F4 ( $1,6 \cdot 10^4$ ) i -18P8 ( $1,9 \cdot 10^4$ ). W pozostałych wyrobach zanieczyszczenie mikrobiologiczne zawierało się w przedziale od  $1,3 \cdot 10^3$  (-18P4) do  $2,3 \cdot 10^3$  (-18F4).

Tabela 4

Zawartość wolnych azotanów(III) i azotanów(V) oraz sumy azotanów(III) i azotanów(V) w przeliczeniu na azotan(III) [ppm].

The levels of free nitrates (III), nitrates(V) and sums of nitrates(III) and nitrates(V), calculated and expressed as nitrates(III) [ppm].

Wyszczególnienie Specification		Grupy doświadczalne / Experimental groups								
		K	-3P4	-3F4	-18P4	-18F4	-3F8	-18P8	-18F8	
Wyróżniki oceny / Parameters under assessment										
Wolny azotan(III) / Free nitrate(III)										
S	I	X	53,4ab	41,8a	69,4c	42,5a	66,1bc	53,2ab	44,2a	58,2bc
		SD	6,8	13,8	16,7	17,9	9,3	13,3	13,7	16,7
B	I	X	72,1b	51,0a	68,4b	67,2b	90,8c	85,6bc	83,0bc	93,1c
		SD	9,9	25,1	18,5	14,3	18,0	10,8	17,4	12,4
b	I	X	75,7c	39,2a	79,7c	60,6b	72,1bc	65,4b	80,1c	89,7d
		SD	8,9	23,1	8,0	24,2	21,7	13,5	18,0	8,8
Azotan(V) / Nitrate(V)										
S	I	X	24,0ab	32,9b	26,2b	31,4b	23,2ab	14,3a	20,3ab	27,5b
		SD	7,7	11,3	16,5	12,8	11,8	11,8	10,1	9,4
B	I	X	19,2a	39,6b	29,6ab	29,4ab	25,1ab	23,3ab	33,0b	31,2ab
		SD	4,0	17,4	12,8	9,9	12,5	7,5	12,1	8,6
b	I	X	32,2ab	27,8a	29,4ab	43,5b	36,2ab	37,6ab	26,2a	35,1ab
		SD	4,6	12,2	6,0	19,7	18,0	17,0	13,0	25,7
Wolny azotan(III) + azotan(V) / Free nitrate(III) + nitrate(V)										
S	I	X	77,4a	74,7a	95,6b	73,9a	89,3b	67,5a	64,5a	85,7b
		SD	9,4	20,0	18,1	15,4	16,6	19,9	18,9	12,9
B	I	X	91,3a	90,6a	98,0a	96,6a	115,9b	108,9a	116,0b	124,3b
		SD	10,4	21,2	26,5	22,0	22,1	7,6	31,2	22,8
b	I	X	107,9b	67,0a	109,1b	104,1b	108,3b	103,0b	106,3b	124,8b
		SD	9,5	22,9	11,3	29,8	22,3	31,3	31,9	20,9

Pozostałe objaśnienia jak w tab. 1/ Footnotes see Tab. 1

W doświadczalnych szynkach, baleronach i boczках zarówno kontrolnych i po I etapie przechowywania (w temp.  $-3$  lub  $-18^{\circ}\text{C}$ ), jak i po dodatkowym składowaniu w chłodziarce w temp.  $3^{\circ}\text{C}$  (II etap) nie stwierdzono (w 1g przetworu) obecności: bakterii kwaszących typu mlekowego, pałeczek z grupy okrężnicy (w 0,01 g), beztlenowych laseczek zarodnikujących (w 0,01 g), gronkowców chorobotwórczych (w 1 g), oraz pałeczek z rodzaju *Salmonella* (w 25 g). Można zatem przyjąć, że doświadczalne przetwory nie stwarzały zagrożenia mikrobiologicznego [21].

W doświadczalnych przetworach sporadycznie oznaczano pleśń i drożdże. Ich obecność stwierdzono po dodatkowym przechowywaniu wędzonek w chłodziarce (II etap składowania). Stosunkowo najczęściej występowały one w wyrobach w I etapie, przechowywanych w formie przetworów finalnych w t.b.k. Prawdopodobnie było to wtórne zanieczyszczenie. Obecność pleśni stwierdzono w trzech szynkach -3F8 (II), w dwóch wędzonkach na poziomie  $1 \cdot 10^3$ , a w jednej w liczbie  $8 \cdot 10^2$  jtk w 1g, a ponadto w dwóch wyrobach -18F8 (II) na poziomie  $8 \cdot 10^2$  jtk w 1 g.

W dwóch baleronach -18F8 (II) pleśń oznaczono na poziomie  $3 \cdot 10^2$ , a w 2 innych w liczbie  $4 \cdot 10^2$  jtk w 1 g. Ponadto w baleronach -3F8 (II) stwierdzono obecność drożdży, oznaczono je w dwóch próbach na poziomie  $9 \cdot 10^2$  i w jednej wędzonce w liczbie  $4 \cdot 10^2$ , a także w wyrobach -18F4 (II) na poziomie  $1 \cdot 10^2$  jtk w 1g.

W 4 boczках, w 2 -3F8 (II) i w pozostałych grupy -18F8 (II) pleśń oznaczono na poziomie  $2 \cdot 10^3$  jtk w 1 g, podczas gdy w 2 boczках -3F4 (II) i w 2 grupy -18F4 (II) drożdże stwierdzono w ilości  $2 \cdot 10^2$  jtk w 1 g.

W doświadczalnych szynkach oznaczono 2 charakterystyczne poziomy wolnych azotanów(III), niższy (41,8–44,2 ppm) w przetworach przechowywanych w formie peklowanych półproduktów i wyższy (53,2–69,4 ppm) w wędzonkach składowanych w formie produktów finalnych oraz w próbach kontrolnych (tab. 4). W przechowywanych baleronach takiej tendencji nie odnotowano, zaobserwowano natomiast mniejszą zawartość wolnych azotanów(III) (51,0–68,4 ppm) w wędzonkach -3P4, -3F4, -18P4. Więcej wolnych azotanów(III) (od 83,0 do 93,1 ppm) oznaczono natomiast w przetworach -18F4, -3F8, -18P8 i -18F8.

W przechowywanych boczках najmniej wolnych azotanów(III) (39,2 ppm) oznaczono w wyrobach -3P4. W pozostałych boczках stwierdzono istotnie większe zawartości wolnych azotanów(III), największe były one w wyrobach -18F8, -18P8 i -3F4.

Zawartość azotanów(V), w przeliczeniu na azotan(III), w doświadczalnych przetworach była stosunkowo mała; kształtowała się ona na poziomie od 14,3 ppm (-3F8) do 32,9 ppm (-3P4) w szynkach, od 19,2 ppm (K) do 39,6 ppm (-3P4) w baleronach i od 26,2 ppm (-18P8) do 43,5 ppm (-18P4) w boczках. W miarę upływu

czasu przechowywania przetworów obserwowano zmniejszanie się poziomu wolnych azotanów(III) i wzrost zawartości azotanów(V). Takie tendencje są zgodne z danymi wcześniejszych badań własnych [22, 23, 24, 27]. Tendencji tych nie potwierdziły badania Jo i wsp. [6].

W obrębie eksperymentalnych wędzonek najmniejszą łączną zawartość wolnych azotanów(III) i azotanów(V) oznaczono w szynkach, baleronach i boczku, odpowiednio grup doświadczalnych -18P8, -3P4, -3P4. Powyższe tendencje dowiodły, że w trakcie przechowywania przetworów w formie peklowanych półproduktów proces nitrozyłowania barwników hemowych nadal postępował [26].

Największą sumaryczną zawartość wolnych azotanów(III) i azotanów(V) oznaczono w baleronach i boczku -18F8, była ona bliska wartości granicznej dopuszczonej przez przepisy sanitarne [21a].

W tłuszczu międzymięśniowym wyjściowego materiału doświadczalnego, tj. szynki, baleronów i boczku nie stwierdzono obecności nadtlenków (tab. 3). W miarę wydłużania okresu przechowywania przetworów liczba nadtlenkowa tłuszczu międzymięśniowego systematycznie zwiększała się, dynamika wzrostu jej wartości była niezależna od temperatury składowania wyrobów i stopnia ich przetworzenia. Zmiany te były statystycznie istotne, ale oznaczone wartości nadtlenków mieściły się w przedziale wartości akceptowanych przez normy [11]. Podobną dynamikę oksydacyjnych zmian tłuszczu międzymięśniowego odnotowano w szynkach przechowywanych w stanie zamrożonym [23]. Dynamika zmian liczby nadtlenkowej była podobna w obrębie tych samych grup doświadczalnych różnych sortymentów przetworów.

Zanardi i wsp. stwierdzili, że czynnikiem ograniczającym zmiany oksydacyjne przechowywanych wędlin może być m.in. azotan(III) [30].

Tan i Shelef [29] w solonym mięsie przechowywanym zarówno w warunkach chłodniczych, jak i w stanie zamrożonym stwierdzili podobne zaawansowanie zmian oksydacyjnych tłuszczu. W doświadczalnych wyrobach nie stwierdzono obecności aldehydu epihydrinowego.

Zmiany hydrolityczne tłuszczu międzymięśniowego szynki, baleronów i boczku wyrażone liczbą kwasową (LK), podobnie jak w przypadku liczby nadtlenkowej, systematycznie postępowały w miarę upływu czasu przechowywania wędzonek (tab. 3). Dynamika tych zmian była niezależna od stopnia przetworzenia magazynowanych wyrobów i podobna w przypadku poszczególnych sortymentów. Ośmiotygodniowy okres przechowywania szynki, baleronów i boczku, niezależnie od zastosowanej temperatury składowania nie powodował dyskwalifikującego zaawansowania zmian hydrolitycznych tłuszczu międzymięśniowego tych wędzonek [11]. Z badań własnych wynika, że w szynkach przechowywanych w stanie zamrożonym zmiany hydrolityczne tłuszczu były nieznaczne [23].

## Wnioski

1. W wędzonkach (szynka, baleron i boczek) przechowywanych przez 4 i 8 tygodni w niebarierowym opakowaniu pergaminowym w temperaturze bliskiej krioskopowej i w stanie zamrożonym, a następnie przez 7 dób w chłodziarce, nie stwierdzono obecności bakterii z grupy coli oraz gronkowców chorobotwórczych.
2. Ze względu na ryzyko wtórnego zanieczyszczenia wędzonek przechowywanych (w niebarierowym opakowaniu) w temperaturze bliskiej krioskopowej lub w stanie zamrożonym pleśniami i drożdżami, należy rekomendować składowanie tych przetworów w opakowaniach termokurczliwych i/lub opakowanych próżniowo, albo w kontrolowanej atmosferze.
3. Ośmiotygodniowe przechowywanie szynek, baleronów i boczku w temperaturze bliskiej krioskopowej lub w stanie zamrożonym nie powoduje dyskwalifikującego zaawansowania zmian oksydacyjnych i hydrolitycznych tłuszczu międzymięśniowego.
4. Przechowywanie baleronu i boczku w stanie zamrożonym może wiązać się z ryzykiem niebezpiecznego nagromadzenia się wolnych azotanów(III) i azotanów(V).

*Praca była finansowana ze środków KBN w latach 2001-2003.*

## Literatura

- [1] Anon.: Wpływ chłodzenia na mikroorganizmy. Mięso i Wędliny, 1995, **1**, 24-30.
- [2] Bernthal P.H., Booren A.M., Gray J. I.: Effect of reduced sodium chloride concentration and tetrasodium pyrophosphate on pH, water-holding capacity and extractable protein of prerigor and postrigor ground beef. Meat Sci., 1991, (**29**), 69-82.
- [3] Borch E., Arinder P.: Bacteriological safety issues in red meat ready-to-eat meat products, as well as control measures. Meat Sci., 2002, (**62**), 381-390.
- [4] Gandemer, G: Lipids in muscle adipose 48-th ICoMST, Rome, 2002, pp. 19-20.
- [5] Holley R. A.: Impact of slicing hygiene upon shelf life and distribution of spoilage bacteria in vacuum packaged cured meats. Food Microbiol., 1997, (**14**), 201-211.
- [6] Jo C., Ahn J.H., Son J. H., Lee J. W., Byun M. W.: Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. Food Control, 2003, (**14**), 7-12.
- [7] Kołożyn-Krajewska D.: Bezpieczeństwo mikrobiologiczne nowych grup produktów mięsnych. Mięso i Wędliny, 1998, **1**, 34-39.
- [8] Nowara M. Ocena trwałości w temperaturze bliskiej krioskopowej wędzonek powierzchniowo traktowanych substancjami bakteriostatycznymi. Praca magisterska, Kat. Technol. Surowców Zwierz., AR, Wrocław 2002.
- [9] Pikul J.: Pakowanie i przechowywanie schłodzonego mięsa w modyfikowanej atmosferze. Chłodnictwo, 2001, **10**, XXXVI, 30-34.
- [10] PN-74/A-82114. Oznaczanie zawartości azotynów i azotanów.
- [11] PN -90/A-85802. Tłuszcze zwierzęce jadalne topione. Metody badań.
- [12] PN -ISO 3960: 1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej IDT ISO 3960:1977

- [13] PN 97/A-82055-6. Oznaczanie ogólnej liczby drobnoustrojów.
- [14] PN 97/A-882055-8. Wykrywanie obecności pałeczek z rodzaju *Salmonella*.
- [15] PN 97/A-8255-16. Oznaczanie liczby drożdży i pleśni.
- [16] PN 97/A-82055-9. Wykrywanie obecności i oznaczanie liczby gronkowców chorobotwórczych.
- [17] PN 97/A-82055-12. Wykrywanie obecności beztlenowych bakterii przetrwalnikujących.
- [18] PN 97/A-82055-17.1997. Oznaczanie liczby bakterii kwasu mlekowego.
- [19] PN 97/A-82055-10. Oznaczanie bakterii z grupy coli.
- [20] PN-ISO 660;1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości IDT EN660; 1998 IDT ISO.
- [21] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności. Dz. U. 2003 r. Nr 37, poz. 326, s. 2426.
- [21a] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 17 marca 2003 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych, substancji pomagających w przetwarzaniu i warunków ich stosowania. Dz. U. 2003 r. Nr 87, poz. 805, s. 5859.
- [22] Szmańko T., Duda Z.: The fate of nitrite in uncanned cooked ham during long-term frozen storage. *Fleischwirt.*, 1982, (62), 12, 1547-1549.
- [23] Szmańko 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.
- [24] Szmańko 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.
- [25] Szmańko 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.
- [26] Szmańko T., Duda Z., Kuba J.: Changes of selected quality parameters of cured, smoked raw pork loin during storage at near cryoscopic temperature. 36th ICoMST, Cuba, 1990, pp. 819-826.
- [27] Szmańko T.: Entwicklung der Bakterienflora vakuumverpackter, gefrierlagerter Kochschinken. *Fleischwirt.*, 1992, (72), 3, 336-338.
- [28] Szmańko T.: Ocena efektywności przechowywania wędzonek w temperaturze bliskiej krioskopowej oraz w stanie zamrożonym (badania modelowe). *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Rozprawy* 1998 - 334 CLIV, s. 1-124.
- [29] Tan W., Shelef L. A.: Effects of sodium chloride and lactates on chemical and microbiological changes in refrigerated and frozen fresh ground pork. *Meat Sci.*, 2002, (62), 27-32.
- [30] Zanardi E., Ghidini S., Battaglia A., Chizzolini R.: Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausages depending on different processing conditions and different antioxidants. *Meat Sci.*, 2004, (66), 415-423.

**THE IMPACT OF LONG-TERM STORAGE OF PROCESSED MEAT PRODUCTS UNDER VARYING CONDITIONS ON THE MICROBIAL CONTAMINATION AND INTRAMUSCULAR FAT DETERIORATION**

S u m m a r y

The objective of the investigation was to evaluate the bacterial contamination and storage-induced changes in the lipids of smoked meat products stored in a non-barrier parchment package. Meat products (ham, collar, streaky bacon) have been stored as cured semi-products at a near cryoscopic temperature (-3°C) for 4 weeks and at a temperature of -18°C for 4 and 8 weeks. Additionally, the experimental material has been stored as a final product at a temperature in two different ranges (-3°C, -18°C), for 4 and 8 weeks. After the storage, semi-products were smoked and scalded. The bacterial pollution of smoked meat products was once more evaluated after the additional seven-day storage in a refrigerator (3°C). The investigation results of the meat products stored 4 and 8 weeks at a near cryoscopic temperature and under the freezing conditions do not confirm the appearance of any pathogens, no pathogens were found in those products after the additional 7 day storage in a refrigerator (3°C) either.

The eight-week storage of meat products at a cryoscopic temperature or under the freezing conditions do not cause any substantial disqualifying oxidation and hydrolytic changes in lipids.

**Key words:** meat products, storage, microbiological contamination, changes in lipids ☒

ROMAN PAWŁOWICZ, BRONISŁAW DROZDOWSKI

## **OZNACZANIE FAZY STAŁEJ W TŁUSZCZACH**

### Streszczenie

Zawartość fazy stałej jest podstawowym parametrem, który w sposób ilościowy charakteryzuje właściwości fizyczne tłuszczów stałych. Istnieje wiele metod pośrednich pozwalających określić poziom fazy stałej w tłuszczu na podstawie innych wielkości fizycznych. Oznaczona w ten sposób wielkość określana jest jako indeks fazy stałej (solid fat index – SFI). W metodzie dylatometrycznej do wyznaczania wartości SFI wykorzystuje się różnicę w objętości właściwej tłuszczu stałego i ciekłego, w metodzie densytometrycznej różnicę w gęstości tych tłuszczów, a w metodzie ultradźwiękowej różnicę w szybkości rozchodzenia się ultradźwięków w tłuszczu stałym i ciekłym. W metodzie FTIR tłuszcz analizuje się w stanie ciekłym, a indeks fazy stałej wylicza na podstawie pasm absorpcji charakterystycznych dla wybranych grup funkcyjnych, wykorzystując kalibrację wykonaną wcześniej za pomocą wzorców o znanej wartości SFI. Metodę spektrofotometryczną w zakresie światła widzialnego opracowano do oznaczania indeksu fazy stałej w oleju palmowym, a wykorzystuje się w niej różnicę w stężeniu karotenoidów w oleju ciekłym i stałym. Stosując metodę skaningowej kalorymetrii różnicowej, indeks fazy stałej oznacza się na podstawie krzywej topnienia, całkując powierzchnię pod krzywą. Spośród metod pośrednich najczęściej stosowana bywa dylatometria.

Do oznaczania zawartości fazy stałej (solid fat content – SFC) służą metody szerokopasmowego i pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego. W pierwszej z nich zawartość fazy stałej oznacza się na podstawie intensywności wąskiego sygnału rezonansowego pochodzącego od protonów znajdujących się w fazie ciekłej. W metodzie pulsacyjnego NMR próbka tłuszczu umieszczona zostaje w stałym zewnętrznym polu magnetycznym, a protony znajdujące się w tym tłuszczu, po wzbudzeniu za pomocą krótkiego impulsu elektromagnetycznego, ulegają zjawisku relaksacji. Oznaczając zawartość fazy stałej wykorzystuje się fakt, że czas relaksacji protonów w fazie stałej jest krótszy niż w fazie ciekłej. Obecnie metoda pulsacyjnego NMR jest zalecana przez normy międzynarodowe i powszechnie stosowana zarówno w laboratoriach badawczych, jak i przemysłowych.

**Słowa kluczowe:** zawartość fazy stałej, indeks fazy stałej, metody analityczne, pulsacyjny NMR, szerokopasmowy NMR, DSC.

---

*Dr inż. R. Pawłowicz, prof. dr hab. inż. B. Drozdowski, Zespół Chemii i Technologii Tłuszczów, Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, Politechnika Gdańska, ul. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk, e-mail:pawlowic@chem.pg.gda.pl*



## **Wstęp**

W zależności od przeznaczenia tłuszcze stałe powinny charakteryzować się różną plastycznością, konsystencją, formą krystaliczną czy też zakresem topnienia. Najważniejszym parametrem, który w sposób ilościowy charakteryzuje cechy użytkowe tłuszczów stałych jest zawartość fazy stałej w poszczególnych zakresach temperatury. Do oznaczania tej wielkości były lub są stosowane różne metody analityczne. Niektóre z nich, np. metody pośrednie, stosowano do wyznaczania indeksu fazy stałej (solid fat index – SFI), natomiast obecnie stosowane metody pozwalają bezpośrednio oznaczać w tłuszczach zawartość fazy stałej (solid fat content – SFC).

Celem niniejszej pracy było dokonanie przeglądu metod oznaczania indeksu fazy stałej oraz zawartości fazy stałej w tłuszczach. Obok metody pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego, obecnie powszechnie stosowanej i zalecanej przez normy międzynarodowe, przedstawiono też inne metody analityczne które stosowano lub stosuje się do tego typu analiz.

## **Oznaczanie indeksu fazy stałej (SFI)**

### *Dylatometria*

Tradycyjną i najczęściej stosowaną metodą oznaczania fazy stałej była dylatometria [1]. W metodzie tej wykorzystuje się zjawisko dylatacji, czyli termicznej rozszerzalności tłuszczu. Wzrost objętości spowodowany jest zarówno rozszerzalnością tłuszczu stałego na skutek wzrostu temperatury, jak również zmianą stanu skupienia tłuszczu (topnienie), przy czym to drugie zjawisko ma tu znaczenie decydujące [6]. Pomiar objętości wykonuje się w coraz wyższej temperaturze, również w takiej, gdy tłuszcz jest całkowicie ciekły. Na podstawie zmian objętości w funkcji temperatury można wyliczyć jaka część tłuszczu w danej temperaturze występuje w postaci stałej. Wynik podaje się w procentach, jako indeks fazy stałej (SFI).

### *Metoda densytometryczna*

Zjawisko rozszerzalności tłuszczu wykorzystane zostało również w metodzie densytometrycznej [12]. Podczas gdy w metodzie dylatometrycznej mierzy się wzrost objętości spowodowany wzrostem temperatury, to w metodzie densytometrycznej mierzy się zmiany gęstości tłuszczu, wynikające ze wzrostu temperatury. W metodzie tej tłuszcz po schłodzeniu jest w sposób ciągły ogrzewany ze stałą szybkością i mierzona jest jego gęstość.

### *Metoda ultradźwiękowa*

W tej metodzie [7] wykorzystuje się fakt, że inna jest szybkość rozchodzenia się ultradźwięków w tłuszczu stałym i tłuszczu ciekłym. Dlatego szybkość ta ulega zmianom, gdy następuje topnienie lub krystalizacja tłuszczu, czyli zmienia się zawartość tłuszczu stałego. Autorzy podają, że otrzymano bardzo dobrą zgodność wyników uzyskanych metodą dylatometryczną i ultradźwiękową [7]. Aparat do pomiaru fazy stałej, wykorzystujący metodę ultradźwiękową, odpowiednio zaadaptowany może być wykorzystany do pomiarów *on-line* [5]. Najnowsze badania [14] wykazały jednak, że na szybkość rozchodzenia się ultradźwięków wpływa nie tylko ilość tłuszczu stałego, ale też jego formy krystaliczne, co może w sposób znaczący wpływać na otrzymany wynik.

### *Metody spektrofotometryczne*

Do oznaczania indeksu fazy stałej można też wykorzystać spektrofotometrię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) [18]. Zawartość fazy stałej w badanym tłuszczu oznacza się na podstawie pasm absorpcji charakterystycznych dla wybranych grup funkcyjnych, m.in. metylenowych, wiązań podwójnych *cis* i *trans* oraz wiązań estrowych. Przeprowadzając kalibrację aparatu przy użyciu wzorców o znanej wartości SFI otrzymano bardzo dobrą korelację pomiędzy wynikami otrzymanymi metodą FTIR i dylatometryczną. Autorzy twierdzą, że jeśli do kalibracji zastosuje się wzorce o znanej zawartości fazy stałej (SFC), należy się spodziewać również dobrej korelacji wyników między wartościami otrzymanymi metodą NMR i FTIR [18].

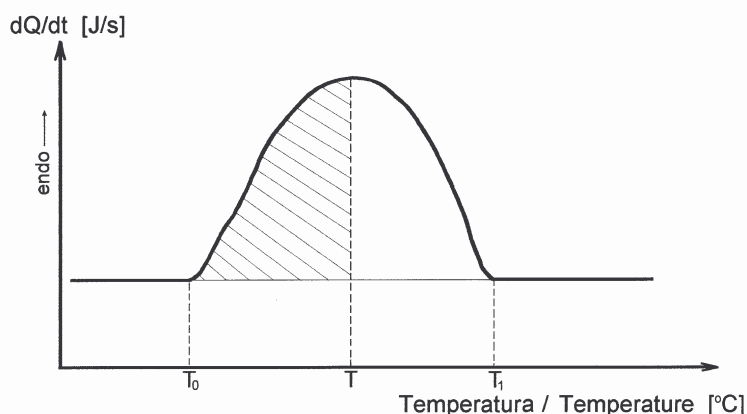
Malezyjscy badacze [13] zaproponowali do oznaczania zawartości fazy stałej w surowym oleju palmowym metodę spektrofotometryczną w zakresie światła widzialnego. W metodzie tej wykorzystuje się różnicę w stężeniu karotenoidów we frakcji ciekłej i stałej oleju palmowego. Zakłada się, że w częściowo wykrystalizowanym oleju palmowym barwniki karotenoidowe pozostają w fazie ciekłej. Pomiar absorpcji promieniowania w wydzielonej (drogą filtracji lub wirowania) frakcji ciekłej oraz w całym oleju po stopieniu pozwala wyznaczyć wartość SFI. Wyniki otrzymane w temp. poniżej 15°C były niższe niż otrzymane metodą szerokopasmowego NMR. Powyżej tej temperatury wyniki były zbieżne [13].

### *Skaningowa kalorymetria różnicowa*

Do wyznaczania indeksu fazy stałej często stosowano metodę skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) [3, 4, 10, 11, 20]. W tym celu wykorzystuje się krzywe topnienia analizowanych tłuszczów. Taką przykładową krzywą przedstawiono na rys. 1.

Wykorzystując dane eksperymentalne z analiz DSC, różni autorzy proponowali odmienne metody wyliczania wartości SFI. Lambelet i Raemy [10] przyjęli, że powierzchnia pod krzywą w zakresie temperatur  $T_0T_1$  odpowiada ilości ciepła

potrzebnego do stopienia całego tłuszczu. W temp.  $T$  stopiona jest część tłuszczu, której odpowiada powierzchnia w zakresie  $T_0T$ , natomiast powierzchnia w zakresie  $TT_1$  odpowiada tłuszczowi, który w temp.  $T$  jest jeszcze stały. Na tej podstawie wylicza się, jaka część tłuszczu jest stała w temp.  $T$ , a więc wartość SFI w tej temperaturze. W omawianej metodzie obliczeniowej zakłada się, że w temp.  $T_0$  zawartość fazy stałej wynosi 100%, a w temp.  $T_1 = 0%$  [10].



Rys. 1. Krzywa topnienia tłuszczu otrzymana metodą DSC [10].

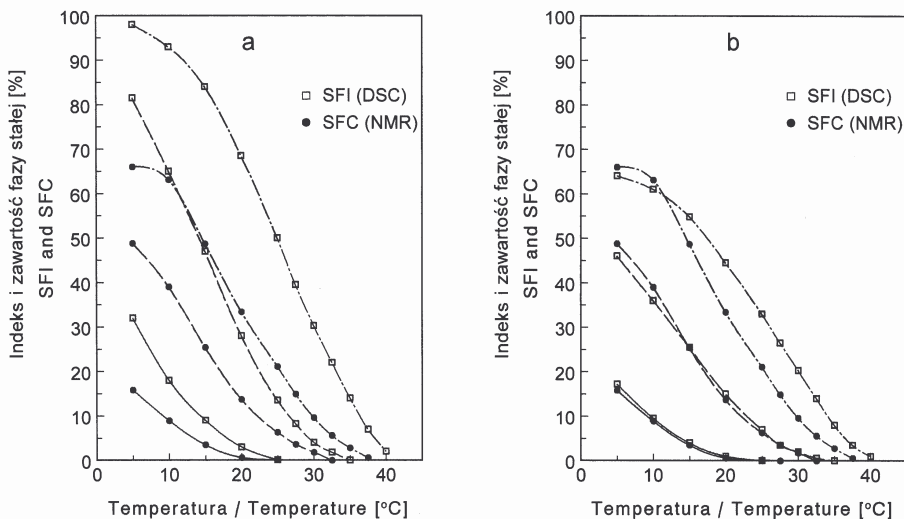
Fig. 1. DSC melting curve [10].

Inną metodę wyliczania wartości SFI na podstawie krzywych topnienia przyjęli Bentz i Breidenbach [3]. Założyli oni, że średnie ciepło topnienia tłuszczów wynosi 35 cal/g (146,6 J/g). Wartość SFI w temp.  $T$  obliczano dzieląc ciepło odpowiadające powierzchni  $TT_1$  przez podaną wyżej średnią wartość ciepła topnienia, natomiast w temp.  $T_0$  dzieląc przez tę wartość ciepło odpowiadające całej powierzchni pod krzywą ( $T_0T_1$ ). Przy tej metodzie obliczeniowej otrzymuje się wartość SFI, która w temp.  $T_0$  jest z reguły niższa od 100%. Należy tu zaznaczyć, że żadna z obu wyżej omówionych metod obliczeniowych nie uwzględnia faktu, że triacyloglicerole obecne w badanym tłuszczu mogą charakteryzować się różnymi wartościami ciepła topnienia [3, 10].

Na rys. 2. przedstawiono wartości SFI otrzymane metodą DSC przy zastosowaniu obu metod obliczeniowych oraz porównanie ich z zawartością fazy stałej wyznaczoną metodą pulsacyjnego NMR [15].

Wyniki przedstawione na rys. 2. dowodzą, że wartości SFI wyliczone metodą Lambeleta-Raemy'ego są znacznie wyższe niż zawartości fazy stałej oznaczone metodą NMR. Stosując metodę Bentza-Breidenbach, w przypadku tłuszczów mniej uwodornionych (wyższe LJ) otrzymano wartości SFI identyczne z wartościami SFC. Różnice powstające w przypadku tłuszczów o niższych liczbach jodowych wynikają z

pojawiania się w tłuszczu nasyconych TAG, posiadających wyższe ciepło topnienia niż przyjęte do obliczeń (35 cal/g) [3].



Rys. 2. Porównanie wartości SFI (metoda DSC) oraz SFC (metoda NMR) uwodornionego oleju rzepakowego. Liczba jodowa: 85 (—), 75 (---) i 70 (- · - · -) jednostek [15].  
Obliczenia SFI wg Lambeleta-Raemy'ego (a) oraz Bentza-Breidenbach (b).

Fig. 2. Comparison of SFI (DSC method) and SFC (NMR method) values of the hydrogenated rapeseed oil. Iodine value: 85 (—), 75 (---) and 70 (- · - · -) [15].

Calculations of the SFI values according to Lambelet-Raemy (a) and Bentz-Breidenbach (b).

Metoda kalorymetrii różnicowej jest metodą dynamiczną, to znaczy, że w czasie analizy w sposób ciągły zmienia się temperatura. W przypadku tłuszczów w trakcie ogrzewania, oprócz topnienia (proces endotermiczny) mogą zachodzić przemiany polimorficzne (powstawanie trwalszych form krystalicznych), które są procesami egzotermicznymi. Otrzymana krzywa jest wówczas wypadkową obu zachodzących procesów, a wyliczenie wartości SFI jest w takich przypadkach niemożliwe.

### Oznaczanie zawartości fazy stałej (SFC)

#### Magnetyczny rezonans jądrowy (NMR)

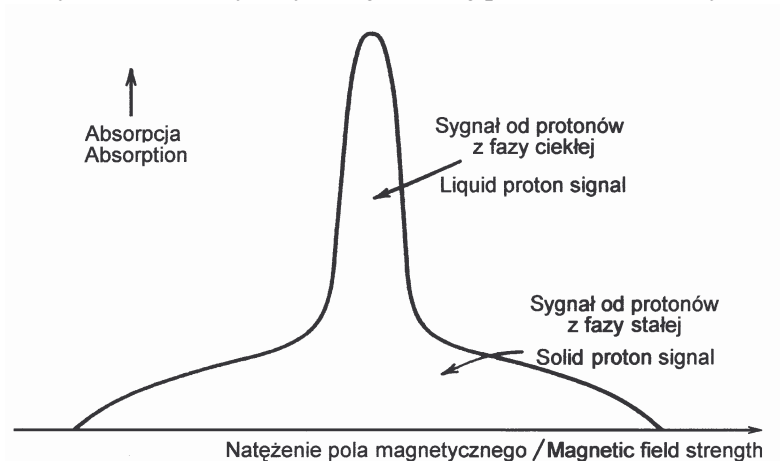
Do oznaczania zawartości fazy stałej (SFC) w tłuszczach stosuje się metody wykorzystujące niskorozdzielczy magnetyczny rezonans jądrowy (metoda szerokopasmowa i pulsacyjna).

Pierwszy aparat do szerokopasmowego NMR powstał w 1968 r. (Newport Instruments), a wkrótce potem firma Bruker wyprodukowała spektrometr do

pulsacyjnego NMR [19]. Metoda pulsacyjnego NMR, m.in. ze względu na znacznie większą czułość [17], uznawana jest za lepszą niż metoda szerokopasmowa, a normy międzynarodowe zalecają ją do oznaczania zawartości fazy stałej [2, 8, 9]. Metoda ta jest również przyjęta do stosowania w polskiej normie PN-EN ISO 8292 [16].

W obu powyższych metodach następuje rozróżnienie protonów znajdujących się w cieczy i w fazie stałej. Dzięki temu możliwe jest oznaczenie, jaka część tłuszczu znajduje się w fazie stałej.

W przypadku *szerokopasmowego NMR* wykorzystuje się fakt, że sygnał rezonansowy pochodzący od protonów fazy ciekłej jest wąski (ok. 0,1 Gs) i wysoki, natomiast pochodzący od protonów fazy stałej jest szeroki (ok. 10 Gs) i płaski. Sygnał taki pochodzący od mieszaniny fazy stałej i ciekłej przedstawiono na rys. 3.



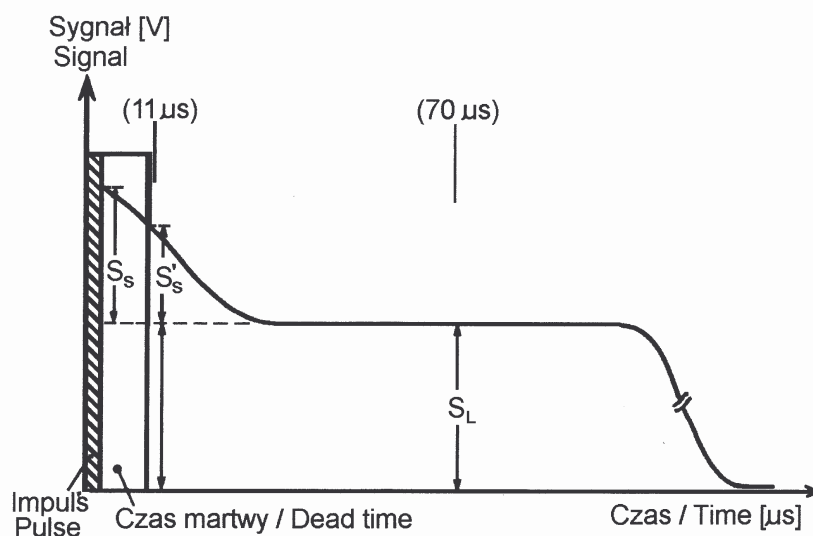
Rys. 3. Krzywa absorpcji mieszaniny fazy stałej i ciekłej w szerokopasmowym NMR [17].

Fig. 3. Wide-line NMR curve of a liquid and solid fat mixture [17].

Taki kształt sygnału wynika z faktu, że na każdy proton działa nie tylko zewnętrzne pole magnetyczne, ale również pola pochodzące od sąsiednich protonów i elektronów. W przypadku cieczy ciągły ruch cząsteczek powoduje, że ich ustawienie jest losowe, w efekcie czego niweluje się wpływ pola pochodzącego od sąsiednich protonów, a natężenie pola wokół pojedynczego protonu jest w przybliżeniu równe natężeniu zewnętrznego pola magnetycznego. W ciele stałym atomy znajdują się w ustalonych pozycjach sieci krystalicznej, przez co wpływają na zmianę lokalnego pola magnetycznego. Pole poszczególnych protonów może być zatem różne i przez to może powodować przesunięcie ich częstości rezonansowej, co w efekcie przejawia się szerokim i płaskim sygnałem.

Na podstawie pomiaru wielkości sygnału pochodzącego od fazy ciekłej w danej temperaturze oraz sygnału w temperaturze, w której próbka jest całkowicie ciekła, można oznaczyć procentową zawartość fazy ciekłej, a na tej podstawie fazy stałej.

W metodzie *pulsacyjnego NMR* (pNMR) próbkę umieszczoną w zewnętrznym stałym polu magnetycznym poddaje się działaniu krótkiego impulsu elektromagnetycznego o częstotliwości radiowej. Impuls ten powoduje wzbudzenie protonów, które w efekcie indukują sygnał w cewce odbiorczej aparatu. Maksymalną wartość tego sygnału uzyskuje się wówczas, gdy kąt pomiędzy stałym polem magnetycznym a polem wzbudzającym wynosi  $90^\circ$ . Po zaniku impulsu protony ze stanu wzbudzonego powracają do stanu podstawowego. Jest to tzw. proces relaksacji, zaś szybkość z jaką protony powracają do stanu podstawowego jest określana przez czas relaksacji. Protony w fazie stałej posiadają krótszy czas relaksacji od protonów fazy ciekłej. Jest to następstwem mniejszych odległości między tymi protonami i szybszej wymiany energii. W fazie ciekłej odległości między protonami są większe, ich ruchliwość także, zatem czas relaksacji wydłuża się. Przebieg zaindukowanego sygnału w czasie został przedstawiony na rys. 4.



Rys. 4. Sygnał pochodzący od mieszaniny tłuszczu stałego i ciekłego w metodzie pNMR [19].

Fig. 4. Pulsed NMR curve of a liquid and solid fat mixture [19].

Wartość sygnału tuż po impulsie (w czasie  $t_0$ ) jest proporcjonalna do całkowitej liczby protonów w tłuszczu (w fazie ciekłej i stałej), natomiast po upływie  $70 \mu\text{s}$  sygnał pochodzi już tylko od protonów fazy ciekłej. Impuls promieniowania radiowego powoduje, że pomiar wielkości sygnału w czasie  $t_0$  jest niemożliwy. Pomiaru dokonuje się zatem po upływie tzw. czasu martwego ( $t_m$ ), po około  $11 \mu\text{s}$ . Współczynnik

korekcyjny  $f$ , wyznaczany w czasie kalibracji aparatu, umożliwia skorygowanie otrzymanej wartości do czasu  $t_0$ . Wartość tego współczynnika wynosi około 1,4.

Znając wielkości sygnału po 11 i 70  $\mu\text{s}$  oraz współczynnik korekcyjny  $f$  można obliczyć zawartość fazy stałej (SFC) z następującego równania:

$$\text{SFC} = fS_S' / (fS_S' + S_L) \cdot 100 [\%]$$

gdzie:  $S_L$  – wartość sygnału po 70  $\mu\text{s}$ , pochodząca od protonów fazy ciekłej,

$S_S'$  – różnica wartości sygnałów po 11  $\mu\text{s}$  i 70  $\mu\text{s}$ ,

$fS_S' = S_S$  – sygnał pochodzący od protonów fazy stałej.

Przedstawiona powyżej metoda pomiaru jest tzw. metodą bezpośrednią. Oznaczając zawartość fazy stałej można też wykonać pomiar metodą pośrednią. W tym przypadku korzysta się tylko z wartości sygnału po 70  $\mu\text{s}$ , tzn. pochodzącego od protonów fazy ciekłej. Konieczne jest jednak dwukrotne przeprowadzenie pomiaru tej samej próbki. Pierwszy pomiar prowadzi się w temperaturze, w której chcemy oznaczyć zawartość fazy stałej, natomiast drugi w temperaturze, w której tłuszcz jest całkowicie stopiony. Wielkość sygnału z pierwszego pomiaru jest proporcjonalna do liczby protonów w fazie ciekłej, a z drugiego do całkowitej liczby protonów w tłuszczu. Sposób wyliczenia zawartości fazy stałej w tej metodzie jest zatem podobny jak w metodzie szerokopasmowego NMR.

Stosowanie różnych metod analitycznych do oznaczania fazy stałej powoduje, że otrzymane wyniki mogą znacznie różnić się między sobą. Ponadto podkreślić należy, że oprócz stosowanej metody, bardzo duży wpływ na otrzymany wynik ma również sposób przygotowania próbki tłuszczu przed pomiarem. Podając więc zawartość fazy stałej w tłuszczu należy podać nie tylko jaką metodą analityczną wykonano pomiar, ale też w jaki sposób przygotowywano próbkę tłuszczu przed oznaczeniem.

### Podsumowanie

Spośród przedstawionych metod analitycznych najlepszą wydaje się być metoda pulsacyjnego NMR. W przypadku pośrednich metod analitycznych na otrzymany wynik wpływa nie tylko ilość fazy stałej, ale także inne właściwości analizowanego tłuszczu, np. typ formy krystalicznej czy rodzaj TAG obecnych w tłuszczu. Prawidłowe przeprowadzenie pomiaru metodą pNMR pozwala uniezależnić wynik od tych właściwości. Poza tym, metoda pNMR jest metodą powtarzalną, wykonanie oznaczenia jest bardzo proste, trwa zaledwie kilka sekund i nie wymaga wykwalifikowanego personelu. Obecnie jest to też metoda najczęściej stosowana. Jej wadą jest natomiast wysoki koszt aparatury.

*Praca finansowana przez KBN w ramach grantu 6 P06T 071 21*

### Literatura

- [1] AOCS Official Methods: Cd 10-57, Solid fat index. Dilatometric method, 1997.
- [2] AOCS Official Methods: Cd 16b-93, Solid fat content (SFC) by low resolution nuclear magnetic resonance - The direct method, 1999.
- [3] Bentz A.P., Breidenbach B.G.: Evaluation of the differential scanning calorimetric method for fat solids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1969, **46** (2), 60-63.
- [4] Bornaz S., Fanni J., Parmentier M.: Limit of the solid fat content modification of butter. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1994, **71** (12), 1373-1380.
- [5] Cygnus Instruments Ltd.: Cygnus UVM1 emulsion, oil and solution analyser. Dorchester 1993.
- [6] Haighton A.J., Vermaas L.F., den Hollander C.: Determination of the solid-liquid ratio of fats by wide-line NMR. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1971, **48** (1), 7-10.
- [7] Hussin A.B.B.H., Povey M.J.W.: A study of dilatation and acoustic propagation in solidifying fats and oils: II. Experimental. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1984, **61** (3), 560-564.
- [8] ISO 8292: Animal and vegetable fats and oils. Determination of solid fat content. Pulsed nuclear magnetic resonance method. 1991.
- [9] IUPAC Method 2.150: Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives, 7<sup>th</sup> edn, Blackwell Scientific Publications, Oxford 1987.
- [10] Lambelet P., Raemy A.: Iso-solid diagrams of fat blends from thermal analysis data. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1983, **60** (4), 845-847.
- [11] Miller W.J., Koestner W.H., Freeberg F.E.: The measurement of fatty solids by differential scanning calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1969, **46** (7), 341-343.
- [12] Mills B.L., van de Voort F.R.: Determination of solid fat index of fats and oils using the Anton Paar density meter. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1981, **58** (5), 618-621.
- [13] Ong A.S.H., Boey P.L., Ng C.M.: Spectrophotometric method for determination of solid fat content of palm oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1982, **59** (5), 223-226.
- [14] Pal Singh A., McClements D.J., Marangoni A.G.: Comparison of ultrasonic and pulsed NMR techniques for determination of solid fat content. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2002, **79** (5), 431-437.
- [15] Pawłowicz R.: Dane niepublikowane.
- [16] PN-EN ISO 8292:1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości fazy stałej. Metoda pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego.
- [17] Sleeter R.T.: Instrumental analysis for quality control and quality assurance. In: *Bailey's industrial oil and fat products*, vol. 3, ed. T.H. Applewhite. John Wiley&Sons, New York. 1985, p. 203.
- [18] van de Voort F.R., Memon K.P., Sedman J., Ismail A.A.: Determination of solid fat index by Fourier transform infrared spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1996, **73** (4), 411-416.
- [19] Waddington D.: Some applications of wide-line nuclear magnetic resonance in the oils and fats industry. In: *Fats and oils: Chemistry and technology*, ed. R.J. Hamilton and A. Bahti. Applied Science Publishers Ltd, London. 1980, p.25.
- [20] Walker R.C., Bosin W.A.: Comparison of SFI, DSC and NMR methods for determining solid-liquid ratios in fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1971, **48** (2), 50-53.

### THE DETERMINATION OF SOLID FAT CONTENT IN FATS

#### S u m m a r y



A solid fat content (SFC) is the basic parameter, which quantitatively characterizes physical properties of solid fats. There are many indirect methods allowing for the determination of the level of solids in fats based on some other physical quantities. The quantity determined in this way is expressed as solid fat index (SFI). The difference between the specific volumes of liquid and solid fat is used to determine the SFI value using the dilatometric method, whereas the difference in the rate of sound propagation in liquid and solid fats is applied in the ultrasonic method. In the FTIR method, fat is analyzed in liquid state, and the SFI is calculated on the basis on the absorption bands characteristic for selected functional groups that were earlier determined using standard samples with the known SFI values; also, the calibration is used. The spectrophotometric method in the visible light range was developed for the purposes of determination of solid fat index in palm oil; this method utilizes differences between the concentration values of carotenoids in liquid and in solid fat. Owing to the DSC method applied, it is possible to determine a solid fat index based on the melting curves by calculating the area below the curve. Dilatometry is the most frequently used indirect method.

Wide-line and pulsed NMR methods are used to determine solid fat contents (SFC). In the wide-line method, the SFC value is determined based on the intensity of a narrow resonance signal coming from protons existing in liquid fat. In the pulsed NMR method, a fat sample is inserted in the constant external magnetic field and protons in the fat, as soon as they are excited by a short electromagnetic impulse, undergo a phenomenon known as relaxation. It is possible to determine the SFC value because the relaxation time of protons in solid fat is shorter than in liquid fat. The pulsed NMR method is currently recommended by international standards and it is commonly used both in research and industrial laboratories.

**Key words:** solid fat content, solid fat index, analytical methods, pulsed NMR, wide-line NMR, DSC ☒

ROMAN PAWŁOWICZ

**WPLYW PROCEDURY TERMOSTATOWANIA ORAZ SPOSOBU  
PRZEPROWADZENIA POMIARU NA WYNIKI OCENY  
ZAWARTOŚCI FAZY STAŁEJ W WYBRANYCH TŁUSZCZACH**

Streszczenie

Pulsacyjny magnetyczny rezonans jądrowy jest metodą zalecaną przez normy międzynarodowe do oznaczania zawartości fazy stałej w tłuszczach. Przed wykonaniem tego oznaczenia tłuszcze poddaje się termostatowaniu. Procedury termostatowania uwzględniają różnice w sposobie krystalizacji tłuszczów. Czynnikiem ten był podstawą podziału tłuszczów na grupy. Zgodnie z normą ISO 8292, dotyczącą oznaczania zawartości fazy stałej, tłuszcze podzielono na cztery grupy: (1) masło kakaowe i jego równoważniki, (2) olej palmowy, (3) łój i jego frakcje oraz (4) inne tłuszcze. W innych normach (IUPAC, AOCS, PORIM) tłuszcze podzielono na dwie grupy: (1) masło kakaowe i jego równoważniki oraz (2) inne tłuszcze. W przypadku oleju palmowego oraz łoju istnieją zatem dwie różne procedury termostatowania. Norma ISO zaleca wielogodzinne termostatowanie tych tłuszczów, natomiast pozostałe normy tylko jednogodzinne chłodzenie w temp. 0°C. W niniejszej pracy oznaczono zawartość fazy stałej w tłuszczach należących, zgodnie z normą ISO, do czterech różnych grup, tj. w tłuszczu kakaowym, oleju palmowym, łoju wołowym oraz tłuszczu mlecznym. W każdym z badanych tłuszczów zawartość fazy stałej oznaczono po zastosowaniu jednogodzinnego chłodzenia oraz po wielogodzinnym termostatowaniu. Tłuszcz kakaowy, olej palmowy oraz łój termostatowano zgodnie z normą ISO. Do tłuszczu mlecznego zastosowano metodę jak do tłuszczu kakaowego. Wielogodzinne termostatowanie tłuszczu ma na celu przeprowadzenie go w trwałą formę krystaliczną. W przypadku tłuszczów, w których taka przemiana zachodzi, tzn. tłuszczu kakaowego, oleju palmowego oraz łoju, temperowanie powoduje wzrost zawartości fazy stałej. W tłuszczach niewymagających temperowania, np. w tłuszczu mlecznym, etap ten powoduje obniżenie zawartości fazy stałej poniżej temperatury, w której tłuszcz był stabilizowany. Zgodnie z normą ISO, oznaczając zawartość fazy stałej, wykonuje się pomiar równoległy. Niektóre normy (IUPAC, PORIM) przewidują również możliwość wykonania pomiarów szeregowych. Gdy zastosowana procedura nie jest odpowiednia dla danego tłuszczu, tzn. nie umożliwi przeprowadzenia tłuszczu w trwałą formę krystaliczną, wówczas stosując pomiar szeregowy otrzymuje się wyższe wyniki zawartości fazy stałej. Spowodowane to jest zachodzeniem przemian polimorficznych w trakcie termostatowania badanego tłuszczu w kolejnej, coraz wyższej temperaturze. W przypadku zastosowania prawidłowej procedury pomiar równoległy i szeregowy daje takie same wyniki.

---

*Dr inż. R. Pawłowicz, Zespół Chemii i Technologii Tłuszczów, Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, Politechnika Gdańska, ul. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk,  
e-mail:pawlowic@chem.pg.gda.pl*

**Słowa kluczowe:** zawartość fazy stałej, pulsacyjny magnetyczny rezonans jądrowy, termostatowanie tłuszczów, masło kakaowe, olej palmowy, łój wołowy, tłuszcz mleczny.

## Wstęp

Najważniejszym parametrem, który w sposób ilościowy charakteryzuje cechy użytkowe tłuszczów stałych jest zawartość fazy stałej. Wcześniej, stosując metody pośrednie, mierzono tzw. indeks fazy stałej (SFI – solid fat index). Tego typu oznaczenie wykonywano stosując metody: dylatometryczną [12], densytometryczną [14], ultradźwiękową [9], metody spektrofotometryczne [15, 17] i skaningową kalorymetrię różnicową [6, 13]. Obecnie, zgodnie z normą ISO, do oznaczania zawartości fazy stałej w tłuszczach (SFC – solid fat content) stosuje się metodę pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego [10].

Wynik indeksu lub zawartości fazy stałej zależy z jednej strony od zastosowanej metody analitycznej, a z drugiej od sposobu termostatowania próbki tłuszczu przed pomiarem. Procedury termostatowania zostały ściśle określone jedynie w przypadku metody dylatometrycznej [1] oraz metod NMR [4, 10, 11, 16]. W przypadku pozostałych metod analitycznych korzystano z ww. procedur lub przyjmowano specyficzne sposoby termostatowania.

Spośród wymienionych metod analitycznych jedynie metoda FTIR nie wymaga termostatowania tłuszczu przed pomiarem, ponieważ próbkę analizuje się w postaci stopionej. Kalibrując aparat należy jednak oznaczyć wartość SFI (dylatometria) lub wartość SFC (NMR) we wzorcach, poddanych odpowiednim procedurom termostatowania [17].

Norma dot. oznaczania SFI metodą dylatometryczną [1] zaleca procedurę przygotowania tłuszczu składającą się z następujących etapów: (1) stopienie w temp. 80°C, (2) termostatowanie 15 min w temp. 0°C, (3) termostatowanie 30 min w temp. 26,7°C, (4) kolejno 15 min w temp. 0°C, (5) 30 min w najniższej temp. pomiaru i wykonanie pomiaru, (6) następne termostatowanie 30 min w kolejnej temperaturze pomiaru i wykonanie pomiaru, ... itd.

Niektórzy autorzy taką samą procedurę stosowali przygotowując tłuszcze do oznaczania zawartości fazy stałej metodą pulsacyjnego NMR [8].

W metodzie ultradźwiękowej stosowano procedurę termostatowania charakterystyczną dla dylatometrii [9]. W metodzie densytometrycznej [14] próbka była tylko schłodzona i następnie ogrzewana ze stałą szybkością. Mimo odmiennego sposobu przygotowania próbek stwierdzono dobrą korelację metody densytometrycznej z dylatometryczną [14]. W metodzie spektrofotometrycznej [15] próbki oleju palmowego termostatowano jak w metodzie NMR [16] lub stosowano zmodyfikowaną metodę z chłodzeniem do -20°C [15]. W przypadku analiz metodą

DSC również stosowano różne procedury, np. tłuszcz termostatowano jak w dylatometrii [5] albo stosowano tylko głębokie schłodzenie do  $-30^{\circ}\text{C}$ , a następnie ogrzewanie ze stałą szybkością [13].

Największą liczbę procedur termostatowania próbek przed oznaczeniem zawartości fazy stałej opracowano w przypadku metody NMR. W zdecydowanej większości z nich uwzględniono fakt, że tłuszcze różnią się sposobem krystalizacji, w związku z tym wymagają odmiennych warunków (temperatury i czasu) termostatowania, które pozwoliłyby na uzyskanie odpowiedniej formy krystalicznej. Procedury przygotowania próbek przed oznaczeniem zawartości fazy stałej metodą NMR przedstawiono w tab. 1.

Pierwsza norma AOCS (American Oil Chemists' Society) na oznaczanie zawartości fazy stałej metodą NMR (Cd 16-81) była wielokrotnie aktualizowana. Jeszcze w wersji z 1997 r. zalecała ona stosowanie do wszystkich tłuszczów takiej samej procedury [3]. W wersji z 1999 r. wprowadzono już zasadnicze zmiany [2]. Tłuszcze zostały podzielone na dwie grupy, którym przypisano odmienne procedury, podobnie jak w innych normach [11, 16]. Norma ta opisuje pośrednią metodę pomiaru [2]. Nowsza metoda AOCS (Cd 16b-93 w wersji z 1999 r.), przy stosowaniu takich samych procedur termostatowania, zaleca metodę bezpośrednią [4].

W metodach opracowanych przez IUPAC i PORIM (Palm Oil Research Institute of Malaysia), podobnie jak w aktualnych normach AOCS, tłuszcze podzielone są na dwie grupy. Jedynie w normie ISO 8292 tłuszcze zostały podzielone na cztery grupy. Z grupy tłuszczów, które wg normy IUPAC nie wymagają termostatowania wyodrębniono dwa dodatkowe tłuszcze (olej palmowy oraz łój i jego frakcje), które również powinny być stabilizowane.

Przedstawione powyżej procedury przygotowania próbek są długotrwałe i dlatego nie mogą być stosowane do badania tłuszczów w trakcie procesów technologicznych, np. uwodornienia. W celu znacznego skrócenia czasu analizy próbuje się stosować metody przyspieszone, np. z zastosowaniem szybkiego schłodzenia tłuszczu przy użyciu ciekłego azotu [7]. Należy jednak podkreślić, że otrzymane w ten sposób zawartości fazy stałej mogą się różnić od otrzymanych z zastosowaniem procedur standardowych, co trzeba uwzględnić porównując otrzymane wyniki. Ponadto metody skrócone wydają się być nieprzydatne do analizowania tłuszczów wymagających termoperowania, gdyż jego brak uniemożliwia powstawanie odpowiedniej formy krystalicznej.

Celem pracy było określenie wpływu: sposobu przygotowania próbek na zawartość fazy stałej w tłuszczach wymagających odmiennych procedur termostatowania oraz metody pomiaru na otrzymywane wyniki.

Tabela 1

Procedury przygotowania tłuszczów przed oznaczaniem zawartości fazy stałej.  
Fat preparation procedures before solid fat contents are determined

AOCS Cd 16-81 (wersja z 1997 r. / version of 1997) [3]			
1. 70°C – stopienie/ melting		5. 26,7°C – 30 min	
2. 60°C – 30 min		6. 0°C – 15 min	
3. 26,7°C – 15 min		7. t.p.* – 30 min	
4. 0°C – 15 min			
Tłuszcze niewymagające stabilizacji Fats not requiring stabilization		Tłuszcze wymagające długiej stabilizacji (masło kakaowe i jego równoważniki) Fats requiring long stabilization (cocoa butter and CBE)	
IUPAC 2.150a [11]		IUPAC 2.150b [11]	
1. 80°C – stopienie/ melting		1. 80°C – stopienie/ melting	
2. 60°C – 5 min		2. 60°C – 5 min	
3. 0°C – 60 min		3. 0°C – 0 min	
4. t. p.* – 30-35 min		4. 26°C – 40 godz.	
		5. 0°C – 90 min	
		6. t.p.* – 60-65 min	
AOCS Cd 16-81 (wersja z 1999 r. / version of 1999) [2]			
1. 100°C – stopienie/ melting		1. 100°C – stopienie/ melting	
2,3,4 jak IUPAC 2.150a/ as IUPAC 2.150a		2,3,4,5,6 jak w IUPAC 2.150b/ as IUPAC 2.150b	
AOCS Cd 16b-93 (wersja z 1999 r. / version of 1999) [4]			
1. 100°C – stopienie i 15 min/melting and 15 min		1. 100°C – stopienie i 15 min/ melting and 15 min	
2, 3, 4 jak IUPAC 2.150a/ as IUPAC 2.150a		2, 3, 4, 5, 6 jak w IUPAC 2.150b/ as IUPAC 2.150b	
PORIM methods p 4.9 (1995) [16]			
1. 70°C – 30 min		1. 70°C – 30 min	4. 0°C – 90 min
2. 0°C – 90 min		2. 0°C – 90 min	5. t.p.* – 60 min
3. t.p.* – 30 min		3. 26°C – 40 godz.	
ISO 8292 [10]			
p.1 tłuszcze nie ujęte w p.2-4 fat not included in p. 2-4	p.2 łój i frakcje łoju tallow and its fractions	p.3 olej palmowy palm oil	p.4 masło kakaowe i jego równoważniki cocoa butter and CBE

1. 80°C – stopienie / melting	1. 80°C – stopienie melting	1. 80°C – stopienie / melting	1. 80°C – stopienie / melting
2. 60°C – 5 min	2. 60°C – 15 min	2. 60°C – 5 min	2. 60°C – 5 min
3. 0°C – 60 min	3. 0°C – 24 h	3. 10°C – 16 godz.	3. 0°C – 90 min
4. t. p.* – 30-35 min	4. t. p.* – 30 min	4. t. p.* – 30 min	4. 26°C – 40 godz.
			5. 0°C – 90 min
			6. t.p.* – 60-65 min

\*- temperatura pomiaru / measurement temperature.

### Materiał i metody badań

W pracy badano tłuszcze należące do czterech różnych grup i wymagające odmiennych sposobów termostatowania: masło kakaowe (Cargill Foods Company), rafinowany olej palmowy (Zakłady Tłuszczowe „Bielmar” Sp. z o.o.), łój wołowy (wytopiony w laboratorium ze świeżej tkanki tłuszczowej) oraz tłuszcz mleczny (Mlekovita, Wysokie Mazowieckie). Zawartość fazy stałej w badanych tłuszczach oznaczano metodą pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego (pNMR), stosując spektrometr Minispec pc 120 (Bruker). Próbkę tłuszczów przed pomiarem termostatowano zgodnie z procedurami zalecanymi przez normę ISO 8292 (tab. 1), a mianowicie: masło kakaowe temperowano 40 godz. w temp. 26°C, olej palmowy – 16 godz. w temp. 10°C, łój wołowy – 24 godz. w temp. 0°C natomiast tłuszcz mleczny chłodzono tylko 1 godz. w temp. 0°C. Ta ostatnia procedura wg metody IUPAC przeznaczona jest też do oleju palmowego i łoju.

Pomiary zawartości fazy stałej wykonano metodą równoległą oraz szeregową. W metodzie równoległej przed każdym pomiarem przeprowadza się całą procedurę termostatowania, natomiast w przypadku pomiaru szeregowego tłuszcz jest raz schłodzony (ewentualnie stabilizowany), a następnie termostatowany w kolejnej, coraz wyższej temperaturze, w której mierzona jest zawartość fazy stałej.

Wykonując pomiary zawartości fazy stałej spektrometr ustawiono na 3 pomiary w odstępie 2 s. W przypadku masła kakaowego, zgodnie z uwagą zamieszczoną w normie ISO 8292 [10], dodatkowo zastosowano jeden pomiar, a odstęp między impulsami wynosił 6 s.

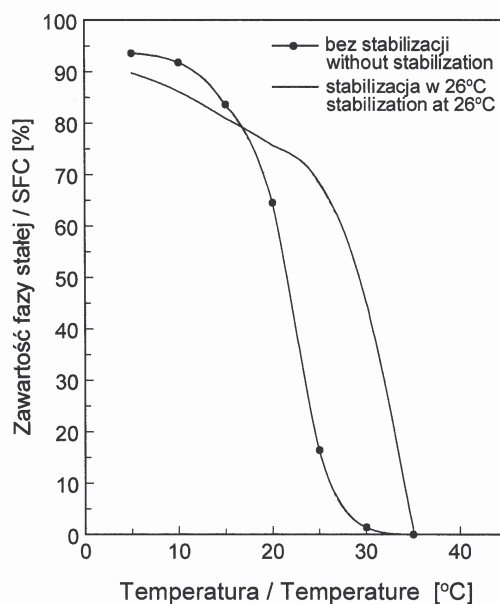
### Wyniki i dyskusja

W metodach IUPAC [11], AOCS [4] oraz PORIM [16] tłuszcze dzielone są na dwie grupy. Do pierwszej z nich należą tłuszcze, które nie wymagają długiej stabilizacji, gdyż po schłodzeniu krystalizują w odpowiedniej formie. Do tej grupy zalicza się zdecydowaną większość tłuszczów. Do drugiej grupy należy masło kakaowe oraz jęgo równoważniki (CBE), czyli tłuszcze, które do uzyskania trwałej

formy krystalicznej  $\beta$  wymagają 40-godz. stabilizacji (temperowania) w temp. 26°C. Jak duże znaczenie ma etap stabilizacji masła kakaowego w temp. 26°C, zaprezentowano na rys. 1.

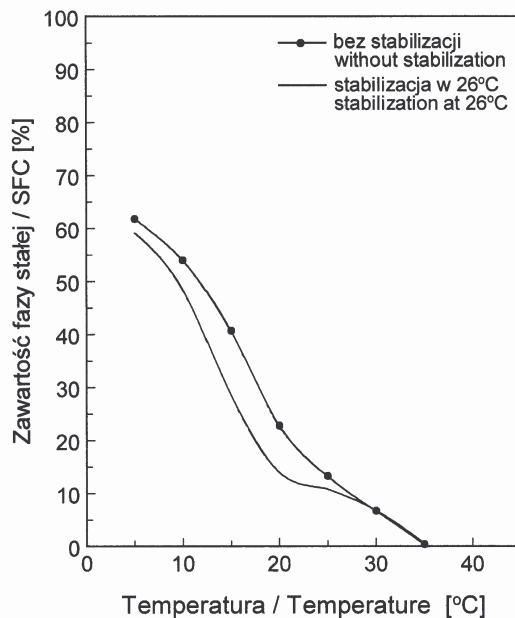
W trakcie temperowania masła kakaowego następuje krystalizacja do formy krystalicznej  $\beta$ , o najwyższej temperaturze topnienia, co w efekcie powoduje wyraźny wzrost zawartości fazy stałej.

W przypadku tłuszczów, w których nie zachodzą przemiany polimorficzne, etap stabilizacji ma odmienny wpływ na zawartość fazy stałej – przykładem może być tłuszcz mleczny. Wpływ stabilizacji tego tłuszczu na zawartość fazy stałej przedstawiono na rys. 2.



Rys. 1. Wpływ 40-godz. stabilizacji w temp. 26°C na zawartość fazy stałej w tłuszczu kakaowym.

Fig. 1. The effect of 40 hours stabilization at 26°C on the SFC in cocoa butter.



Rys.2. Wpływ 40-godz. stabilizacji w temp. 26°C na zawartość fazy stałej w tłuszczu mlecznym.

Fig. 2. The effect of 40 hours stabilization at 26°C on SFC in milk fat.

W trakcie stabilizowania tłuszczu mlecznego niskotopliwe TAG nie krystalizują i pozostają w fazie ciekłej, w efekcie czego poniżej temperatury stabilizacji zawartość fazy stałej zmniejsza się [12, 19].

W przypadku oznaczania zawartości fazy stałej w tłuszczu kakaowym lub jego równoważnikach należy zwrócić uwagę na jeszcze jeden aspekt mający bardzo duży wpływ na otrzymanie prawidłowego wyniku. W przypadku tych tłuszczów, oprócz odmiennej metody przygotowania próbek, należy również stosować inne ustawienie spektrometru NMR w czasie pomiaru. Z reguły, w czasie analizy większości tłuszczów wykonuje się 3 pomiary w odstępie 2 s, a wynik końcowy jest ich średnią. W przypadku tłuszczu kakaowego, ze względu na jego formę krystaliczną (która z kolei ma wpływ na czas relaksacji) [18], odstęp między impulsami powinien wynosić 6 s. W przypadku zastosowania 6 s odstępu i 3 pomiarów, całkowity czas pomiaru wyniósłby 18 s. Tak długie przebywanie tłuszczu w głowicy spektrometru o temp. 40°C miałyby wpływ na otrzymany wynik, szczególnie przy pomiarach zawartości fazy stałej w niskiej temperaturze. W związku z tym, w przypadku stosowania 6 s odstępu między impulsami, wynik powinien pochodzić z 1 pomiaru [10]. W tab. 2. porównano zawartości fazy stałej w próbce tłuszczu kakaowego, otrzymane z 1 pomiaru po 6 s i 3 pomiarów w odstępie 2 s.

Tabela 2



Wpływ ustawienia spektrometru pNMR na wyniki zawartości fazy stałej w tłuszczu kakaowym poddanym temperowaniu.

The effect of pNMR spectrometer settings on solid fat content in tempered cocoa butter.

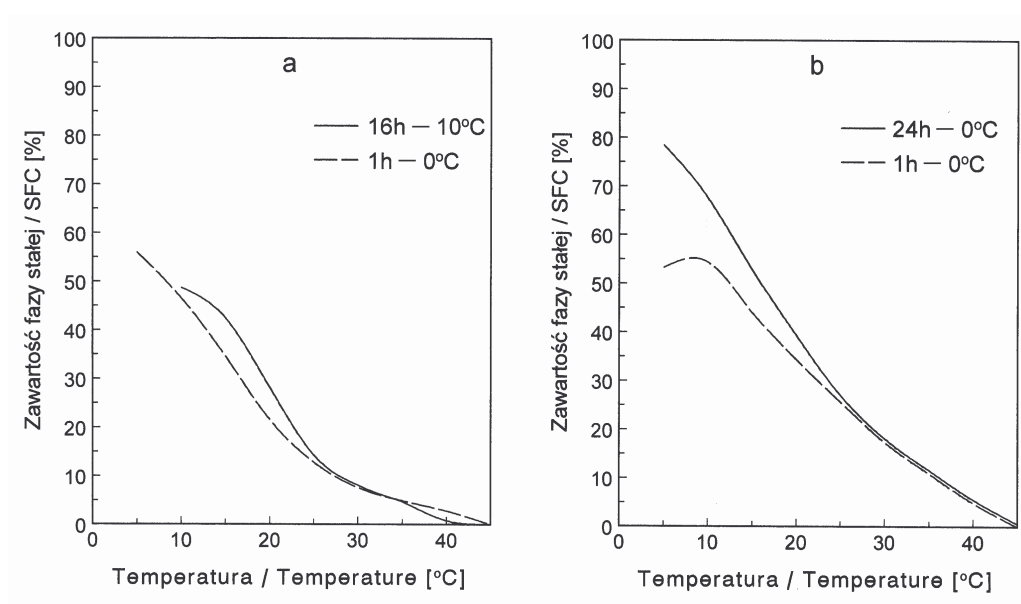
Ustawienia spektrometru NMR NMR spectrometer settings	Temperatura / Temperature [°C]						
	5	10	15	20	25	30	35
1 impuls/ 1 pulse RD* = 6 s	89,8	86,8	81,4	77,2	70,1	46,0	13,4
3 impulsy/ 3 pulses RD* = 2 s	90,0	84,4	79,5	74,4	64,1	38,3	11,0

\* – odstęp między impulsami w [s] / relaxation delay in [s].

Największa bezwzględna różnica w zawartości fazy stałej, dochodząca do 8%, wystąpiła w temp. 30°C. Zatem błąd względny, spowodowany nieodpowiednim dla masła kakaowego ustawieniem aparatu, wyniósł tu ponad 16%.

W normie ISO [10], w odróżnieniu od wcześniej omówionych metod [4, 11, 16], tłuszcze podzielono nie na dwie, lecz na cztery grupy: (1) masło kakaowe, (2) olej palmowy, (3) łój i jego frakcje, (4) pozostałe tłuszcze. Porównując normę ISO z innymi normami zauważa się, że w stosunku do oleju palmowego i łoju wołowego zalecane są różne procedury przygotowania próbek.

Odmiennej sposób termostatowania oleju palmowego oraz łoju [10] miał znaczący wpływ na otrzymaną zawartość fazy stałej, co przedstawiono na rys. 3.



Rys. 3. Wpływ sposobu termostatowania (a) oleju palmowego i (b) łoju wołowego na zawartość fazy stałej.

Fig. 3 The effect of a heat treatment method of palm oil (a) and tallow (b) on SFC.

Stabilizowanie oleju palmowego w temp. 10°C spowodowało podwyższenie zawartości fazy stałej w zakresie 10–25°C. Procedura wg normy ISO w przypadku oleju palmowego jest jedyną, która nie przewiduje chłodzenia oleju palmowego w temp. 0°C. W związku z tym zawartość fazy stałej w tym tłuszczu można w zasadzie oznaczać dopiero od temp. 10°C.

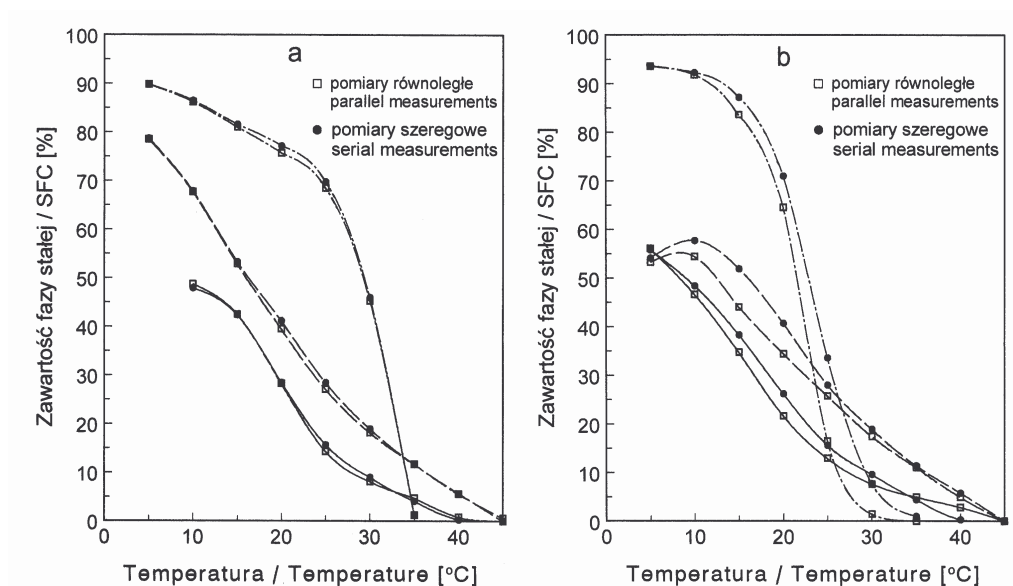
Długotrwałe stabilizowanie łoju w temp. 0°C powoduje, że w zakresie temp. 5–20°C powstaje znacznie więcej fazy stałej. W temp. powyżej 20°C wyniki są niemal identyczne. W przypadku tego tłuszczu obydwie porównywane procedury różnią się jedynie czasem termostatowania próbki w temp. 0°C. Znaczne różnice w zawartości fazy stałej, szczególnie w niskiej temperaturze, dowodzą, że aby wykrystalizowały niskotopliwe TAG potrzebne jest znacznie dłuższe chłodzenie tłuszczu niż przez 1 godz. Przy zastosowaniu 1-godz. chłodzenia można zaobserwować nietypowy przebieg zależności zawartości fazy stałej od temperatury. Wraz ze wzrostem temp. z 5 do 10°C następował nie, jak należało się spodziewać, spadek, lecz wzrost zawartości fazy stałej. Można więc stwierdzić, że po 1-godz. chłodzeniu nie nastąpiło całkowite i prawidłowe wykrystalizowanie łoju. W trakcie 30-min termostatowania przed pomiarem w temp. 10°C następowało z jednej strony częściowe stopienie niskotopliwych TAG, które wykrystalizowały w temp. 0°C, z drugiej natomiast zachodziły przemiany polimorficzne powodujące w efekcie wzrost zawartości fazy stałej.

W przedstawionych powyżej przykładach pomiar zawartości fazy stałej wykonywano w sposób równoległy. Polega on na tym, że przed każdym pomiarem SFC próbka tłuszczu poddawana jest pełnej procedurze przygotowawczej. Taki sposób pomiaru zalecają m.in. normy ISO [10] i AOCS [4]. Zawartość fazy stałej można też oznaczać stosując pomiar szeregowy [16]. W takim przypadku próbka tłuszczu jest raz schłodzona (i ewentualnie stabilizowana), a następnie termostatowana w kolejnej, coraz wyższej temperaturze i po każdym termostatowaniu wykonuje się pomiar zawartości fazy stałej. W przypadku pomiaru szeregowego, im wyższa temperatura pomiaru, tym tłuszcz jest poddany dłuższej procedurze, gdyż był on wcześniej termostatowany w niższej temperaturze, w której wykonano pomiary fazy stałej. W przypadku, gdy zastosowana procedura stabilizacji nie doprowadziła do powstania trwałej formy krystalicznej, w kolejnej coraz wyższej temperaturze mogą zachodzić dalsze przemiany mające wpływ na zawartość fazy stałej. Na rys. 4. przedstawiono zależności zawartości fazy stałej tłuszczu kakaowego, oleju palmowego i łoju wołowego od temperatury. Porównano wyniki pomiarów szeregowych i równoległych, otrzymane przy zastosowaniu procedur przeznaczonych dla każdego z tych tłuszczów;

wg normy ISO 8292 (rys. 4a) oraz procedury bez stabilizacji próbki, a jedynie po 1 godz. chłodzeniu w temp. 0°C (rys. 4b).

W przypadku zastosowania odpowiednich dla badanych tłuszczów procedur (rys. 4a) wyniki z pomiaru szeregowego i równoległego pokrywają się, natomiast po zastosowaniu procedury z 1-godz. chłodzeniem w temp. 0°C w pomiarze szeregowym uzyskuje się wyższe zawartości fazy stałej.

Powyższe wyniki dowodzą, że pomiar szeregowy może być stosowany jedynie wówczas, jeśli mamy pewność, że zastosowany sposób termostatowania jest odpowiedni dla danego tłuszczu i w efekcie uzyskuje się takie same wyniki jak w pomiarze równoległym. Z drugiej strony wykonanie pomiarów w sposób równoległy i szeregowy oraz porównanie wyników pozwala stwierdzić, czy zastosowana procedura była prawidłowa i czy badany tłuszcz uzyskał odpowiednią, niezmienną się w trakcie termostatowania, formę krystaliczną.



Rys. 4. Wpływ metody pomiaru na zawartość fazy stałej w tłuszczu kakaowym (· · · · ·), oleju palmowym (—) i łożu (---).  
a) termostatowanie zgodnie z normą ISO 8292, b) chłodzenie 1godz. w temp. 0°C.

Fig. 4. The effect of a measuring on SFC in cocoa butte (· · · · ·), palm oil (—) and tallow (---).  
a) termostating according to ISO 8292, b) 1 hour cooling at 0°C.

## Wnioski

1. Masło kakaowe, olej palmowy oraz łój wołowy powinny być poddawane wielogodzinnej stabilizacji przed oznaczeniem zawartości fazy stałej. Brak takiej stabilizacji powoduje otrzymywanie niższych zawartości fazy stałej, a w przypadku łożu może nawet spowodować otrzymanie nietypowych zależności, tzn. zwiększenie zawartości fazy stałej wraz ze wzrostem temperatury.
2. W przypadku oznaczania zawartości fazy stałej w tłuszczu kakaowym oraz jego równoważnikach należy pamiętać o prawidłowym ustawieniu spektrometru NMR. Wynik powinien pochodzić z jednego pomiaru, a odstęp między impulsami powinien wynosić 6 s.
3. W przypadku zastosowania prawidłowej procedury termostatowania wyniki pomiaru równoległego i szeregowego nie różnią się między sobą. W przeciwnym razie w pomiarze szeregowym uzyskuje się wyższe wyniki.

*Praca finansowana przez KBN w ramach grantu 6 P06T 071 21*

## Literatura

- [1] AOCS Official Methods: Cd 10-57, Solid fat index. Dilatometric method. 1997.
- [2] AOCS Official Methods: Cd 16-81, Solid fat content (SFC) by low resolution nuclear magnetic resonance - The indirect method. 1999.
- [3] AOCS Official Methods: Cd 16-81, Solid fat content (SFC) by nuclear magnetic resonance spectrometry (NMR). 1997.
- [4] AOCS Official Methods: Cd 16b-93, Solid fat content (SFC) by low resolution nuclear magnetic resonance - The direct method. 1999.
- [5] Bentz A.P., Breidenbach B.G.: Evaluation of the differential scanning calorimetric method for fat solids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1969, **46** (2), 60-63.
- [6] Bornaz S., Fanni J., Parmentier M.: Limit of the solid fat content modification of butter. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1994, **71** (12), 1373-1380.
- [7] Breitschuh B., Windhab E.J.: Direct measurement of thermal fat crystal properties for milk-fat fractionation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1996, **73** (11), 1603-1610.
- [8] de Man L., de Man J.M., Blackman B.: Physical and textural characteristics of some North American shortenings. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1991, **68** (2), 63-69.
- [9] Hussin A.B.B.H., Povey M.J.W.: A study of dilatation and acoustic propagation in solidifying fats and oils: II. Experimental. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1984, **61** (3), 560-564.
- [10] ISO 8292: 1991. Animal and vegetable fats and oils. Determination of solid fat content. Pulsed nuclear magnetic resonance method.
- [11] IUPAC Method 2.150: Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives, 7<sup>th</sup> edn, Blackwell Scientific Publications, Oxford 1987.
- [12] Madison B.L., Hill R.C.: Determination of the solid fat content of commercial fats by pulsed nuclear magnetic resonance. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1978, **55** (3), 328-331.

- [13] Miller W.J., Koestner W.H., Freeberg F.E.: The measurement of fatty solids by differential scanning calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1969, **46** (7), 341-343.
- [14] Mills B.L., van de Voort F.R.: Determination of solid fat index of fats and oils using the Anton Paar density meter. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1981, **58** (5), 618-621.
- [15] Ong A.S.H., Boey P.L., Ng C.M.: Spectrophotometric method for determination of solid fat content of palm oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1982, **59** (5), 223-226.
- [16] PORIM Test Methods: Determination of solid fat content by nuclear magnetic resonance: Method II by pulsed NMR (p. 4.9). Palm Oil Research Institute of Malaysia 1995.
- [17] Van de Voort F.R., Memon K.P., Sedman J., Ismail A.A.: Determination of solid fat index by Fourier transform infrared spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1996, **73** (4), 411-416.
- [18] Waddington D.: Some applications of wide-line nuclear magnetic resonance in the oils and fats industry. In: *Fats and oils: Chemistry and technology*, ed. R.J. Hamilton and A. Bahti. Applied Science Publishers Ltd, London, 1980, p. 25.
- [19] Walker R.C., Bosin W.A.: Comparison of SFI, DSC and NMR methods for determining solid-liquid ratios in fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1971, **48** (2), 50-53.

**THE EFFECT OF THERMOSTATING PROCEDURES AND METHODS  
OF MEASUREMENTS ON THE EVALUATION RESULTS OF SOLID FAT CONTENTS  
IN SOME SELECTED FATS**

S u m m a r y

Pulsed NMR is a method recommended by international standards for determination of solid fat content (SFC). Fats are thermostated before SFC are determined. Fats are divided into several groups owing to differences in their crystallization processes. Different thermostating procedures have been worked out for each group. According to the ISO 8292 standard on the determination of SFC, fats are divided into four groups: (1) cocoa butter and its equivalents, (2) palm oil, (3) tallow and its fractions, and (4) other fats. According to other standards (IUPAC, AOCS, PORIM), fats are divided into two groups: (1) cocoa butter and its equivalents, and (2) other fats. Therefore, two different procedures are used to thermostate palm oil and tallow. The ISO 8292 standard recommends that these fats are tempered for many hours, whereas other standards recommend only 1 hr cooling at 0°C. In this study, SFC in fats that, according to ISO 8292, belong to four different groups (cocoa butter, palm oil, tallow, and milk fat) were determined. Solid fat contents in samples were determined after a 1 hr cooling and many hr lasting tempering processes. With regard to cocoa butter, palm oil and tallow, ISO procedures specifically designed for these fats were used. Milk fat was tempered in a similar way as cocoa butter. Fats are tempered in order to change them into a stable crystalline form. In case of fats in which such changes occur, i.e. cocoa butter, palm oil and tallow, tempering causes an increase in SFC. In fats not requiring tempering, e.g., milk fat, this step causes a decrease in SFC at a temperature appearing lower as the temperature at which the fat was tempered. Additionally, some standards (IUPAC, PORIM) include a possibility of taking serial measurements. When procedure applied is not suitable for a given fat, i.e. when it is not possible to change the fat into a stable crystalline form, then, a higher SFC is obtained while

taking series measurements. This effect is caused by polymorphic transformations occurring during the process of thermostating samples at successively increasing temperatures. If a procedure applied is fitting, both the parallel and serial measurements supply the same results.

**Key words:** solid fat content, pulsed nuclear magnetic resonance, tempering of fats, cocoa butter, tallow, palm oil, milk fat ☒

MAŁGORZATA ZIARNO, EWA SEMENIUK, KATARZYNA KYCIA

**WPŁYW DODATKU SOLI WAPNIA NA STABILNOŚĆ MLEKA  
PRZEZNACZONEGO DO PRODUKCJI SERA TYPU  
COTTAGE CHEESE**

Streszczenie

Jednym ze sposobów podnoszenia zawartości wapnia w serach typu cottage cheese może być dodatek soli wapniowych do mleka przerobowego przed jego obróbką termiczną (pasteryzacją).

Celem pracy było określenie wpływu dodatku różnych soli wapnia na stabilność termiczną i wybrane cechy fizykochemiczne mleka przerobowego stosowanego do produkcji sera typu cottage cheese. Wykazano, że dodatek soli wapniowych rozpuszczalnych w wodzie powodował wzrost kwasowości mleka przerobowego. Wzbogacone mleko wykazywało zwiększoną wrażliwość na podwyższoną temperaturę i w rezultacie precypitację białek podczas obróbki termicznej (repasteryzacji mleka). Najwyższy dodatek soli rozpuszczalnej w wodzie, który nie powodował koagulacji białek podczas repasteryzacji, wyniósł 0,15% bezwodnego chlorku wapnia, dzięki czemu uzyskano podniesienie zawartości wapnia w mleku przerobowym o 55 mg%. Przeprowadzone dodatkowe próby na stabilność termiczną białek wykazały, że bezpieczniejszy był jednak poziom wzbogacenia o około 35 mg% wapnia (w przypadku dodatku bezwodnego chlorku wapnia) lub o 20 mg% (w przypadku pozostałych soli wapniowych rozpuszczalnych w wodzie). W przypadku soli wapniowych nierozpuszczalnych w wodzie (cytrynian i węglan wapnia) stwierdzono możliwość znaczniejszego podniesienia zawartości wapnia w mleku przerobowym, bez powodowania koagulacji jego białek podczas repasteryzacji. Nawet 5% dodatek tych soli nie powodował destabilizacji białek ani nie następowało ich wytrącenie podczas próby na zagotowanie. Zastosowanie dodatku mieszanki soli wapnia, zawierającej sól wapniową rozpuszczalną w wodzie i sól wapniową nierozpuszczalną w wodzie, umożliwiło wprowadzenia większej ilości wapnia niż w przypadku stosowania pojedynczych soli rozpuszczalnych w wodzie. Jednoczesny dodatek 63 mg% wapnia w postaci cytrynianu wapnia i 20 mg% wapnia w postaci mleczanu umożliwił podniesienie zawartości wapnia w mleku przerobowym o 83 mg%. Zastosowanie powyższych mieszanek soli nie powodowało koagulacji białek podczas repasteryzacji.

**Słowa kluczowe:** wapń, sole wapnia, mleko przerobowe, cottage cheese, wzbogacanie.

---

*Dr inż. M. Ziarno, mgr inż. E. Semeniuk, mgr inż. K. Kycia, Zakład Biotechnologii Mleka, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w*

## Wprowadzenie

Produkty mleczarskie zalicza się do szczególnie cennych w żywieniu człowieka [5, 6, 7, 15, 27]. Jednak, gdy 100 g mleka dostarcza około 100 mg wapnia, to 100 g serka kwasowego lub kwasowo-podpuszczkowego zawiera jedynie około 80 mg tego pierwiastka, z czego około 1/2-2/3 ilości pochodzi z samego ziarna serowego, zaś reszta ze śmietanki stosowanej do jego natłuszczenia [7, 12, 21, 24]. Tak niska zawartość wapnia jest konsekwencją procesu produkcyjnego serka cottage cheese. Cottage cheese jest serkiem kwasowo-podpuszczkowym i w celu obniżenia pH mleka i wytrącenia jego białek prowadzi się ukwaszanie biologiczne w wyniku rozwoju bakterii fermentacji mlekowej. Podczas procesu ukwaszania większość wapnia ze stanu koloidalnego przechodzi w formę jonową, wynikiem czego jest przejście (retencja) wapnia do serwatki, a w efekcie tylko część wapnia zatrzymywana jest w skrzepie serka. Otrzymany skrzep ma niskie pH, wynoszące około 4,5-4,6 w momencie rozpoczęcia krojenia na drobne ziarna serowe, które ponadto są aż trzykrotnie płukane wodą technologiczną [15, 16, 18, 27]. Etap płukania ziaren serowych wodą powoduje dalsze wymywanie wapnia z masy skrzepu i trawienie go wraz z wodą technologiczną. Wong i wsp. [24] wykazali, że blisko 70% wapnia zawartego w mleku przerobowym jest wymywane wraz z serwatką i w gotowym serku pozostaje jedynie około 30% wapnia pochodzącego bezpośrednio z surowca.

Zwiększanie zawartości wapnia w serkach cottage cheese można realizować poprzez modyfikację procesu technologicznego lub/i dodatek preparatów wzbogacających [14, 15, 16, 17, 21, 24, 25]. Jest wiele preparatów wapniowych, które można ewentualnie zastosować do wzbogacania serów cottage cheese. Dopuszczone do stosowania i najczęściej wykorzystywane w przemyśle spożywczym są związki wapnia takie, jak: węglan, cytrynian, ortofosforan(V) oraz tlenek, wodorotlenek, chlorek, mleczan, laktobionian, laktoglukonian, glukonian, CCM (jabłczan i cytrynian wapnia), a także źródła naturalne np. mleko w proszku, proszek serwatkowy [3, 8, 11, 13, 14, 19, 21, 26]. Substancje te różnią się zapachem, smakiem, rozpuszczalnością oraz zawartością wapnia elementarnego, chociaż badania porównawcze dotyczące przyswajalności wapnia z różnych jego soli nie wykazują różnic w absorpcji wapnia z poszczególnych preparatów [10, 11, 18, 23]. Również nie stwierdza się różnicy w tempie biologicznego ukwaszenia mleka wzbogaconego chlorkiem wapnia w porównaniu z mlekiem niewzbogaconym [4].

Należy jednak rozważyć, podczas którego etapu produkcji serków cottage cheese sole wapniowe mogą być dodane i w jakiej postaci. Teoretycznie, sole wapniowe można dodać do mleka przerobowego, z którego otrzyma się ziarna serowe lub do



śmietanki stosowanej do natłuszczenia tych ziaren. W obydwu przypadkach dodatek soli wapniowych może być zadany przed procesem pasteryzacji i homogenizacji lub, najlepiej aseptycznie, po procesie obróbki termicznej mleka lub śmietanki. Pierwszy sposób wydaje się łatwiejszy do przeprowadzenia z tego względu, że w ten sposób sole wapniowe można dodać w postaci suchego preparatu, który zostanie dokładnie rozprowadzony w całej masie mleka lub śmietanki. Jednak podczas dodawania soli wapnia do mleka lub śmietanki przed ich obróbką termiczną można oczekiwać pewnych komplikacji, głównie spowodowanych obniżeniem stabilności termicznej białek mleka. Pod tym względem obserwuje się znaczące różnice pomiędzy solami wapniowymi nierozpuszczalnymi i rozpuszczalnymi w wodzie. Sole wapniowe nierozpuszczalne w wodzie są obojętne wobec białek mleka i nawet w podwyższonej temperaturze nie powodują ich koagulacji [13, 21, 24]. Natomiast sole wapniowe rozpuszczalne w wodzie mogą powodować koagulację białek mleka lub wchodzić w reakcje z innymi składnikami produktu [14, 21, 22]. Ponadto, w przypadku wprowadzania wapnia do mleka przerobowego jego część może być tracona podczas otrzymywania skrzepu serowego [9, 14, 28]. Dodatek soli wapniowych po obróbce termicznej i homogenizacji mleka lub śmietanki wymusza konieczność dozowania preparatu wapniowego z zachowaniem wysokiej aseptyczności.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu dodatku soli wapnia na stabilność termiczną i wybrane cechy fizykochemiczne mleka przerobowego stosowanego do produkcji sera typu cottage cheese.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem do badań było wstępnie łagodnie pasteryzowane mleko (o zawartości tłuszczu 2,0%) oraz sole wapniowe: 5-wodny L-mleczan wapnia (cz.a., Fluka Chemika), 2-wodny laktoglukonian wapnia (czystości spożywczej, Polfarmex), bezwodny glukonian wapnia (czystości spożywczej, Polfarmex), bezwodny chlorek wapnia (cz.a., POCh Gliwice), 4-wodny cytrynian wapnia (czystości spożywczej, Polfarmex), bezwodny węglan wapnia (cz.a., POCh Gliwice).

Zakres badań obejmował określenie takiego dodatku stosowanych soli wapniowych lub ich mieszanek, który nie obniżał stabilności termicznej białek podczas ogrzewania (repasteryzacji) mleka w temp. 74°C przez 5 min (przeprowadzonego przez ogrzanie próbek mleka w próbkach do zadanej temperatury, przetrzymanie przez określony czas i następnie szybkie schłodzenie do temp. 10°C). W próbkach mleka, w których białka nie uległy termicznej denaturacji pod wpływem przeprowadzonej repasteryzacji, oznaczano kwasowość (miareczkową i pH) oraz dodatkowo określano stabilność białek w próbach alkoholowych i w próbie na zagotowanie.

Oznaczenie kwasowości potencjalnej (miareczkowej) próbek mleka wykonywano miareczkując 50 ml próbki 0,25 N mianowanym roztworem wodorotlenku sodu w

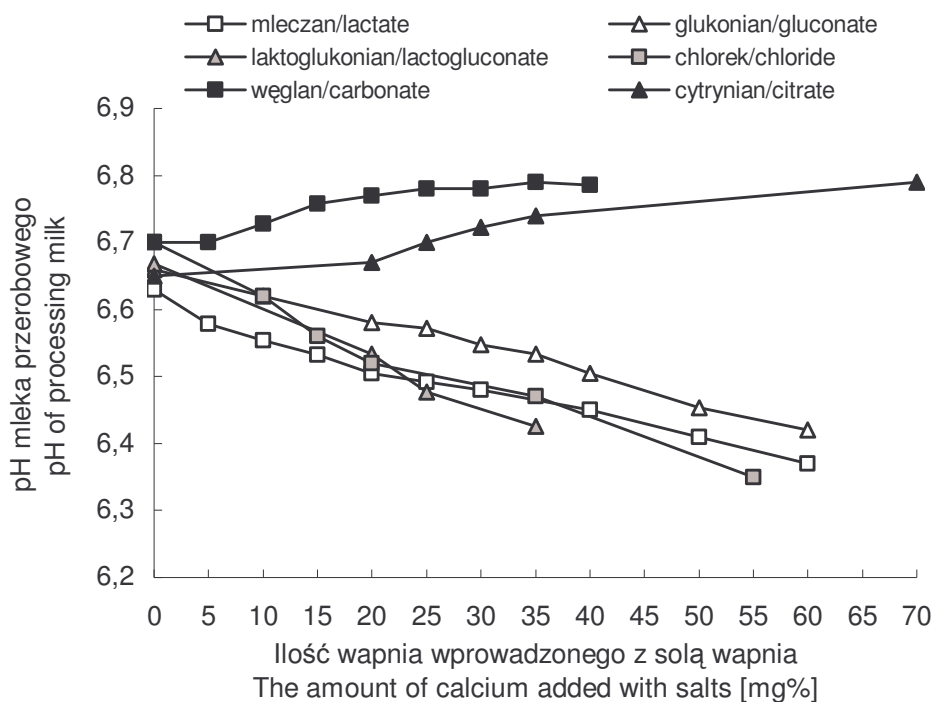
obecności fenoloftaleiny jako wskaźnika. Oznaczenie kwasowości czynnej (pH) wykonywano metodą elektrometryczną przez pomiar aktywności jonów wodorowych przy użyciu pehametru typ PM-60C z dokładnością odczytu do 0,01 jednostki pH. W próbie na zagotowanie pobierano 5 ml mleka do probówki i na małym płomieniu doprowadzano do wrzenia. Obserwowano ewentualne ścięcie białek (co interpretowano jako wynik negatywny). Próby alkoholowe (pojedyncza i podwójna) polegały na wymieszaniu określonej objętości mleka i 68% alkoholu etylowego, a następnie obserwacji mieszaniny. Za wynik pozytywny uznawano brak ścięcia białek. Wszystkie oznaczenia oraz doświadczenia z określonym dodatkiem soli wapniowych przeprowadzano w dwóch powtórzeniach.

### Wyniki i dyskusja

Ilość soli wapnia, jaką można wprowadzić do mleka przerobowego przed jego pasteryzacją, tak aby nie powodowała ona precypitacji białek, jest różna w zależności od rodzaju soli, zawartości wapnia w masie cząsteczkowej i rozpuszczalności soli w środowisku wodnym. Sole wapniowe stosowane w niniejszych badaniach znacznie różniły się zawartością wapnia. Największą ilość wapnia w masie cząsteczkowej zawiera bezwodny węglan wapnia (40%) i bezwodny chlorek wapnia (36,1%), natomiast 5-wodny mlecyan wapnia zawiera go 13%, 2-wodny laktoglukonian wapnia – także 13%, bezwodny glukonian wapnia – 9,31% i 4-wodny cytrynian wapnia – 7,03%.

Badania przeprowadzone w niniejszej pracy wykazały, że wprowadzenie do mleka soli wapniowych rozpuszczalnych w wodzie powodowało obniżenie jego pH oraz wzrost kwasowości miareczkowej (rys. 1 i 2). Potwierdza to spostrzeżenia Flingera i wsp. [3]. Na skutek wzrostu kwasowości mleka białka są bardziej podatne na koagulację termiczną. Niezależnie od ilości dodanych soli wapniowych, wzbogacone mleko wykazywało zwiększoną wrażliwość na podwyższoną temperaturę i w rezultacie precypitację białek podczas obróbki termicznej (repasteryzacji mleka) lub w próbach na zagotowanie bądź próbach alkoholowych. Najwyższy dodatek tych soli, który nie powodował koagulacji białek podczas repasteryzacji, pozwalał na podniesienie zawartości wapnia w mleku przerobowym maksymalnie o 55 mg%. Takie wzbogacenie można było uzyskać stosując około 0,15% dodatek bezwodnego chlorku wapnia. Mniejszy poziom wzbogacenia (o około 30 mg%) osiągnięto dodając 0,25% 5-wodnego mlecyanu lub 2-wodnego laktoglukonianu albo 0,35% bezwodnego glukonianu wapnia. Zastosowane dodatki soli wapniowych powodowały obniżenie wartości pH mleka przerobowego do około 6,35–6,55 oraz wzrost kwasowości miareczkowej do 7,00–7,60°SH. Przeprowadzone w niniejszej pracy próby na stabilność termiczną białek (próba na zagotowanie oraz próby alkoholowe) wykazywały jednak, że bezpieczniejszy był poziom wzbogacenia o około 35 mg%

wapnia (w przypadku dodatku bezwodnego chlorku wapnia) lub o 20 mg% wapnia (w przypadku pozostałych soli wapniowych). Taki poziom podniesienia zawartości wapnia w mleku przerobowym nie powodował ścięcia białek w próbie na zagotowanie. Ponadto, należy pamiętać, że zbyt duża zawartość wapnia w mleku przerobowym może spowodować zmianę cech sensorycznych końcowego produktu [9, 13, 14, 28].

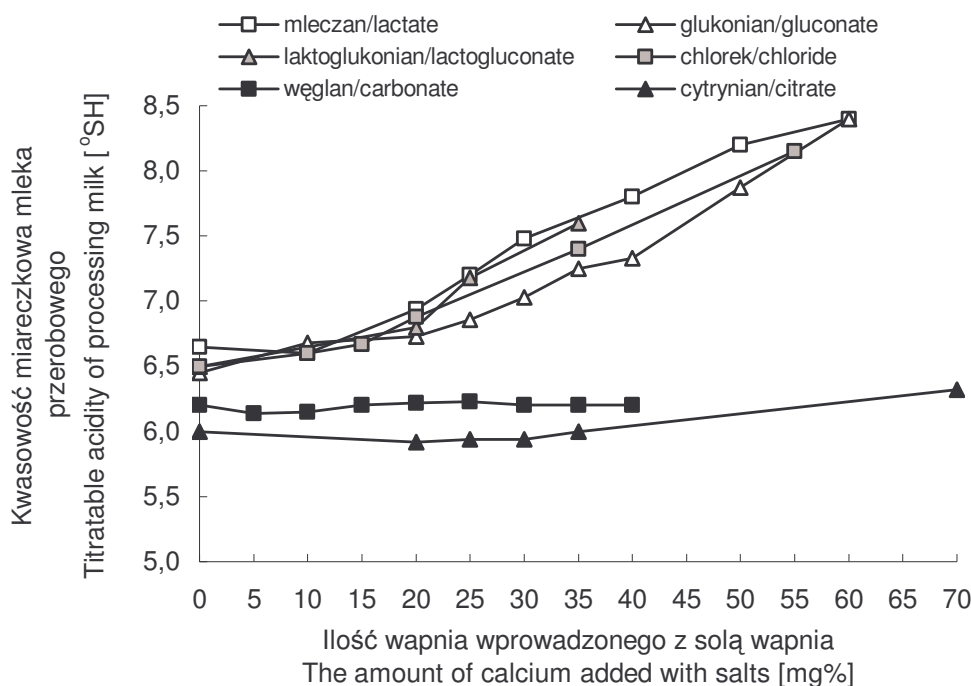


Rys. 1. Wpływ rodzaju i dawki zastosowanej soli wapnia na kwasowość czynną (pH) mleka przerobowego.

Fig. 1. The effect of types and quantities of calcium salts added on the active acidity (pH) of processing milk.

W przypadku soli wapniowych trudno- lub nierozpuszczalnych w środowisku wodnym (4-wodny cytrynian i bezwodny węglan wapnia) stwierdzono zupełnie inny ich wpływ na stabilność białek mleka oraz kwasowość mleka przerobowego (rys. 1 i 2). Wyniki zamieszczone na rysunkach wskazują na możliwość znacznego podniesienia zawartości wapnia w mleku przerobowym przy zastosowaniu tych soli, bez powodowania koagulacji jego białek podczas repasteryzacji. W niniejszej pracy wykazano, że nawet 5% dodatek każdej z tych dwóch stosowanych soli (dane nie zamieszczone na rysunkach) nie powodowały destabilizacji białek ani nie następowało ich wytrącenie podczas próby na zagotowanie. Niniejsze wyniki badań są

potwierdzeniem pracy Vyasa i Tonga [22], którzy również wykazali, iż dodatek cytrynianu wapnia nie powoduje żadnych istotnych zmian kwasowości czynnej, w przeciwieństwie do mleczanu wapnia powodującego obniżenie pH. Inne doświadczenia, przeprowadzone przez Coxa i Millera [1], wskazują na słabą reakcję węglanu wapnia z białkami w produktach mlecznych, tak więc wprowadzanie wapnia w postaci tej soli nie będzie skomplikowane.



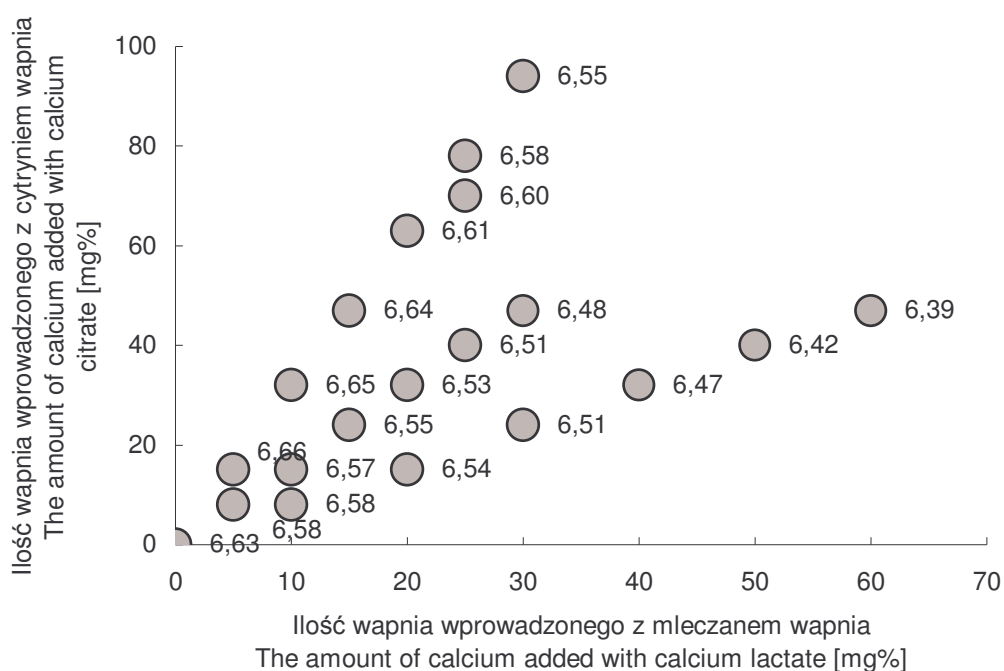
Rys. 2. Wpływ rodzaju i dawki zastosowanej soli wapnia na kwasowość miareczkową ( $^{\circ}\text{SH}$ ) mleka przerobowego.

Fig. 2. The effect of types and quantities of calcium salts added on the titratable acidity ( $^{\circ}\text{SH}$ ) of processing milk.

Czterowodny cytrynian wapnia charakteryzuje się jednak niską zawartością wapnia (7,03%), co powoduje, że ze względów ekonomicznych i praktycznych nie wydaje się korzystny w procesie wzbogacania. Zaletą jednak stosowania cytrynianu jest możliwość dodawania tej soli do mleka przerobowego przed jego pasteryzacją, co umożliwi przeprowadzenie dalszych etapów procesu technologicznego w warunkach aseptycznych i zmniejszy ryzyko infekcji mikrobiologicznej. Stosowanie bezwodnego węglanu wapnia ma jednak pewne istotne konsekwencje technologiczne. Obróbka cieplna uwalnia z węglanu wapnia  $\text{CO}_2$ , co stanowi ryzyko technologiczne, a ponadto

aniony powstałe z rozkładu węglanu mogą wpłynąć na zmianę cech sensorycznych mleka przerobowego, a w konsekwencji na gotowy produkt [2, 20, 23].

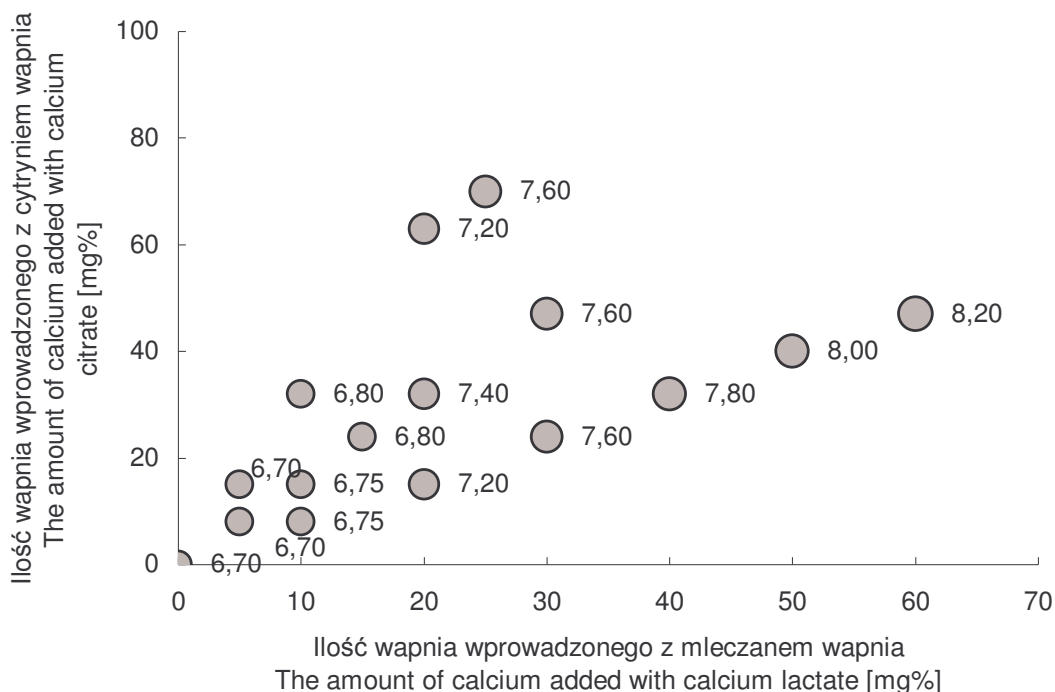
W niniejszej pracy podjęto również próbę wzbogacania mleka przerobowego w wapń stosując mieszanki jego soli w różnych proporcjach. Interesujące są właściwości mieszanek, w których składzie zastosowano sól wapniową rozpuszczalną w wodzie i sól wapniową nierozpuszczalną lub trudno rozpuszczalną w wodzie. Przykładem jest mieszanka cytrynianu wapnia i mleczanu wapnia, w różnych proporcjach. Wyniki tych badań zamieszczono na rys. 3 i 4. Korzystne warunki zastosowania cytrynianu wapnia w mieszankach wzbogacających wynikały z możliwości dodawania go w dowolnych ilościach, bez ryzyka spowodowania zdestabilizowania i precypitacji białek mleka, co wykazano we wcześniejszych doświadczeniach niniejszej pracy. Jednocześnie dodatek 63 mg% wapnia w postaci cytrynianu wapnia i 20 mg% wapnia w postaci mleczanu pozwala na podniesienie zawartości wapnia w mleku przerobowym o 83 mg%. Zastosowanie powyższych mieszanek soli nie powodowało koagulacji białek podczas repasteryzacji i próby na zagotowanie.



Rys. 3. Wpływ zastosowanej mieszanki mleczanu i cytrynianu wapnia na kwasowość czynną (pH) mleka przerobowego.

Fig. 3. The effect of a mix of calcium lactate and calcium citrate added on the active acidity (pH) of processing milk.

Możliwości wzbogacania w wapń za pomocą mieszanek soli są duże, jednak wadą jest utrudnienie w aseptycznym przygotowaniu mieszanki soli, związane to jest między innymi z zagrożeniem mikrobiologicznym i problemami technicznymi (instalowanie mieszalników). Zastosowanie pojedynczych soli wapniowych jest znacznie prostsze. Należy zauważyć, że maksymalna dopuszczalna ilość wapnia, jaką można wprowadzić do mleka przerobowego, zależy nie tylko od rodzaju użytej soli wapniowej, ale także od samych cech mleka i parametrów jego pasteryzacji. Fligner i wsp. [3], na podstawie badań stwierdzili, że przy spadku pH do około 6,0 następuje ścięcie się białek mleka w próbkach, w których wzbogacenie wyniosło od 30% do 90% zawartości wapnia. Stosowali oni ogrzewanie w temp. 65°C przez 30 min. W badaniach przeprowadzonych w niniejszej pracy dowiedziono, że dodatek takich samych soli wapniowych jakie zastosowali ww. autorzy, ale przy innych parametrach obróbki termicznej (wstępna łagodna pasteryzacja, następnie repasteryzacja w temp. 74°C aż przez 5 min) nie powoduje koagulacji białek mleka. W niniejszych badaniach dobrane parametry ogrzewania próbek mleka (szczególnie czas tej obróbki) znacznie odbiegały od stosowanych w praktyce przemysłowej, jednak dały pewność, że mleko z dodatkiem soli wapniowych, w ilości gwarantującej brak termicznej denaturacji białek pod wpływem przeprowadzonej repasteryzacji, również nie ulegnie takiej denaturacji w warunkach przemysłowych podczas łagodnej pasteryzacji.



Rys. 4. Wpływ zastosowanej mieszanki mleczanu i cytrynianu wapnia na kwasowość miareczkową ( $^{\circ}\text{SH}$ ) mleka przerobowego.

Fig. 4. The effect of a mix of calcium lactate and calcium citrate added on the titratable acidity ( $^{\circ}\text{SH}$ ) of processing milk.

Ze względów technicznych i technologicznych dodatek soli wapniowych do mleka przerobowego przed jego obróbką termiczną wydaje się korzystny. Jednak w porównaniu z możliwością aseptycznego wprowadzania tych soli do mleka po pasteryzacji pozwala na dość niewielkie podniesienie zawartości wapnia w mleku przerobowym.

### Wnioski

1. Dodatek soli wapniowych rozpuszczalnych w wodzie obniża stabilność termiczną białek mleka, z tego względu ich zastosowanie do podniesienia zawartości wapnia w mleku przerobowym jest mało efektywne.
2. Korzystne wydaje się zastosowanie soli wapniowych nierozpuszczalnych lub trudno rozpuszczalnych w wodzie, a dodatkową zaletą jest możliwość wprowadzenia ich przed procesem obróbki termicznej (pasteryzacją) mleka przerobowego.
3. Użycie mieszanki soli wapniowych, szczególnie soli rozpuszczalnych w wodzie i soli nierozpuszczalnych lub trudno rozpuszczalnych, daje możliwość wprowadzenia do mleka przerobowego większej ilości wapnia niż w przypadku zastosowania ich pojedynczo.

### Literatura

- [1] Cox S.D., Miller J.L.: Interactions of precipitated calcium carbonate (PCC) with proteins in the calcium fortification of dairy and non-dairy beverages. Proc. Annual Meeting and Food Expo, California 2002, [ift.confex.com/ift/2002/techprogram/paper\\_14063.htm](http://ift.confex.com/ift/2002/techprogram/paper_14063.htm).
- [2] Emsley J.: Przewodnik po chemii życia codziennego. Prószyński i S-ka, Warszawa 1996, s. 332.
- [3] Flinger K., Lindamood J.B., Hansen P.M.T.: Fortification of low-fat plain yogurt with calcium gluconate. *Cult. Dairy Prod. J.*, 1998, **23** (1), 5-9.
- [4] Gastaldi E., Pellegrini O., Lagaude A., Torodo de la Fuente B.: Functions of added calcium in acid milk coagulation. *J. Food Sci.*, 1994, **59** (2), 310.
- [5] Gawęcki J., Hryniewiecki L. (red.): Żywność człowieka. Podstawy nauki o żywieniu. Wyd. Nauk. PWN Warszawa 2000, s. 207-211, 312-313, 346-354.
- [6] Jabłoński E.: Mleko i jego przetwory niezastąpionym źródłem wapnia w racjonalnym żywieniu. *Przegl. Mlecz.*, 2001, **2**, 62-64.
- [7] Jakubczyk E., Skarżyńska M.: Wapń w mleku i produktach mlecznych. *Nowa Medycyna*, 1997, **9**, 25-28.
- [8] Jędrzejczyk H.: Żywność do stosowania w profilaktyce i terapii zrzesotnienia kości (osteoporozy). *Żywn. Żyw. Zdrowie*, 1999, **2**, 210-214.

- [9] Kitlas M., Ziarno M.: Próba wzbogacenia serów twarogowych w wapń. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **3 (32), Supl.**, 79-88.
- [10] Krejpcio Z., Czarnocińska J., Kolanko M., Gawęcki J., Wójciak R.W., Filipowski P., Wiśniewska J.: Ocena bioprzyswajalności wapnia z soli mleczanowej w warunkach jego zróżnicowanej podaży z dietą. *Żyw. Człow. Metab.*, 2000, **2**, 184-185.
- [11] Krześniak J., Rutkowska U.: Współczesne poglądy na wzbogacanie produktów spożywczych w wapń. *Żyw. Człow. Metab.*, 1995, **2**, 192-203.
- [12] Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B.: Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2003, s. 24-29.
- [13] Labin-Goldscher R., Edelstein S.: Calcium citrate: a revised look at calcium fortification. *Food Tech.*, 1996, **50 (6)**, 96-98.
- [14] Martin J.H., Zullo P.A.: Methods for increasing calcium in cottage cheese. *Cultured Dairy Products J.*, 1991, **8**, 11-18.
- [15] Pijanowski E.: *Zarys chemii i technologii mleczarstwa*. Wyd. PWRiL, Warszawa 1984, tom I, s. 79, 96, 109-110.
- [16] Pijanowski E., Gawel J.: *Zarys chemii i technologii mleczarstwa*. Wyd. PWRiL, Warszawa 1986, tom III, s. 23, 26-28, 249-253.
- [17] Poznański S., Rymaszewski J., Kornacki K., Śmietana Z., Bednarski W.: Technologia produkcji twarogów ze wszystkich białek mleka metodą termiczno-wapniową. *Kwartalny Dodatek Naukowy Przegl. Mlecz.*, 1974, **1**, 5-7.
- [18] Reykdal O., Lee K.: Validation of chemical measures of calcium with bioassay of calcium-fortified cottage cheese. *Food Chemistry*, 1993, **47 (2)**, 195-200.
- [19] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 19 grudnia 2002 r. w sprawie substancji wzbogacających dodawanych do żywności i warunków ich stosowania. *Dz. U.* 2003. Nr 27, poz. 237.
- [20] Rutkowski A. (red.): *Substancje dodatkowe i składniki funkcjonalne żywności*. Wyd. Agro Food Technology, Czeladź 1997, s. 63, 105-106.
- [21] Shelef L.A., Ryan R.J.: Calcium supplementation of cottage cheese. *J. Dairy Sci.*, 1988, **71 (10)**, 2618-2621.
- [22] Vyas H.K., Tong P.S.: Effect of calcium source and level on the heat stability of reconstituted skim milk powder. *Proc. Annual Meeting and Food Expo, California 2002*, [ift.confex.com/ift/2002/techprogram/paper\\_13761.htm](http://ift.confex.com/ift/2002/techprogram/paper_13761.htm).
- [23] Weaver C.M.: Calcium in food fortification strategies. *Int. Dairy J.*, 1998, **8**, 443-449.
- [24] Wong N.P., La Croix D.E., Mattingly W.A., Vestal J.H., Alford J.A.: The effect of manufacturing variables on the mineral content of cottage cheese. *J. Dairy Sci.*, 1976, **59 (1)**, 41-44.
- [25] Youself A.E., Rusli M.: Modification of starter culture for production of calcium fortified yogurt. *Cult. Dairy Prod. J.*, 1995, **30 (4)**, 20, 22-25.
- [26] Zdziennicka D., Mączyńska D.: Mleczan wapnia w produkcji soków owocowych. *Przem. Spoż.*, 1998, **6**, 38-39.
- [27] Ziajka S. (red.): *Mleczarstwo, zagadnienia wybrane*, Wyd. ART, Olsztyn 1997, tom I, s. 102, 104, tom II, s. 190-197.
- [28] Ziarno M., Kitlas M.: Badania nad wzbogacaniem serów twarogowych w wapń z użyciem chlorku wapnia, *Przegl. Mlecz.* 2002, **7**, 323-325.

**THE IMPACT OF THE CALCIUM SALTS ADDITION ON THE STABILITY OF MILK USED  
IN THE COTTAGE CHEESE PRODUCTION**



## S u m m a r y

One of the effective ways to increase calcium level in cottage cheese can be the addition of calcium salts to the processing milk prior to its heat treatment (pasteurization). The objective of this investigation was to determine the impact of different calcium salts added on the heat stability and some physicochemical properties of processing milk used to manufacture cottage cheese. It was stated that water-soluble calcium salts added to the processing milk increased its acidity. The milk fortified by this measure showed a decrease in its heat stability, and, furthermore, milk proteins precipitated during its re-pasteurization. The highest quantity of water soluble salts added that did not cause the precipitation of proteins during the re-pasteurization was the addition of 0.15% anhydrous calcium chloride; thanks to this addition, the calcium content in the processing milk was increased by 55 mg%. An additional test for heat stability of milk proteins was carried out and its results indicated that with regard to milk proteins it was safer/more favorable to add 35 mg% of calcium (added in the form of a calcium chloride) or 20 mg% calcium (added in the form of other water-soluble calcium salts). The addition of water-insoluble calcium salts (calcium citrate or calcium carbonate) made it possible to distinctly increase the calcium level in processing milk without the negative effect of precipitating proteins. By adding even 5% of those calcium salts there was caused no decrease in the heat stability, and the protein coagulation during the milk re-pasteurization did not occur. It was determined that the incorporation of various calcium salts combinations into the processing milk provided higher calcium levels compared with single calcium salts added. When 63 mg% of calcium (in the form of calcium citrate) and 20 mg% of calcium (calcium lactate) were simultaneously added to the processing milk, the milk fortification results were improved (the calcium level rose by 83 mg%) if compared with the effect of adding single water-soluble calcium salts. The application of the mixes of salts as indicated above did not cause the precipitation of proteins.

**Key words:** calcium, calcium salts, processing milk, cottage cheese, fortification. ☒

HANNA GIRYN, BARBARA SZTEKE, KRYSZYNA SZYMCZYK

**WPLYW PROCESU TECHNOLOGICZNEGO I PRZECHOWYWANIA  
NA ZAWARTOŚĆ KWASÓW ORGANICZNYCH  
W ZAGĘSZCZONYCH SOKACH JABŁKOWYCH**

Streszczenie

Celem pracy było określenie składu kwasów organicznych (profilu) w sokach jabłkowych, uzyskanych w różnych okresach kampanii produkcyjnej i w toku różnych procesów technologicznych, a także w trakcie przechowywania gotowych wyrobów. Zawartość kwasów organicznych w sokach jabłkowych oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem diodowym UV-VIS, w kolumnie C18. Z upływem trwania kampanii przerobowej profil kwasów ulegał zmianom, a zawartość kwasów ogółem w sokach zmniejszała się. Przy prawidłowym przebiegu procesu produkcyjnego zawartość kwasów w soku jabłkowym z poszczególnych etapów wahała się w nieznacznym stopniu. Zaobserwowano różnice w poziomie analizowanych kwasów, zależne od sposobu prowadzenia procesu technologicznego: metodą „tradycyjną” oraz metodą z obróbką enzymatyczną wycieków (upłynnianiem). Przechowywanie zagęszczonych soków (1–2 lata) powodowało niewielkie obniżenie zawartości kwasu jabłkowego (ok.2–14%) i kwasów ogółem (ok.2,5–10%) oraz podwyższenie wartości pH i ekstraktu.

**Słowa kluczowe:** soki jabłkowe, kwasy organiczne, HPLC.

**Wstęp**

W ostatnich latach jakość produktów spożywczych związana z ich składem chemicznym nabiera coraz większego znaczenia nie tylko z żywieniowego punktu widzenia. Skład chemiczny jest również potwierdzeniem autentyczności produktu, gwarantującej, że nie został on zafałszowany oraz jest wskaźnikiem jego jakości. Istotne znaczenie przy określaniu jakości produktów odgrywa znajomość cech charakterystycznych użytego surowca. Dotyczy to również soków.

W odniesieniu do soków jabłkowych jednym ze wskaźników jakości może być jakościowy i ilościowy skład (profil) kwasów organicznych, licznie występujących w jabłkach [11].

Profil kwasowy soków jabłkowych może być zależny m.in. od: odmiany owoców, klimatu i miejsca pochodzenia jabłek, czasu i warunków ich przechowywania przed procesem przetwórczym, wpływu samego procesu produkcyjnego oraz czasu i warunków przechowywania gotowego soku jabłkowego. W badanych sokach z jabłek stwierdzano znaczące różnice w zawartości kwasu jabłkowego, cytrynowego, chinowego, mlekowego w całkowitej ilości kwasów oraz wartości pH i stosunku kwasu jabłkowego do cytrynowego [3, 7, 11, 12]. Istotnym wyróżnikiem jakości soków jabłkowych może być kwas fumarowy; w handlowych sokach oznaczano wyższe stężenie tego kwasu niż w sokach przygotowanych z owoców świeżych w warunkach laboratoryjnych. Podwyższona zawartość kwasu fumarowego może sugerować zafałszowanie soków przez dokwaszenie dodatkiem kwasu fumarowego lub syntetycznego kwasu jabłkowego, którego domieszką jest kwas fumarowy [14]. Istnieją również przypuszczenia, że wysoki poziom kwasu fumarowego może wiązać się ze zmianami zachodzącymi w trakcie procesów przetwórczych, a także wskazywać na złą jakość surowca (zepsucie jabłek pod wpływem mikroorganizmów) [1, 6 - 8, 17, 18].

Zagęszczony sok jabłkowy jest ważnym produktem przemysłu owocowo-warzywnego. Rosnąca konkurencja i wymagania odbiorców skłaniają producentów do poprawy jakości i kontroli cech jakościowych (w tym kwasów organicznych) wytwarzanych soków.

Polskie Normy limitują zawartość kwasu mlekowego, ale nie uwzględniają zawartości kwasu fumarowego w sokach jabłkowych. Jednak kontrahenci z krajów Unii Europejskiej stawiając wysokie wymagania jakościowe, dopuszczają zawartość tego kwasu na poziomie 5 mg/l soku o ekstrakcie 11,2%, zgodnie z wymaganiami uzupełniającymi AIJN [13, 15].

Piśmiennictwo fachowe dotyczące składu fizykochemicznego zagęszczonych soków jabłkowych jest ograniczone. Jest niewiele informacji na temat wpływu surowca, w tym przechowywania jabłek i wpływu procesów przetwórczych na profil kwasów organicznych w sokach. Informacji dotyczących polskich soków jabłkowych jest również niewiele [10, 13, 16].

Celem pracy było porównanie składu chemicznego krajowych zagęszczonych soków jabłkowych, ustalenie wpływu terminu produkcji soku, jednostkowych procesów technologicznych oraz przechowywania na profil kwasów organicznych w krajowych zagęszczonych sokach jabłkowych.

## **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły:

- surowiec – jabłka przemysłowe przeznaczone do produkcji (7 próbek),
- soki jabłkowe pobierane w trakcie procesu produkcyjnego z wybranych, kolejnych etapów technologicznych w pięciu zakładach przemysłowych (37 próbek),
- zagęszczone soki jabłkowe pobierane okresowo z jednego zakładu w czasie trwania pełnej kampanii przerobowej (12 próbek),
- zagęszczone soki jabłkowe wyprodukowane w różnych zakładach przemysłu owocowo-warzywnego, przechowywane w warunkach chłodniczych w temp. 4°C (12 próbek).

Badania kwasów organicznych w sokach prowadzono metodą HPLC przy wykorzystaniu chromatografu LDC Analytical współpracującego z diodowym detektorem UV-VIS Spectra System UV6000LP. Badane soki rozcieńczano wodą dziesięciokrotnie i filtrowano przez filtr nylonowy 0,45 µ. Zagęszczone soki jabłkowe rozcieńczano uprzednio do soku odtworzonego o ekstrakcie 12,1%. Rozdział chromatograficzny prowadzono 0,125M buforem fosforanowym o pH 2,9 w kolumnie C<sub>18</sub> 5 µm, 4,6 mm x 25 cm, przepływ 0,6 ml/min, a detekcję przy długości fali 212 nm. Wzorce kwasów przygotowano w dejonizowanej wodzie w zakresie stężeń 0,045 mg/l – 1,37mg/l.

W celu scharakteryzowania opracowanej metody wyznaczono podstawowe parametry: dokładność (odzysk), zależnie od rodzaju oznaczanego kwasu wynosi od 97,3% (kwas bursztynowy) do 106% (kwas chinowy), a granica wykrywalności od 0,04 mg/l (kwas fumarowy) do 5 mg/l (kwas chinowy i mlekowy). W badanych sokach jabłkowych oznaczano kwasy: jabłkowy, chinowy, szikimowy, cytrynowy, fumarowy, mlekowy i bursztynowy (te dwa ostatnie kwasy stwierdzano sporadycznie). Oprócz wymienionych kwasów stwierdzano również śladowe ilości innych kwasów, których nie oznaczano.

W każdej próbce soku oznaczano wartość pH oraz ekstrakt refraktometryczny. W celu ułatwienia porównań, zawartość kwasów we wszystkich sokach jabłkowych przeliczano na sok odtworzony o ekstrakcie 12,1%.

## **Wyniki badań i dyskusja**

Kampania produkcji soków jabłkowych w Polsce rozpoczyna się w sierpniu. W trakcie całej kampanii (aż do wiosny) do przerobu dostarczane są owoce niejednorodne odmianowo, określane jako jabłka przemysłowe. Są to często jabłka deserowe, o różnym stopniu dojrzałości w tym tzw. „spady” i jabłka pochodzące z przechowalni. Przy produkcji zagęszczonych soków w trakcie kampanii przerabiany jest różnorodny surowiec zazwyczaj bez celowej selekcji.

Przeprowadzone badania w jednym z zakładów, w trakcie kampanii przerobowej, wykazały, że zagęszczone soki jabłkowe charakteryzowały się zmienną wartością kwasowości czynnej pH od 2,91 do 3,29 i zawierały zróżnicowaną zawartość kwasów ogółem oraz zmienny procentowy udział poszczególnych kwasów w zależności od terminu produkcji soku (tab. 1).

Tabela 1

Zawartość kwasów organicznych w zagęszczonych sokach jabłkowych\* z kampanii produkcyjnej 2000/2001 r. w Zakładzie A.  
The content of organic acids in concentrated apple juices produced during a processing season 2000/2001 in a Factory A.

Miesiąc produkcji Month of production	Chinowy Quinic		Jabłkowy Malic		Szikimowy Shikimic		Fumarowy Fumaric		Cytrynowy Citric		Suma kwasów Total acids	pH	Ekstrakt Extract
	[mg/l]	Udział Share [%]	[mg/l]	Udział Share [%]	[mg/l]	Udział Share [%]	[mg/l]	Udział Share [%]	[mg/l]	Udział Share [%]	[mg/l]		[%]
Sierpień/August	1520	14,0	9150	84,4	34,8	0,3	1,5	0,01	133	1,2	10839	2,96	72,5
Sierpień/August	687	5,5	11570	92,6	34,2	0,3	1,6	0,01	205	1,6	12497	2,91	66,0
Sierpień/August	1073	11,8	7900	86,8	22,8	0,3	1,5	0,02	103	1,1	9100	3,01	66,4
Wrzesień/September	835	10,5	7060	88,6	22,0	0,3	0,9	0,01	53	0,7	7970	3,06	71,8
Wrzesień/September	702	8,8	7190	90,3	21,6	0,3	1,2	0,01	50	0,6	7965	3,07	71,9
Październik/October	569	8,8	5840	90,3	17,7	0,3	0,7	0,01	42	0,6	6468	3,20	66,9
Październik/October	778	7,3	9700	91,5	14,9	0,1	0,7	0,01	106	1,0	10599	3,15	73,9
Listopad/November	703	11,4	5380	87,2	15,4	0,3	0,9	0,02	69	1,1	6168	3,22	73,8
Listopad/November	805	13,5	5080	85,3	14,9	0,3	1,1	0,02	55	0,9	5955	3,20	66,6
Grudzień/December	575	11,9	4210	86,9	11,9	0,3	0,5	0,01	45	0,9	4842	3,29	66,6

cd. tab. 1.

Styczeń/January	676	12,5	4720	87,3	12,5	0,2	n.s	0,00	n.s	0,0	5408	3,24	72,8
Marzec/March**	656	9,8	5730	85,9	18,5	0,3	n.s	0,00	171	2,6	6669	3,20	68,8
min.	569	5,5	4210	84,4	11,9	0,1	n.s	0,00	n.s	0,0	4842	2,91	66,0
max.	1520	14,0	11570	92,6	34,8	0,3	1,6	0,02	205	2,6	12498	3,29	73,9
Wartość średnia Mean value	798	10,5	6961	88,1	20,1	0,26	0,9	0,01	86	1,0	7874	3,13	69,8
SD	264	2,5	2254	2,6	7,6	0,04	0,5	0,01	59	0,6	2420	0,12	3,21
CV [%]	33	24	32	3	38	17	59	53	69	60	31	3,87	4,6

\*Zawartość w soku odtworzonym o ekstrakcie refraktometrycznym 12,1% / Contents in a juice normalized to the extract of 12,1%;

ns < granica oznaczenia ilościowego, kwasy: mlekowy < 20 mg/l, fumarowy < 0,2 mg/l, chinowy < 50 mg/l, cytrynowy < 25 mg/l, bursztynowy < 20 mg/l,

ns < quantitative determination limits of the following acids: lactic acid < 20 mg/l, fumaric acid < 0,2 mg/l, quinic acid < 50 mg/l, citric acid < 25 mg/l, succinic acid < 20 mg/l;

\*\*Obecność kwasu mlekowego w ilości 93,4 mg/l (udział 1,4%) stwierdzono tylko w próbce soku pobranej w marcu, nie stwierdzono kwasu bursztynowego,

\*\* Lactic acid amounting to 93,4 mg/l (1,4%) was detected only in a sample taken in March, succinic acid was not detected at all.

W ogólnej ilości oznaczonych kwasów, od 84,4 do 91,5% zawartości przypada na kwas jabłkowy (największy udział procentowy stwierdzono we wrześniu i październiku), następnie chinowy do 14,2% i cytrynowy do 2,6%. Na początku kampanii zagęszczone soki jabłkowe charakteryzowały się najwyższą zawartością wszystkich kwasów. Z upływem czasu kampanii, od sierpnia do października łączna zawartość kwasów malała. W październiku wystąpił jednorazowy wzrost zawartości kwasów ogółem, szczególnie jabłkowego i cytrynowego, a następnie znaczny spadek w końcowym okresie kampanii, w tym głównie zawartości kwasu jabłkowego. Jest to związane z przetwarzaniem na początku kampanii surowca z większym udziałem jabłek niedojrzałych, o czym świadczą duże zawartości kwasu chinowego, a także jabłek o wyższej kwasowości jak np. Antonówka i Bojken. W późniejszym okresie przetwarzane są natomiast jabłka odmian deserowych oraz pochodzące z przechowalni. Sumaryczna zawartość kwasów w soku wyprodukowanym w sierpniu wynosiła 12498 mg/l (w tym jabłkowego 11570 mg/l – 92,6%), w grudniu 4843 mg/l (w tym jabłkowego 4210 mg/l – 86,9%), a w marcu 6669 mg/l (w tym jabłkowego 5730 mg/l – 85,9%). W analizowanych próbkach zagęszczonych soków jabłkowych wykrywano sporadycznie małe ilości kwasu fumarowego. Nie stwierdzano kwasu bursztynowego i z jednym wyjątkiem, w marcu, obecności kwasu mlekowego.

W celu określenia wpływu jednostkowych procesów technologicznych na profil kwasów w sokach jabłkowych przeprowadzono badania w kilku zakładach produkcyjnych. W każdej serii badań zanalizowano również soki wykonane w warunkach laboratoryjnych z jabłek (surowiec) przeznaczonych do przemysłowej produkcji soków. Próbki soków przemysłowych pobierano z linii technologicznych na kolejnych etapach procesu produkcyjnego i oznaczano w nich zawartość kwasów (tab. 2).

Zawartość sumy kwasów, a także poszczególnych kwasów w sokach z kolejnych etapów prowadzonych procesów (w zakładach od A do E/1) i w uzyskanym zagęszczonym soku jabłkowym podlegała nieznacznym wahaniom (po przeliczeniu na sok odtworzony o ekstrakcie 12,1%) (tab. 2). Wyjątek stanowi proces produkcyjny, do którego włączono dodatkowy etap upłynniania (zakład E/2). W tym procesie uzyskiwanie soku było dwustopniowe. Po oddzieleniu pierwszego soku, wytloki zmieszane z wodą poddawano obróbce enzymatycznej – upłynnianiu. Następnie soki z obu etapów łączono, poddawano filtracji i zagęszczaniu. W etapie upłynniania ogólna zawartość kwasów w pobranym soku była znacznie niższa, odznaczał się on także niskim ekstraktem 5,0% i nieco niższą wartością pH. Połączony sok z dwóch etapów po zagęszczeniu charakteryzował się niższą zawartością kwasów ogółem, szczególnie jabłkowego, w porównaniu z sokiem surowym i niższą wartością pH. W metodzie tradycyjnej zawartość ta jest zbliżona lub nieco wyższa. Zagęszczony sok, pomimo różnic w sposobie obróbki enzymatycznej odpowiadał standardom RSK i AIJN.



Tabela 2

Wpływ procesu produkcyjnego na zawartość kwasów organicznych w sokach jabłkowych z różnych zakładów w 2001 roku.  
The effect of processing on the organic acid content in apple juice produced in different factories during a processing season 2001.

Zakład Factory	Próbki soków Samples of juices	Chinowy Quinic	Jabłkowy Malic	Szikimowy Shikimic	Mlekowy Lactic	Fumarowy Fumaric	Cytrynowy Citric	Suma kwasów Total acids	pH	Ekstrakt Extract
		[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]		[%]
Zakład A Factory A Sierpień August	Jabłka – surowiec** Apples - raw material	364	10880	22,1	n.s	n.s	120	11386	3,1	11,6
	Sok surowy / Raw juice	379	9070	25,9	279	4,1	113	9872	4,2	9,2
	Dearomatyzacja Dearomatization	571	9000	26,0	54	1,3	120	9773	3,5	11,0
	Depektynizacja Depectinization	628	9450	26,7	n.s	1,6	115	10268	3,2	12,1
	Ultrafiltracja Ultrafiltration	514	9980	28,8	n.s	1,6	174	10699	3,3	11,6
	Zagęszczony sok Concentrated juice	687	11570	34,2	n.s	1,6	205	12498	2,9	66,0
Zakład B/1 Factor y B/1 Wrzesień September	Jabłka- surowiec** Apples - raw material	182	6150	11,9	n.s	n.s	70	6414	2,9	13,6
	Sok surowy / Raw juice	292	5990	20,1	53	1,9	103	6460	3,7	10,6
	Dearomatyzacja Dearomatization	222	6570	17,3	58	1,4	70	6937	2,8	14,2
	Depektynizacja Depectinization	253	6620	19,1	81	1,7	69	7044	2,8	14,1
	Ultrafiltracja Ultrafiltration	268	6320	18,8	n.s	2,1	77	6686	2,9	13,6
	Zagęszczony sok Concentrated juice	248	6300	23,2	n.s	2,6	124	6698	3,0	70,8

Zakład B/2 Factory B/2 Październik/ October	Jabłka-surowiec** Apples - raw material	141	6790	13,6	n.s	n.s	89	7033	3,2	12,4
	Sok surowy / Raw juice	207	6110	14,3	175	2,3	83	6591	3,7	10,9
	Dearomatyzacja Dearomatization	263	6310	15,9	40	0,7	61	6690	2,9	13,6
	Depektynizacja Depectinization	232	6440	16,9	45	0,7	75	6810	3,4	11,9
	Ultrafiltracja Ultrafiltration	130	6670	12,4	n.s	0,7	73	6886	3,4	11,7
	Zagęszczony sok Concentrated juice	160	6890	15,3	n.s	0,9	89	7155	3,1	70,6
Zakład C Factory C Październik October	Jabłka-surowiec** Apples - raw material	125	7700	11,5	n.s	n.s	76	7913	2,9	12,9
	Sok surowy / Raw juice	275	6110	14,9	38	1,2	105	6544	3,2	12,4
	Pasteryzacja Pasteurization	217	6220	14,3	27	1,2	79	6559	3,5	11,6
	Depektynizacja Depectinization	205	6470	15,4	26	1,3	107	6825	3,4	12,0
	Filtracja / Filtration	216	6180	14,2	n.s	1,6	97	6509	3,5	11,6
	Zagęszczony sok Concentrated juice	197	6350	17,4	n.s	1,1	46	6611	3,1	67,2
Zakład D Factory D Październik October	Jabłka-surowiec** Apples – raw material	270	7190	16,6	n.s	n.s	80	7557	3,1	12,6
	Sok surowy / Raw juice	126	6420	14,3	n.s	1,1	85	6646	4,7	8,7
	Prasa / Pressing	159	6540	13,6	n.s	1,1	92	6806	3,4	11,6
	Depektynizacja Depectinization	174	6450	14,2	n.s	1,5	119	6759	3,3	14,7
	Filtracja / Filtration	175	6480	14,4	n.s	1,4	64	6735	3,2	16,1
	Zagęszczony sok Concentrated juice	178	6450	16,6	n.s	1,8	76	6722	3,0	65,2

cd. tab. 2.

Zakład E/1 Factory E/1 Wrzesień September	Jabłka-surowiec** Apples – raw material	134	6015	14,1	n.s	0,9	44	6208	3,2	11,7
	Sok surowy / Raw juice	208	6330	13,8	n.s	1,0	72	6625	3,6	9,5
	Dearomatyzacja Dearomatization	159	6301	15,4	n.s	0,9	63	6540	3,4	11,7
	Depektynizacja Depectinization	159	5998	12,5	n.s	0,6	64	6234	3,4	11,1
	Ultrafiltracja Ultrafiltration	222	5791	12,2	80	7,2	57	6171	3,4	11,0
	Zagęszczony sok Concentrated juice	180	5926	14,1	70	6,3	58	6255	3,2	67,1
Zakład E/2 Factory E/2 Wrzesień September	Jabłka-surowiec** Apples – raw material	n.s	6520	9,1	n.s	n.s	46	6575	3,1	13,6
	Sok surowy / Raw juice	n.s	6960	14,3	34	1,1	86	7095	3,3	12,0
	Dearomatyzacja Dearomatization	n.s	6910	15,5	34	0,9	88	7049	3,3	15,0
	Depektynizacja Depectinization	n.s	7130	15,7	60	0,8	112	7318	3,3	14,1
	Uplynnianie wytlóków Pomace liquefaction	n.s	3871	16,0	n.s	1,5	n.s	3889	3,1	5,0
	Ultrafiltracja Ultrafiltration	n.s	5640	17,8	n.s	2,5	73	5733	3,2	8,0
	Zagęszczony sok Concentrated juice	n.s	5620	16,2	n.s	2,0	109	5747	3,0	60,0

\*Zawartość przeliczono na sok odtworzony o ekstrakcie 12,1% / \*The content levels were calculated with regard to juice normalized to the extract of 12,1%;

\*\*Sok wykonany w warunkach laboratoryjnych / \*\*Juice produced under the laboratory conditions; ns < granicy oznaczenia ilościowego, kwasy: mlekowy < 20 mg/l, fumarowy < 0,2 mg/l, chinowy < 50 mg/l, cytrynowy < 25 mg/l, bursztynowy < 20 mg/l./ ns < quantitative determination limits, acids: lactic < 20 mg/l, fumaric < 0,2 mg/l, quinic < 50 mg/l, citric < 25 mg/l, succinic < 20 mg/l.

W prawie wszystkich zakładach stwierdzono wyższą zawartość kwasu mlekowego i fumarowego w sokach pobranych z kolejnych etapów produkcji, w porównaniu z sokami uzyskanymi z jabłek przemysłowych w warunkach laboratoryjnych. Zaobserwowano też wahania zawartości tych kwasów między kolejnymi etapami cyklu produkcyjnego. Obecność kwasów mlekowego i fumarowego jest zapewne spowodowana przetwarzaniem surowca gorszej jakości, przy niedostatecznej selekcji jabłek nadgniłych i może świadczyć o skażeniu mikrobiologicznym surowca (niekiedy też linii produkcyjnej – skażenie ultrafiltra w Zakładzie E/1 potwierdzono badaniami mikrobiologicznymi). Zawartość kwasu mlekowego była najwyższa w soku surowym i spadała w trakcie procesu, przy czym obserwowano niekiedy wzrost jego zawartości po depektynizacji i po ultrafiltracji, co mogło być spowodowane warunkami sprzyjającymi rozwojowi mikroorganizmów odpowiedzialnych za wytwarzanie tego kwasu. Podobnie wahała się zawartość kwasu fumarowego, obserwowano też jej wzrost po etapie ultrafiltracji i w zagęszczonym soku.

Z danych literaturowych wynika, że obecność kwasu fumarowego i mlekowego w soku jabłkowym jest ściśle związana z jakością mikrobiologiczną przetwarzanego materiału i jego skażeniem, między innymi szczepami bakterii *Lactobacillus* i *Rhizopus* [1] lub drożdży [17].

Trifiro [17] uważa, że kwas fumarowy może być bardzo interesującym wskaźnikiem jakości higienicznej soków, gdyż nie jest on eliminowany podczas procesu odparowywania.

W tab. 3. przedstawiono wpływ przechowywania na zawartość kwasów w 12 próbkach przechowywanych zagęszczonych soków jabłkowych.

Zagęszczony sok jabłkowy, analizowany bezpośrednio po wyprodukowaniu, charakteryzował się zawartością ekstraktu od 64,9 do 71,7% i wartością pH od 2,90 do 3,29. Zawartość kwasu jabłkowego w tych sokach wynosiła od 5,69 g/l do 11,78 g/l, chinowego od 101,96 mg/l do 792 mg/l i cytrynowego od 54,6 mg/l do 173,3 mg/l. Po rocznym i dwuletnim przechowywaniu próbek soków w warunkach chłodniczych stwierdzono zarówno wzrost wartości ekstraktu – o 1,6% po roku, a po dwóch latach o 4%, jak i pH – w tym przypadku wzrost nie przekroczył 7,4% kwasowości czynnej początkowej. Jednak oba te parametry wykazywały wartości w granicach stwierdzanych w przypadku soków badanych bezpośrednio po produkcji. W trakcie składowania obserwowano zmniejszenie ogólnej zawartości kwasów, co można tłumaczyć zachodzącymi połączeniami kwasów organicznych z produktami reakcji brunatnienia [3], przy czym dotyczyło to głównie kwasu jabłkowego i wynosiło od 2,1% do 9,5% po roku i do 14,3% po dwóch latach. Zawartość wszystkich kwasów i ich udziały procentowe podlegały pewnym wahaniom (tab. 3, 4), podobnie jak to zaobserwowano w przypadku jabłek przechowywanych w chłodni [5, 6]. Zawartość

kwasu chinowego, cytrynowego i fumarowego wykazywała w czasie rocznego przechowywania tendencję spadkową, a po dwóch latach wzrostową; poziom kwasu szikimowego zazwyczaj wzrastał. Zaobserwowane zmiany wyróżników charakteryzujących zagęszczony sok jabłkowy są niewielkie.

Tabela 3

Wpływ przechowywania zagęszczonych soków jabłkowych na profil kwasów. \*

The effect of storing the concentrated apple juice on the composition of acids contained in it.

Próbka Sample	Przechowyw. Period of storage	Chinowy Quinic [mg/l]	Jabłkowy Malic [mg/l]	Szikimowy Shikimic [mg/l]	Fumarowy Fumaric [mg/l]	Cytrynowy Citric [mg/l]	Suma kwasów Total acids [mg/l]	pH	Ekstrakt Extract [%]
1	0	202	5690	15,6	0,65	63,9	5973	3,19	66,6
	1 rok / 1 year	186	5570	16,8	1,18	45,7	5820	3,35	67,4
Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-8,1	-2,11	8,0	81,5	-28,5	-2,6	5,02	1,2
2	0	197	6350	17,5	1,13	92,0	6657	3,14	67,2
	1 rok / 1 year	171	6020	19,4	0,84	36,8	6248	3,35	67,6
Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-13,0	-5,2	11,1	-25,7	-60,0	-6,2	6,69	0,6
3	0	153	6890	15,2	0,93	88,7	7148	3,05	70,6
	1 rok / 1 year	139	6290	16,4	0,58	43,3	6489	3,21	71,2
Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-9,2	-8,7	7,7	-37,6	-51,2	-9,2	5,25	0,85
4	0	169	6450	16,9	1,35	71,8	6709	3,15	65,2
	1 rok / 1 year	168	6200	18,5	4,32	115,9	6507	3,38	65,6
Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-0,5	-3,9	9,6	220	61,5	-3,0	7,3	0,61
5	0	170	6310	16,2	1,08	59,7	6557	3,06	70,4
	1 rok / 1 year	149	5710	17,3	0,34	57,6	5934	3,25	71,2
Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-12,0	-9,5	6,7	-68,5	-3,39	-9,5	6,21	1,14
6	0	102	7650	17,3	1,38	54,6	7825	3,29	66,8
	1 rok / 1 year	72,0	7180	13,5	1,67	18,9	7286	3,36	67,5
Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-29,0	-6,1	-22,1	21,0	-65,4	-6,9	2,13	1,05
7	0	208	6270	21,7	1,71	56,1	6558	2,98	70,8
	1 rok / 1 year	199	5940	22,5	0,92	36,2	6199	3,2	71,3
Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-4,3	-5,3	3,6	-46,2	-35,5	-5,5	7,38	0,71

8	0	213	6900	19,6	1,08	83,1	7217	2,99	71,7
	1 rok / 1 year	199	6550	24,7	1,33	54,3	6830	3,18	72,6

cd. tab. 3.

Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-6,5	-5,1	26,0	23,2	-34,6	-5,4	6,35	1,26
9	0	160	6240	16,5	1,51	60,2	6479	3,06	71,4
	1 rok / 1 year	151	5710	17,7	0,87	33,4	5913	3,27	72,4
Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-6,0	-8,5	7,5	-42,4	-44,5	-8,7	6,86	1,4
10	0	486	10010	18,9	0,65	84,2	10600	2,98	68,9
	1 rok / 1 year	453	9430	19,7	1,25	102	10006	3,1	69,8
	2 lata / 2 years	854	9090	20,9	4,01	63,6	10032	3,17	71,6
Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-6,8	-5,8	4,4	92,3	21,5	-5,6	4,03	1,31
	po 2 latach after 2 years	76,0	-9,2	10,7	517	-24,5	-5,4	6,38	3,92
11	0	506	11780	40,4	2,37	173	12503	2,9	69,3
	1 rok / 1 year	521	11320	38,1	2,51	142	12024	2,97	70,4
	2 lata / 2 years	495	11040	32,2	0,00	230	11797	3,01	71,2
Zmiany Changes [%]	Po 1 roku after one year	2,9	-3,9	-5,6	5,90	-17,8	-3,8	2,41	1,59
	po 2 latach after 2 years	-2,3	-6,3	-20,2	-100	32,7	-5,6	3,79	2,74
12	0	792	8900	16,7	0,30	94,2	9803	2,96	64,8
	1 rok / 1 year	769	8430	17,8	0,92	86,3	9304	3,09	65,6
	2 lata / 2 years	936	7630	18,9	2,05	205	8791	3,18	67
Zmiany Changes [%]	po 1 roku after one year	-2,9	-5,3	6,7	207	-8,4	-5,1	4,39	1,23
	po 2 latach after 2 years	18,0	-14,3	13,4	583	117	-10,3	7,43	3,4

\*Zawartość w soku odtworzonym o ekstrakcie 12,1%

\*Content levels in juice normalized to the extract of 12,1.

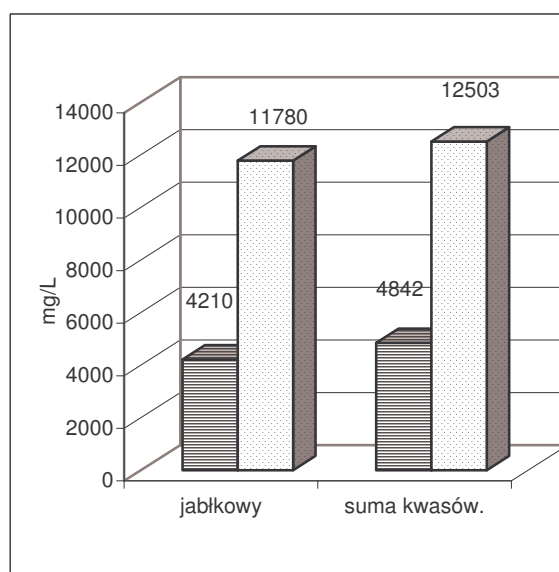
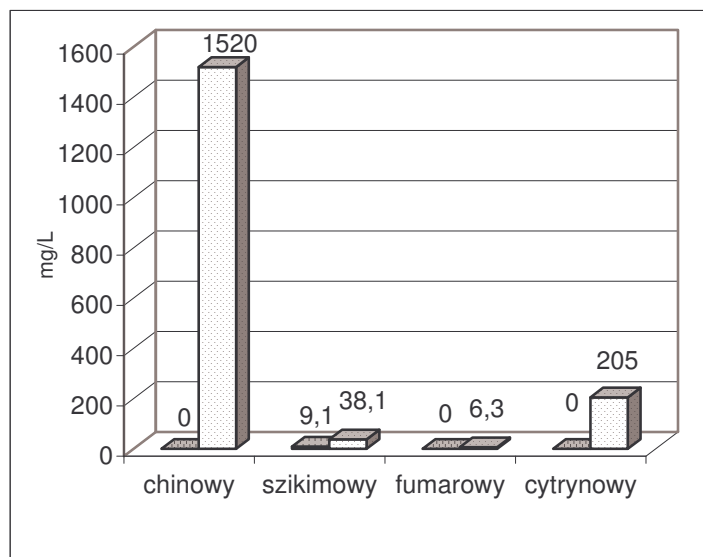
Przeprowadzone badania wskazują, że zawartości kwasów organicznych ogółem, jak i poszczególnych kwasów w sokach jabłkowych wykonanych w warunkach przemysłowych zawierają się w szerokim zakresie. Zakresy zawartości kwasów (min. i maks.) w analizowanych zagęszczonych sokach jabłkowych (w soku odtworzonym do wartości 12,1%) z uwzględnieniem soków świeżych i przechowywanych przedstawiono na rys. 1. i 2.

Tabela 4

Wpływ przechowywania na zmiany udziału procentowego kwasów w zagęszczonym soku jabłkowym.\*  
The effect of storing the juice on the percentage of acids content in the concentrated apple juice.

Okres przechowyw. Period of storage	Próbka Sample	Zmiany udziału kwasów [%] / Changes in the percentage of acid content				
		Chinowy Quinic	Jabłkowy Malic	Szikimowy Shikimic	Fumarowy Fumaric	Cytrynowy Citric
1 rok*	1	-0,19	+0,4	+0,03	+0,01	-0,29
1 rok	2	-0,23	+1,0	+0,05	-0,004	-0,79
1 rok	3	+0,00	+0,5	+0,04	-0,004	-0,57
1 rok	4	+0,07	-0,8	+0,033	+0,046	+0,71
1 rok	5	-0,08	0,00	+0,04	-0,01	+0,06
1 rok	6	-0,31	+0,70	-0,04	+0,005	-0,44
1 rok	7	+0,04	+0,20	+0,03	-0,011	-0,28
1 rok	8	-0,03	+0,3	+0,09	+0,004	-0,35
1 rok	9	0,07	+0,3	+0,05	-0,009	-0,37
1 rok	10	-0,06	-0,2	+0,02	+0,006	+0,23
2 lata**	10	+3,90	-3,8	+0,03	+0,034	-0,16
1 rok	11	+0,28	-0,1	0,00	+0,002	-0,21
2 lata	11	+0,15	-0,6	-0,05	-0,019	+0,56
1 rok	12	+0,19	-0,2	+0,02	+0,007	-0,03
2 lata	12	+2,56	-4,0	+0,05	+0,017	+1,37

1 rok\* / 1 year; 2 lata\*\* / 2 years.



Rys. 1. Zakres zawartości kwasów organicznych (min - max) w zagęszczonym soku jabłkowym.

Fig. 1. The range of organic acids contents (min-max) in concentrated apple juice.

chinowy / quinic, szikimowy / shikimic, fumarowy / fumaric, cytrynowy / citric, jabłkowy / malic, suma kwasów / total acids.



## Wnioski

1. W sokach jabłkowych uzyskanych w warunkach przemysłowych występuje znaczna rozpiętość zawartości kwasów organicznych. We wszystkich sokach jabłkowych obecne są kwasy: jabłkowy i szikimowy. Obok tych dwóch kwasów, w zdecydowanej większości soków obecne są także kwasy: chinowy i cytrynowy. Nie stwierdzano obecności kwasu bursztynowego.
2. Pod względem ilościowym dominuje kwas jabłkowy. Kwasy: chinowy, cytrynowy i szikimowy występują w ilościach wielokrotnie mniejszych (kwasy chinowy i cytrynowy o ok. rząd wielkości, a kwas szikimowy o ok. dwa rzędy wielkości).
3. Zawartość kwasu mlekowego i kwasu fumarowego (wskaźniki jakości świadczące m.in. o przemianach mikrobiologicznych) w analizowanych próbkach soku wytwarzanego w warunkach przemysłowych nie przekraczała wartości określonych w Kodeksie Praktyki AIJN, z wyjątkiem jednego przypadku skażenia ultrafiltra.
4. Proces technologiczny i przechowywanie zagęszczonych soków jabłkowych w niewielkim stopniu wpływają na profil analizowanych kwasów organicznych w sokach jabłkowych.

*Praca została wykonana w ramach grantu KBN nr 5 PO6G 02117.*

## Literatura


- [1] Acar J., Gokmen V., Taydas E.: An investigation into formation of fumaric acid in apple juice concentrates. *Eur. Food Technol.*, 1999, **209**, 308-312.
- [2] Babsky N.E., Wrolstad R.E., Wurst R.W.: Influence of commercial shipping on the color and composition of apple juice concentrate. *J. Food Quality*, 1989, **12**, 355-367.
- [3] Babsky N.E., Toribio J.L., Lozano J.E.: Influence of storage on the composition of clarified apple juice concentrate. *J. Food Sci.*, 1986, **51**, 64-547.
- [4] Brause A.: Detection of juice adulteration - 1991 perspective. *Fruit Processing*, 1992, **2**, 48-51.
- [5] Drake S., R., Eisele T., A.: Carbohydrate and acid contents of Gala apples and Bartlett pears from regular and controlled atmosphere storage. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3181-3184.
- [6] Fuleki T., Pelayo E., Palaby R.: Carboxylic acid composition of varietal juices produced from fresh and stored apples. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 598-607.
- [7] Hulme A.C., Wooltorton L.S.: Determination and isolation of nonvolatile acids of pome fruits and study of acid changes during storage. *J. Agric. Food Chem.*, 1958, **9**, 150-158.
- [8] Ichas H., Lesińska E.: Zmiany wybranych cech jakościowych surowego soku jabłkowego w toku owocowych kampanii przerobowych. *Prace Inst. i Lab. Bad. Przem. Spoż.*, 1988, **41**, 132-141.
- [9] Karadeniz F., Eksi A.: The correlation of fumaric acid with patulin, L-lactic acid and HMF in apple juice concentrate. *Fruit Processing*, 1997, **12**, 475-478.

- [10] Król B., Kołodziejczyk K., Klewicki R.: Charakterystyka składu kwasów organicznych pitnych soków jabłkowych. Materiały I Sesji Przeglądowej Analityki Żywności, Warszawa 1996, s. 4.
- [11] Lee H., Wrolstad R.E.: Apple juice composition: sugar, nonvolatile acid and phenolic profiles. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1988, **71**, 789-794.
- [12] Mattick L.R., Moyer J.C.: Composition of apple juice. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1983, **66**, 1251-1255.
- [13] Niewiarowicz B.: Wyniki analiz polskiego zagęszczanego soku jabłkowego a wymagania rynku UE. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1989, **10**, 38-40.
- [14] Nagy S.: Economic adulteration of fruit beverages. Fruit Processing, 1997, **4**, 125-131.
- [15] Płocharski W.: Uwarunkowania rozwoju krajowego przemysłu sokowniczego. Mat. Konf. „Problemy w przetwórstwie owocowo - warzywnym”, Warszawa 1997, s. 1-18.
- [16] Podgórska E., Udeh K.O.: Analiza składu cukrów i kwasów organicznych w sokach i koncentratkach jabłkowych w różnych okresach kampanii przerobowej. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2000, **3**, 36-38.
- [17] Trifiro A.: Acid metabolites as markers of yeast spoilage in fruit juices. Fruit Processing, 2000, **9**, 356-362.
- [18] Zyren J., Elkins E.R.: Interlaboratory variability of methods used for detection of economic adulteration in apple juice. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1986, **69**, 672-676.

#### THE EFFECT OF PROCESSING AND STORING ON THE ORGANIC ACID CONTENT IN CONCENTRATED APPLE JUICES

##### S u m m a r y

The HPLC techniques on C<sub>18</sub> with the UV detection were used to study the effect of technology, season of processing and storing on the organic acid contents in and composition of concentrated apple juices. The season of processing influenced the composition and the total content of organic acids. Different technology steps had a low effect on organic acids except for a step of pomace enzymation (liquefaction). Storing the concentrated juices during 1 and 2 year periods at 4°C resulted in the quantity decrease of malic acid (ca 2–14%) and total acids (ca 2,5–10%), whereas the value of pH and the extract increased.

**Key words:** apple juice, acids, HPLC 

MAREK GAJEWSKI, JADWIGA RADZANOWSKA

## SKŁAD CHEMICZNY I JAKOŚĆ SENSORYCZNA KAPUSTY GŁOWIASTEJ W ZALEŻNOŚCI OD JEJ ODMIANY I DAWKI AZOTU STOSOWANEJ W NAWOŻENIU MINERALNYM

### Summary

Badano skład chemiczny kapusty świeżej oraz jej jakość sensoryczną po ukwaszeniu. Czynnikiem różnicującym była odmiana kapusty i dawki azotu stosowane w nawożeniu mineralnym. Doświadczeniem objęto odmiany: Alfama F1, Balaton F1, Galaxy F1, i Hinova F1. Zastosowano dawki azotu: 150, 200, 250 kg·ha<sup>-1</sup>.

Pod względem składu chemicznego w kapuście świeżej oznaczano zawartość ekstraktu, witaminy C, azotanów(V) i suchą masę. Odmiany niewiele różniły się pod względem zawartości witaminy C i ekstraktu, wykazywały natomiast zróżnicowanie pod względem skłonności kumulowania azotanów.

Jakość sensoryczną kapusty kwaszonej oceniano metodą ilościowej analizy opisowej (QDA) oraz w kategoriach jakości konsumenckiej (ocena pożądalności). Do opisanie jakości zastosowano 13 wyróżników, wytypowanych przez zespół ekspertów. Wyniki doświadczenia wskazują, że odmiany różniły się pod względem niektórych wyróżników sensorycznych. Najlepszą jakością sensoryczną charakteryzowała się odmiana Alfama. Istotny wpływ na jakość wywarła również dawka azotu. W przypadku większości odmian najwyższą ocenę ogólną uzyskała kapusta nawożona azotem w dawce 200 kg·ha<sup>-1</sup>. Najniższą ocenę ogólną uzyskała kwaszonka z odmiany Balaton, nawożonej najwyższą dawką azotu. Wraz ze wzrostem dawki azotu wzrastała również zawartość azotanów(V) w główkach. Analiza składowych głównych (PCA) wykazała, że dwie składowe (PC 1 i PC 2) odpowiadały łącznie za 55% zmienności jakości sensorycznej próbek.

**Key words:** azot, jakość sensoryczna, kapusta kwaszona, ilościowa analiza opisowa (QDA).

### Wprowadzenie

Kapusta głowiasta biała (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *alba*) jest w Polsce warzywem bardzo popularnym, spożywanym w różnej postaci, w tym po ukwaszeniu. Odgrywa ona ważną rolę dietetyczną z uwagi na dużą zawartość witaminy C (25–50 mg·100 g<sup>-1</sup>), potasu (225–285 mg·100 g<sup>-1</sup>), kwasów organicznych,

glukozynolanów, białka o korzystnym dla człowieka składzie aminokwasów oraz błonnika pokarmowego [2, 10, 25].

Na jakość kapusty wpływa m.in. nawożenie azotowe. Według zaleceń krajowych, odmiany późne powinno się nawozić azotem w dawce  $240 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  czystego składnika [21], natomiast źródła holenderskie zalecają stosowanie  $300 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  przed sadzeniem i  $50 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  po 5–6 tygodniach od sadzenia rozsady [22]. Wysokie dawki azotu mogą być przyczyną luźnej budowy główek i pogorszenia przydatności kapusty do przechowywania i kwaszenia [20]. Powodują także obniżenie zawartości cukrów i kwasu askorbinowego, natomiast wzrost zawartości azotanów(V) [6, 7, 8, 11, 14]. Według Hatano i wsp. [9], nawożenie azotem w dawce  $600 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  zwiększa zawartość azotanów(V) w kapuście o około 25% w porównaniu z dawką  $300 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Tarata i wsp. [23] podają, że nawożenie wysokimi dawkami azotu ( $400 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) powoduje wzrost zawartości chlorofilu w liściach kapusty o 70–80%.

Kapusta po ukwaszeniu zachowuje swoją wartość odżywczą, a uzyskuje charakterystyczne cechy smakowe. Wytwarzają się nowe substancje, jak acetylocholina [10]. W optymalnych warunkach fermentacji zawartość witaminy C w kapuście może wzrastać o 50% w stosunku do zawartości początkowej [12]. Prawidłowo ukwaszona kapusta powinna spełniać wymagania sensoryczne i fizykochemiczne Polskiej Normy [16]. Barwa krajanki powinna być od białej do szarej z odcieniem żółtawym, zależnie od odmiany. Krajanka powinna być jędrna i chrupka, o zapachu charakterystycznym dla kapusty kwaszonej. Nadmierna kwasowość kiszzonej kapusty jest niepożądana [5]. Jednym z czynników wpływających na jakość kwaszonej kapusty jest odmiana [3, 4]. Najlepiej, gdy odmiana charakteryzuje się jasną barwą, wyrównanym kształtem i wielkością główek, cienkim unerwieniem liści, krótkim głąbem wewnętrznym i korzystnym składem chemicznym, tj. zawartością cukrów powyżej 3%, witaminy C powyżej  $30 \text{ mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , a azotanów(V) poniżej  $750 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Z kapusty o liściach zielonych i małej zawartości cukrów uzyskuje się produkt o ostrym zapachu i gorzkawym smaku. Według Elkner [4], odmiana holenderska Krautprinz F<sub>1</sub> charakteryzuje się wyższą zawartością cukrów i witaminy C, a także niższą zawartością azotanów(V) niż starsza polska odmiana Kamienna Głowa.

W ocenie jakości żywności stosuje się coraz częściej metody sensoryczne. Właściwości sensoryczne warzyw są ważnym elementem ich jakości, decydującym o satysfakcji konsumentów [1]. Do dokładnego scharakteryzowania właściwości sensorycznych warzyw najczęściej wykorzystuje się metodę ilościowej analizy opisowej (Quantitative Descriptive Analysis) [13]. W metodzie tej zakłada się, że smakowitość nie jest pojedynczym atrybutem jakości sensorycznej, lecz kompleksem wielu pojedynczych cech (wyróżników), oddzielnie ocenianych pod względem ich jakości oraz natężenia. W literaturze brak jest prac na temat wpływu dawki azotu na jakość sensoryczną kapusty kwaszonej.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu odmiany kapusty głowiastej oraz dawki azotu stosowanego w nawożeniu mineralnym na zawartość niektórych składników chemicznych decydujących o jakości kapusty oraz na cechy sensoryczne kapusty po ukwaszeniu.

### **Materiał i metody badań**

Doświadczenie przeprowadzono w Katedrze Roślin Warzywnych i Leczniczych SGGW. Materiałem badawczym była kapusta głowiasta biała czterech odmian uprawnych z grupy odmian późnych: Alfama F<sub>1</sub>, Balaton F<sub>1</sub>, Galaxy F<sub>1</sub> i Hinova F<sub>1</sub>. Alfama charakteryzuje się kulistymi, dużymi główkami o białawej barwie. Balaton ma główki odwrotnie jajowate, bardzo zwężłe, średniej wielkości. Galaxy tworzy główki bardzo duże (o masie do 7 kg), szarozielone. Hinova charakteryzuje się główkami średniej wielkości, szarozielonej barwy. W wyborze odmian uwzględniono fakt wzrastającej popularności tych odmian wśród krajowych producentów kapusty.

Kapustę uprawiano na madzie średniej, z rozsady wysadzanej w połowie maja. Jesienią poprzedniego roku zastosowano nawożenie obornikiem w dawce 40 t·ha<sup>-1</sup>. Nawożenie fosforem i potasem (według analizy gleby) zastosowano wiosną, przed sadzeniem rozsady, a nawożenie azotem w formie saletrzaku w dwóch terminach – przed sadzeniem rozsady (1/3 dawki ogólnej), następnie trzy tygodnie po posadzeniu oraz w trzeciej dekadzie lipca. Sumaryczne dawki azotu zróżnicowano według metodyki doświadczenia. Doświadczenie założono w układzie dwuczynnikowym. Czynniki A stanowiła odmiana kapusty (jw.), czynnik B – zastosowana dawka azotu (150, 200, 250 kg·ha<sup>-1</sup> czystego składnika).

Zbiór kapusty przeprowadzono w trzeciej dekadzie października. Kapusta była następnie przechowywana w chłodni w temperaturze 0°C i wilgotności względnej 95% przez cztery miesiące, po czym ukwaszona w kwaszarni w beczkach z tworzywa sztucznego o pojemności 140 dm<sup>3</sup>, zgodnie z zaleceniami Jarczyka i Berdowskiego [10].

Przed ukwaszeniem kapusty, w reprezentatywnych próbkach liści oznaczano zawartość: suchej masy – metodą suszenia w temp. 104°C, ekstraktu – metodą refraktometryczną, witaminy C – metodą Tillmansa [15], azotanów(V) – metodą spektrofotometryczną (aparatem Fiastar, przy długości fali 460 nm) [24]. Oznaczenia wyróżników każdego obiektu doświadczenia wykonywano w czterech powtórzeniach.

Po 10 dniach od ukwaszenia kapustę poddano ocenie sensorycznej metodą ilościowej analizy opisowej QDA (Quantitative Descriptive Analysis), przeprowadzonej według wytycznych PN-ISO [17, 18, 19] w pracowni sensorycznej Katedry Roślin Warzywnych i Leczniczych. Ocenę wykonał przeszkolony zespół 12 osób o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej, w dwóch sesjach ocen. Oceniano 14

wyróżników jakości sensorycznej, wytypowanych we wstępnej dyskusji panelowej, w skali 0–10 pkt (tab. 1).

Tabela 1

Wyróżniki jakości sensorycznej kapusty kwaszonej i odpowiadające im definicje.  
Descriptors used in sensory analysis of sauerkraut and their definitions.

Wyróżnik Descriptor	Definicja Definition	Określenia brzegowe Anchoring points
Wyróżniki zapachu / Odor descriptors		
Zapach ostry / Pungent odor	drażniące wrażenie przy wachaniu	niewyczuwalny – bardzo intensywny
Zapach kwaszonej kapusty Odor of sauerkraut	charakterystyczny zapach świeżo ukwaszonej kapusty	niewyczuwalny – bardzo intensywny
Zapach obcy / Off-odor	zapach nietypowy kwaszonej kapusty	niewyczuwalny – bardzo intensywny
Wyróżniki wyglądu / Appearance descriptors		
Barwa / Color	wizualna ocena intensywności barwy krajanki	białoszara – białokremowa
Połysk / Glossiness	wizualna ocena połysku krajanki	bez połysku – z połyskiem
Wyróżniki tekstury / Texture descriptors		
Twardość / Firmness	opór, jaki stawia próbka podczas gryzienia	mięka – twarda
Chrupkość / Crunchiness	wrażenie odbierane w czasie nadgryzania próbki	mało chrupka – bardzo chrupka
Wyróżniki smakowitości / Flavor descriptors		
Smak kwaśny / Sour taste	smak podstawowy	niewyczuwalny – bardzo intensywny
Smak słony / Salty taste	smak podstawowy	niewyczuwalny – bardzo intensywny
Smak słodki / Sweet taste	smak podstawowy	niewyczuwalny – bardzo intensywny
Smak ostry / Sharp taste	wrażenie ostrości w jamie ustnej	niewyczuwalny – bardzo intensywny
Smak gorzki / Bitter taste	smak podstawowy	niewyczuwalny – bardzo intensywny
Smak obcy / Off-taste	smak nietypowy dla kwaszonej kapusty	niewyczuwalny – bardzo intensywny
Jakość ogólna / Overall quality		
Ocena ogólna jakości Overall quality score	ogólne wrażenie obejmujące wszystkie oceniane wyróżniki jakości	jakość zła – jakość b. dobra

Intensywność doznań każdego z wyróżników określano na niestrukturowanej skali graficznej wyświetlanej na ekranie monitorów. Wyniki ulegały przekształceniu na wartości liczbowe w zakresie od 0 do 10 jednostek umownych. Na oddzielnej sesji przeprowadzono ocenę semi-konsumencką pożądalności ogólnej kapusty kwaszonej w kategoriach „nie lubię – lubię”, z wykorzystaniem niestrukturowanej skali graficznej z

oznaczeniami brzegowymi: „bardzo niepożądana – bardzo pożądana”. Do przygotowania oceny próbek i wstępnej obróbki danych wykorzystano komputerowy program Analsens.

Wyniki badań składu chemicznego poddano analizie wariancji (ANOVA) z wykorzystaniem pakietu Statgraphics Plus 4.1, a w przypadku wyników oceny sensorycznej przeprowadzono analizę składowych głównych (PCA).

## Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczeń składu chemicznego kapusty świeżej przedstawiono w tab. 2.

Tabela 2

Skład chemiczny kapusty przed ukwaszeniem w zależności od odmiany i dawki azotu.  
Chemical composition of cabbage before souring in relation to cultivar and nitrogen dose.

Wyszczególnienie		Sucha masa Dry matter [%]	Ekstrakt Soluble solids [%]	Witamina C Vitamin C [mg·100 g <sup>-1</sup> ]	Azotany(V) Nitrates [mg NO <sub>3</sub> ·kg <sup>-1</sup> ]
Odmiana Cultivar (A)	Alfama	6,3 a	4,6 a	36,8 a	288 b
	Balaton	7,7 c	4,8 a	37,7 a	135 a
	Galaxy	7,0 b	5,1 b	40,9 a	103 a
	Hinova	6,1 a	5,1 b	39,4 a	308 b
Dawka N N dose [kg·ha <sup>-1</sup> ] (B)	150	7,0 b	4,9 ab	40,0 a	174 a
	200	6,8 b	5,1 b	38,5 a	200 b
	250	6,5 a	4,7 a	38,0 a	251 c

Objaśnienia / Explanatory notes:

wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie wg testu HSD Tukey'a przy P = 0,05 / mean values designated by the same letters show no statistically significant differences according to the Tuckey's HSD test at P = 0.05;

Interakcja AxB (P = 0,05): n.i. / Interaction AxB (P = 0.05): n.s.

Kapusta odmian Balaton i Galaxy zawierała najwięcej suchej masy (odpowiednio 7,7 i 7,0%), a jednocześnie najmniej azotanów(V) (odpowiednio 135 i 103 mg NO<sub>3</sub>·kg<sup>-1</sup>). Odmiany wykazywały niewielkie zróżnicowanie pod względem zawartości ekstraktu i witaminy C. Średnia zawartość ekstraktu (około 5%) i witaminy C (około 40 mg·100 g<sup>-1</sup>) była wysoka we wszystkich próbach w odniesieniu do wartości podawanych w literaturze [5, 6, 13]. Wpływ zastosowanych dawek azotu okazał się w tym przypadku niewielki. Najmniejszą zawartość ekstraktu stwierdzono w kapuście nawożonej największą dawką azotu, co znajduje potwierdzenie w literaturze przedmiotu [14]. Dawka azotu wpłynęła natomiast w sposób istotny na zawartość suchej masy i azotanów(V) w kapuście. Sucha masa kapusty nawożonej największą

dawką azotu była większa niż kapusty nawożonej mniejszymi dawkami. Jednocześnie zawartość azotanów(V) w kapuście wzrastała istotnie wraz ze wzrostem dawki azotu, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez Elkner i Michalik [4] oraz Hatano i wsp. [9]. Jednak nawet przy największej dawce azotu zawartość azotanów(V) zawierała się w zakresie zalecanych wartości [3]. Zaobserwowano zróżnicowanie odmianowe pod względem skłonności do kumulacji azotanów(V). Najwyższą skłonność do kumulacji wykazywały odmiany Alfama i Galaxy.

Wyniki oceny sensorycznej kapusty kwaszonej zestawiono w tab. 3–6.

Tabela 3

Wyniki sensorycznej oceny zapachu kapusty kwaszonej w zależności od jej odmiany i dawki azotu [skala 0-10 pkt].

Results of sensory analysis of sauerkraut in relation to cultivar and nitrogen dose – odor descriptors (scoring scale from 0 to 10).

Czynnik / Factor		Zapach / Odor		
Odmiana Cultivar (A)	Dawka azotu Nitrogen dose (B) [kg·ha <sup>-1</sup> ]	ostry (drażniący) sharp (irritating)	kiszzonej kapusty of sauerkraut	obcy off-odor
Alfama	150	2,70	5,50	1,77
	200	2,68	5,72	1,60
	250	3,01	5,31	1,90
Balaton	150	3,41	5,99	1,32
	200	3,06	5,68	1,55
	250	3,54	5,51	1,62
Galaxy	150	2,75	4,40	2,75
	200	2,83	5,53	1,49
	250	3,56	5,67	1,26
Hinova	150	4,24	5,02	1,70
	200	3,11	5,54	1,33
	250	2,85	5,30	1,32
Wartości średnie wg odmian Means for cultivars	Alfama	2,80 a	5,51 a	1,76 a
	Balaton	3,34 a	5,73 a	1,50 a
	Galaxy	3,05 a	5,20 a	1,83 a
	Hinova	3,40 a	5,29 a	1,45 a
Wartości średnie wg dawki N Means for N dose [kg·ha <sup>-1</sup> ]	150	3,28 a	5,23 a	1,89 a
	200	2,92 a	5,62 a	1,49 a
	250	3,24 a	5,45 a	1,53 a

Objaśnienia jak w tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2.

Interakcja AxB (P = 0,05): n.i. / Interaction AxB (P = 0.05): n.s.



Tabela 4

Wyniki sensorycznej oceny barwy, połysku, twardości i chrupkości kapusty kwaszonej w zależności od jej odmiany i dawki azotu [skala 0-10 pkt].

Results of sensory analysis of sauerkraut in relation to cultivar and nitrogen dose – color, glossiness, firmness, and crunchiness (scoring scale from 0 to 10).

Czynnik / Factor		Barwa Color	Połysk Glossiness	Twardość Firmness	Chrupkość Crunchiness
Odmiana Cultivar (A)	Dawka azotu Nitrogen dose (B) [kg·ha <sup>-1</sup> ]				
Alfama	150	5,46	5,10	5,28	5,88
	200	5,71	5,22	5,01	5,91
	250	5,05	4,63	5,13	5,64
Balaton	150	6,91	4,32	5,89	5,73
	200	6,21	4,71	5,18	5,23
	250	6,70	4,08	6,57	5,85
Galaxy	150	5,69	4,74	5,02	4,93
	200	6,32	4,75	4,85	4,57
	250	6,74	5,59	5,55	5,10
Hinova	150	4,57	3,96	5,73	5,96
	200	5,55	4,24	5,35	5,98
	250	4,71	4,46	6,43	5,98
Wartości średnie wg odmian Means for cultivars	Alfama	5,41 ab	4,98 b	5,14 a	5,81 b
	Balaton	6,61 c	4,37 a	5,88 b	5,60 ab
	Galaxy	6,25 bc	5,03 b	5,13 a	4,87 a
	Hinova	4,94 a	4,22 a	5,84 b	5,97 b
Wartości średnie wg dawki N Means for N dose [kg·ha <sup>-1</sup> ]	150	5,66 a	4,53 a	5,48 ab	5,63 a
	200	5,95 a	4,73 a	5,10 a	5,42 a
	250	5,80 a	4,69 a	5,92 b	5,64 a

Objaśnienia jak w tab. 2 / Explanatory notes as in Tab. 2.

Interakcja AxB (P = 0,05): n.i. / Interaction AxB (P = 0.05): n.s.

Wpływ badanych czynników na intensywność wyróżników zapachu okazał się nieistotny, jednak oceny poszczególnych próbek wskazują, że intensywność zapachu ostrego była zróżnicowana (tab. 3). Najwyższe noty w przypadku zapachu ostrego uzyskała kapusta odmiany Hinova, nawożona dawką azotu wynoszącą 150 kg·ha<sup>-1</sup>, oraz Galaxy i Balaton, nawożone dawką 250 kg·ha<sup>-1</sup>. Intensywność zapachu obcego próbek była mało zróżnicowana (najwyższa w przypadku kapusty odmiany Galaxy nawożonej dawką 150 kg·ha<sup>-1</sup>). Do najczęściej powtarzających się określeń zapachu

obcego należały: zapach przekwaszonej kapusty, zapach „piwniczny”, zapach „chrzanowy”. Odnotowano istotny wpływ odmiany na wyróżniki wyglądu krajanki (barwę i połysk) oraz tekstury (twardość i chrupkość), jak również wpływ dawki azotu na twardość krajanki (tab. 4). Kapusta odmiany Hinova wykazywała barwę białoszarą, natomiast Balaton – białokremową. Odmiany Hinova i Balaton charakteryzowały się najslabszym połyskiem, a równocześnie największą twardością. Kapusta odmiany Galaxy cechowała się najmniejszą chrupkością, ale odmiana Balaton nie różniła się od niej istotnie pod tym względem. Najmniejszą twardość krajanki uzyskano przy

Tabela 5

Wyniki sensorycznej oceny smaku kapusty kwaszonej w zależności od jej odmiany i dawki azotu [skala 0-10 pkt].

Results of sensory analysis of sauerkraut in relation to cultivar and nitrogen dose – flavor and taste descriptors (scoring scale from 0 to 10).

Czynnik / Factor		Smak / Taste					
Odmiana Cultivar (A)	Dawka N N dose (B) [kg·ha <sup>-1</sup> ]	kwaśny sour	słony salty	słodki sweet	ostry spicy	gorzki bitter	obcy off-taste
Alfama	150	5,75	4,26	0,82	2,22	0,90	0,41
	200	6,13	2,70	0,90	2,16	0,65	0,40
	250	6,70	2,90	1,89	2,32	0,53	0,13
Balaton	150	5,29	2,37	1,77	1,63	1,24	0,00
	200	6,19	3,04	1,27	2,65	0,60	0,15
	250	4,47	6,65	0,68	2,16	1,50	0,21
Galaxy	150	5,08	4,46	1,45	2,55	1,23	0,51
	200	5,70	3,40	1,39	2,64	0,66	0,13
	250	5,73	3,55	0,70	2,51	0,75	0,03
Hinova	150	4,90	3,75	1,00	2,77	1,34	0,12
	200	5,65	2,56	0,88	2,15	0,69	0,14
	250	6,10	2,86	1,28	2,89	1,34	0,23
Wartości średnie wg odmian Means for cultivars	Alfama	6,19 b	3,29 a	1,20 a	2,23 a	0,69 a	0,31 a
	Balaton	5,32 a	4,02 b	1,24 a	2,15 a	1,11 b	0,12 a
	Galaxy	5,50 ab	3,80 b	1,18 a	2,57 a	0,88 ab	0,22 a
	Hinova	5,55 ab	3,06 a	1,05 a	2,60 a	1,12 b	0,16 a
Wartości średnie wg dawki N Means for N dose [kg·ha <sup>-1</sup> ]	150	5,26 a	3,71 a	1,26 a	2,29 a	1,18 b	0,26 a
	200	5,92 b	2,93 a	1,11 a	2,40 a	0,65a	0,21 a
	250	5,75 b	3,99 a	1,14 a	2,47 a	1,03 ab	0,15 a

Objaśnienie jak w tab. 2 / Explanatory notes as in Tab. 2.

Interakcja AxB (P = 0,05): n.i. / Interaction AxB (P = 0.05): n.s.

średniej dawce azotu ( $200 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). Zaobserwowano istotny wpływ odmiany na wyróżniki smaku: smak kwaśny, słony i gorzki (tab. 5). Natomiast dawka azotu różnicowała próbki jedynie w przypadku smaku kwaśnego i gorzkiego. Najbardziej kwaśna i jednocześnie najmniej słona (obok odmiany Hinova) oraz najmniej gorzka była kapusta odmiany Alfama. Przy najmniejszej dawce azotu kiszonka była najmniej kwaśna (jednak poza odmianą Balaton) i najbardziej gorzka (za wyjątkiem odmiany Alfama). Najniższą ocenę ogólną uzyskała kapusta odmiany Balaton, nawożona największą dawką azotu, a po niej odmiana Galaxy, nawożona dawką najmniejszą. Najwyższą

Tabela 6

Wyniki sensorycznej oceny ogólnej i pożądalności ogólnej kapusty kwaszonej w zależności od jej odmiany i dawki azotu [skala 0-10 pkt].

Results of overall quality and overall likeness assessment of sauerkraut in relation to cultivar and nitrogen dose (scoring scale from 0 to 10).

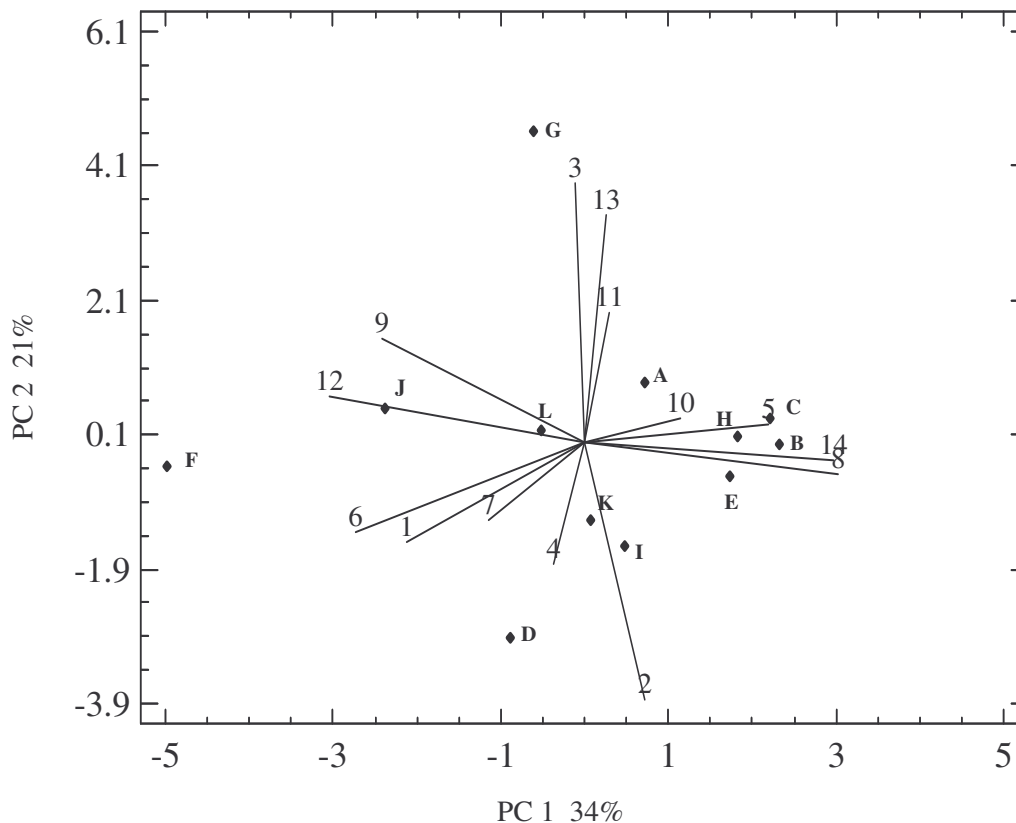
Czynnik / Factor		Ocena ogólna Overall quality	Pożądalność ogólna Overall likeness
Odmiana Cultivar (A)	Dawka N / N dose (B) [ $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ]		
Alfama	150	5,65	5,75
	200	6,05	6,12
	250	5,65	5,95
Balaton	150	5,10	4,89
	200	5,70	5,62
	250	3,89	2,82
Galaxy	150	4,75	4,14
	200	5,69	5,52
	250	5,18	4,89
Hinova	150	5,43	5,09
	200	5,07	5,46
	250	5,26	5,20
Wartości średnie wg odmian Means for cultivar	Alfama	5,78 b	5,94 b
	Balaton	4,90 a	4,44 a
	Galaxy	5,21 ab	4,85 a
	Hinova	5,25 ab	5,25 ab
Wartości średnie wg dawki N Means for N dose [ $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ]	150	5,23 a	4,97 ab
	200	5,63 b	5,68 b
	250	5,00 a	4,72 a

Objaśnienie jak w tab. 2 / Explanatory notes as in Tab. 2.

Interakcja AxB ( $P = 0,05$ ): dla oceny ogólnej - 1,22; dla pożądalności ogólnej - 1,60.

Interaction AxB ( $P = 0,05$ ): with regard to overall quality – 1.22; with regard to overall likeness – 1.60.

ocenę ogólną uzyskała kapusta nawożona dawką azotu równą  $200 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Podobne tendencje zaobserwowano również w przypadku oceny pożądalności ogólnej kapusty.



Rys. 1. Projekcja PCA wyróżników jakości sensorycznej i próbek kwaszonej kapusty.

Fig. 1. A PCA projection of sensory quality descriptors and of sauerkraut samples

Objaśnienia wektorów: 1 – zapach ostry, 2 – zapach kwaszonej kapusty, 3 – zapach obcy, 4 – barwa, 5 – połysk, 6 – twardość, 7 – chrupkość, 8 – smak kwaśny, 9 – smak słony, 10 – smak słodki, 11 – smak ostry, 12 – smak gorzki, 13 – smak obcy, 14 – ocena ogólna.

Objaśnienia prób: A – Alfama/150, B – Alfama/200, C – Alfama/250, D – Balaton/150, E – Balaton/200, F – Balaton/250, G – Galaxy/150, H – Galaxy/200, I – Galaxy/250, J – Hinova/150, K – Hinova/200, L – Hinova/250. (Liczby przy nazwie odmiany oznaczają zastosowaną dawkę azotu w  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ).

Vectors: 1 – pungent odor, 2 – odor of sauerkraut, 3 – off-odor, 4 – color, 5 – glossiness, 6 – firmness, 7 – crunchiness, 8 – sour taste, 9 – salty taste, 10 – sweet taste, 11 – sharp taste, 12 – bitter taste, 13 – off-taste, 14 – overall quality.

Samples: A – ‘Alfama’/150, B – ‘Alfama’/200, C – ‘Alfama’/250, D – ‘Balaton’/150, E – ‘Balaton’/200, F – ‘Balaton’/250, G – ‘Galaxy’/150, H – ‘Galaxy’/200, I – ‘Galaxy’/250, J – ‘Hinova’/150, K – ‘Hinova’/200, L – ‘Hinova’/250.

'Hinova'/150, K – 'Hinova'/200, L – 'Hinova'/250. (Numerical values accompanying cultivar's names indicate an applied nitrogen dose in  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ).

Projekcja PCA (biplot) wyników analizy sensorycznej w układzie dwóch pierwszych składowych (PC 1 i PC 2), odpowiedzialnych za 55% zmienności jakości sensorycznej, obrazuje zróżnicowanie próbek pod względem badanych wyróżników smakowo-zapachowych i tekstury oraz stopień wpływu poszczególnych cech na jakość sensoryczną kapusty (rys. 1). Położenie wektora oceny ogólnej blisko wektora smaku kwaśnego wskazuje na dodatnie skorelowanie tych wyróżników, natomiast położenie wektora smaku gorzkiego przeciwie do wektora oceny ogólnej świadczy z kolei o wystąpieniu korelacji ujemnej. Zapach charakterystyczny dla kwaszonej kapusty oraz zapach obcy oddziaływały przeciwstawnie na jakość sensoryczną (wektory o przeciwnym zwrocie). Zgrupowanie próbek Alfama/200, Alfama/250, Balaton/200 i Galaxy/200 (liczba przy nazwie odmiany kapusty określa dawkę azotu w nawożeniu) wokół wektora oceny ogólnej wskazuje na ich wyższą jakość w stosunku do pozostałych próbek. Kiszonki Balaton/250, Galaxy/150 i Balaton/150 odbiegały znacznie jakością od innych (punkty odnoszące się do wymienionych próbek wykazują duży rozrzut na powierzchni układu współrzędnych).

## Wnioski

1. Badane odmiany kapusty wykazują zróżnicowane właściwości sensoryczne po ukwaszeniu. Dotyczy to cech wyglądu kwaszonki, tekstury, smaku kwaśnego, słonego i gorzkiego. Najlepszą jakością sensoryczną charakteryzuje się kapusta odmiany Alfama. Odmiany wykazują również zróżnicowanie pod względem skłonności kumulowania azotanów, natomiast mało różnią się pod względem zawartości witaminy C i ekstraktu.
2. Wraz ze wzrostem dawki azotu w nawożeniu mineralnym zmienia się charakterystyka jakości sensorycznej kapusty kwaszonej pod względem twardości krajanki, smaku kwaśnego i smaku gorzkiego, co wpływa na ogólną ocenę jakości. Wzrasta również zawartość azotanów w główkach. Za najbardziej korzystną dawkę azotu, niezbędną do uzyskania odpowiedniej jakości kwaszonek z większości odmian kapusty, należy uznać  $200 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

## Literatura

- [1] Abbott J.: Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.*, 1999, **15**, 207-225.
- [2] Bartoszek A., Forc A., Grześkowiak J.: Antioxidative properties of some vegetable products traditional for diets in Central Europe. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2002, **11/52**, 67-70.

- [3] Elkner K.: Wpływ odmiany i czynników agrotechnicznych na jakość warzyw przeznaczonych do kiszenia. W: Materiały Konf. Nauk.-Techn. "Postęp naukowo-technologiczny w kwaszarnictwie", Wrocław 1989, COBRO Warszawa, s. 14-26.
- [4] Elkner K., Michalik H.: Wpływ typu gleby i nawożenia azotem na jakość kapusty kiszanej. Biul. Warzyw., 1989, **II Supl.**, 195-198.
- [5] Elkner K.: Jakość kapusty kwaszonej. Hasło Ogrod., 2003, **9**, 80-81.
- [6] Everaarts A.P., de Moel C.P.: The effect of nitrogen and the method of application on yield and quality of white cabbage. Europ. J. Agron., 1998, **9**, 203-211.
- [7] Freyman S., Toivonen P.M., Perrin P.M., Lin W.C., Hall J.W.: Effect of nitrogen fertilization on yield, storage losses and chemical composition of winter cabbage. Can. J. Plant Sci., 1991, **7**, 943-946.
- [8] Hara T.: Effects of nitrogen, phosphorus and potassium in culture solution on the head yield and free sugar composition of cabbage. J. Jap. Soc. Hortic. Sci., 1989, **58**, 595-599.
- [9] Hatano A., Okawa H., Imagawa M.: Effects of the amount of nitrogen application on the nitrate contents of cabbage and Chinese cabbage. Res. Bull. Aichi-ken Agric. Res. Center, 2003, **35**, 79-83.
- [10] Jarczyk A., Berdowski J.B.: Przetwórstwo owoców i warzyw. Cz. 1. WSiP, Warszawa 1997.
- [11] Komiyama S., Furudate A., Meguro T.: The current situation and factors affecting ascorbic acid content of summer harvested cabbage. Bull. of Hokkaido Prefectural Agric. Exp. Stations, 1999, **77**, 65-68.
- [12] Kuensch U., Schaerer H., Temperli A.: Die Bedeutung von Vitamin C für die Sauerkraut-Technologie. Mitt. Gebiete Lebensmitt. Hyg., 1992, **83**, 20-29.
- [13] Meilgaard M., Civille G.V., Carr B.T.: Sensory Evaluation Techniques. 3<sup>rd</sup> ed.. CRC Press, Boca Raton London 1999.
- [14] Nurzyński J.: Wpływ makro- i mikroskładników na niektóre wskaźniki wartości odżywczej kapusty białej i jarmużu. Roczn. Nauk Roln., Seria A, 1973, 47-99.
- [15] PN-71/A-75101. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. 3.14. Oznaczanie zawartości witaminy C.
- [16] PN-72/777000. Kapusta kwaszona.
- [17] PN-ISO-8586-2: 1996. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Eksperci.
- [18] PN-ISO-8589: 1998. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne projektowania pracowni analizy sensorycznej.
- [19] PN-ISO-6564: 1999. Analiza sensoryczna. Metodologia. Metody profilowania smakowości.
- [20] Rumpel J.: Uprawa kapusty. Hortpress, Warszawa 2002.
- [21] Sady W.: Nawożenie warzyw polowych, Plantpress, Kraków 2000.
- [22] Sieling E.R.M.: Nitrogen Fertilization Guidelines for Arable Crops and Field Vegetables. IKC-AGV, Lelystad, Holland 1992.
- [23] Tarata G., Popandron N., Podoleanu M., Gavriliuc M., Munteanu T.: Studies on the effect of nitrogen fertilizers on cabbage and cauliflower. Anale Institutul de Cercetari pentru Legumicultura si Floricultura Vidra, 1995, **13**, 475-484.
- [24] Tecator ASN 62-03/84. Fiastar Application Note File.
- [25] Vogel G.: Handbuch des speziellen Gemüsebaues. Eugen Ulmer GmbH & Co. Stuttgart 1996.

## CHEMICAL COMPOSITION AND SENSORY QUALITY OF WHITE CABBAGE DEPENDING ON THE CABBAGE CULTIVAR AND NITROGEN DOSE AS APPLIED IN MINERAL FERTILIZATION

### S u m m a r y

There were examined a chemical composition of white (not fermented) cabbage and a sensory quality of sauerkraut made of it. A differentiating factor was a cabbage cultivar and a dose of nitrogen fertilizer applied as mineral fertilizer. The four white cabbage cultivars were investigated: 'Alfama' F1, 'Balaton' F1, 'Galaxy' F1, and 'Hinova' F1. The nitrogen doses applied were 150, 200, and 250 kg·ha<sup>-1</sup> respectively.

With regard to the chemical composition of fresh cabbage, the contents of soluble solids, vitamin C, nitrates(V), and dry mass were determined. The vitamin C and extract levels in individual cultivars varied a little, however, they showed essential differences with regard to their potential of cumulating nitrates.

To sensory assess the sauerkraut investigated, a qualitative descriptive analysis (QDA) was applied. Additionally, the cabbage was evaluated from the point of view of the consumer's quality (assessment of the overall likeness). 13 descriptors selected by a panel of experts were used to describe the sensory quality of cabbage. The results of the investigations showed that samples of sauerkraut differed in some sensory properties. The best sensory quality showed the 'Alfama' cultivar. A nitrogen dose applied proved to have a significant impact on quality. For the majority of cultivars investigated, the sensory quality of cabbage fertilized using 200 kg·ha<sup>-1</sup> of nitrogen was scored the best whereas the sauerkraut produced of a 'Balaton' cultivar got the lowest score of its overall sensory quality. The nitrates(V) content increased in cabbage with increasing dose of N applied. A principal components analysis (PCA) showed that 55% of total variations in the sensory quality of sauerkraut samples were to be attributed to the joint effect of two principal components (PC 1 and PC 2).

**Key words:** nitrogen, sensory quality, sauerkraut, quantitative descriptive analysis (QDA) ☒

PIOTR REGIEC

## **ZASTOSOWANIE MEMBRAN Z TWORZYW SYNTETYCZNYCH DO OCZYSZCZANIA SOKU DYFUZYJNEGO**

### **Streszczenie**

Próby soku dyfuzyjnego o różnej jakości poddano ultrafiltracji w skali laboratoryjnej za pomocą membran z azotanu celulozy (CN) i polichloru winylu (PCV).

W sokach dyfuzyjnych i uzyskanych filtratach oznaczono zawartość: suchej substancji, sacharozy, cukrów redukujących oraz azotu  $\alpha$ -aminokwasowego, a także lepkość. Obliczono czystość soków i efekt oczyszczania. Stwierdzono, że w wyniku ultrafiltracji soków, za pomocą membran z azotanu celulozy (CN) i polichloru winylu (PCV) zawartość sacharozy i cukrów redukujących nie zmieniła się. Soki po ultrafiltracji charakteryzowały się mniejszą zawartością azotu  $\alpha$ -aminokwasowego niż soki dyfuzyjne, przy czym filtracja przez membranę CN umożliwiła oddzielenie tych substancji w większym stopniu niż filtracja przez membranę PCV. Lepkość soków po filtracji była mniejsza w zakresie 0,7–1,8 mPa·s (membrana CN) i 0,5–1,7 mPa·s (membrana PCV) i była zbliżona do lepkości czystych roztworów sacharozy o podobnym stężeniu. Membrana PCV charakteryzowała się większym strumieniem permeatu, zwłaszcza w początkowej fazie filtracji, niż membrana CN. Im większa była czystość i mniejsza lepkość soku dyfuzyjnego, tym strumień permeatu był większy. Zastosowanie filtracji membranowej umożliwiło oczyszczenie soków o złej jakości, co w warunkach przemysłowych jest najczęściej niemożliwe. Soki otrzymane po filtracji przez membranę z azotanu celulozy charakteryzowały się lepszą jakością niż soki po filtracji przez membranę z polichloru winylu.

**Słowa kluczowe:** filtracja membranowa, sok dyfuzyjny, efekt oczyszczania.

### **Wstęp**

Procesy membranowe znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach, a zakres ich wykorzystania ciągle się poszerza. W przeciwieństwie do tradycyjnej filtracji za pomocą membran można rozdzielać substancje nawet z zakresu molekularnego. Stosowane bywają w tym celu różne techniki w zależności od właściwości rozdzielanych cząstek i siły napędowej procesu. Pośród różnych procesów membranowych można wyróżnić: procesy cieplne (np. destylacja membranowa),



elektryczne (np. elektrodializa, membrany pseudociekłe), chemiczne (np. chemodializa, membrany ciekłe), dyfuzyjne (np. perwaporacja, perstrakcja) oraz - najbardziej rozpowszechnione – procesy ciśnieniowe [10]. Różnica ciśnień jest siłą napędową mikrofiltracji (MF), ultrafiltracji (UF), nanofiltracji (NF) oraz odwróconej osmozy (RO). Procesy te są stosowane do oczyszczania lub zagęszczania roztworów wodnych, rozdzielanie odbywa się według wielkości cząstek. Podział na MF, UF, NF i RO opiera się na wielkości separowanych cząsteczek i stosowanych ciśnień (zakresy różnią się u różnych autorów). Zestawiono je w tab. 1).

Tabela 1

Parametry ciśnieniowych procesów filtracji.  
Parameters of pressure filtration processes.

Proces Process	Zakres wielkości rozdzielanych cząstek Ranges of separated particle sizes				Stosowane ciśnienia Pressure applied [MPa]		
	Bodzek [1]	Cheryan [3]	Kołtuniewicz [10]	Rautenbach [12]	Bodzek [1]	Kołtuniewicz [10]	Rautenbach [12]
Mikrofiltracja Microfiltration	100-1000 nm	100-10000 nm	20-10 000 nm	5-5000 nm	do 0,2	0,01-0,1	0,1-0,3
Ultrafiltracja Ultrafiltration	1-200 nm	1-100 nm	makromolekuły i zawiesiny macromolecules and suspensions	1-80 nm	0,1-1,0	0,05-0,2	0,3-1
Nanofiltracja Nanofiltration	> 300 Da	0,5-5 nm	< 300 Da	ok.1 nm	0,5-2,0	0,03-1,4	0,5-3
RO - osmoza (reverse osmosis)	0,1-1 nm	0,1-1 nm	< 300 Da	0,1-10 nm	1,0-6,0	0,3-10	do 20

Podstawową różnicą pomiędzy filtracją tradycyjną a filtracją membranową jest sposób prowadzenia procesu. Filtracja tradycyjna charakteryzuje się tym, że strumień cieczy przepływa przez warstwę filtracyjną, osadzając na niej zanieczyszczenia (jest to tak zwany tryb niestacjonarny „dead end”). Powoduje to konieczność częstego usuwania zanieczyszczeń i mycia lub zmiany nośnika warstwy filtracyjnej. Nieuniknione jest zjawisko dość szybkiego zmniejszania się strumienia filtratu. Większość sposobów prowadzenia procesu membranowego charakteryzuje się szybkim przepływem cieczy wzdłuż powierzchni membrany, co powoduje ciągłe zmywanie warstwy osadu, jednocześnie nie dopuszczając do zmniejszenia wydajności przez osadzające się cząstki. Pozwala to na stosunkowo długi czas prowadzenia

procesu bez większego spadku wydajności. Dzięki temu filtracja za pomocą membran znajduje coraz szersze zastosowanie, m.in. w technologii żywności (mleczarstwo – usuwanie drobnoustrojów z mleka i serwatki, otrzymywanie laktozy, preparatów białkowych i produkcja serów, zagęszczanie soków i pulp owocowych [16].

Produkcja membran z materiałów bardziej trwałych i odpornych na warunki procesu technologicznego – membrany ceramiczne i stalowe – oraz zmniejszenie kosztów wytwarzania tych membran stwarza możliwości zastosowania ich w innych gałęziach przemysłu spożywczego, gdzie zastępują tradycyjną filtrację.

Defekacja i saturacja, stosowane do oczyszczania soków cukrowniczych, są bardzo energochłonne, wymagają także dużych ilości kamienia wapiennego i koksu, a błoto defekosaturacyjne jest odpadem uciążliwym w utylizacji. Zastosowanie zamiast tych procesów filtracji membranowej mogłoby w znaczący sposób wpłynąć na obniżenie kosztów produkcji i zmniejszenie zanieczyszczenia środowiska.

Celem badań było określenie efektu oczyszczania soku dyfuzyjnego metodą ultrafiltracji za pomocą membran: z azotanu celulozy (CN) i polichlorku winylu (PCV) oraz porównanie zawartości niektórych składników i cech soku dyfuzyjnego i oczyszczonego.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem użytym do badań był sok dyfuzyjny otrzymywany z zamrożonych korzeni buraków cukrowych. Korzenie po rozmrożeniu były przetrzymywane w temp. 18-20°C przez 0, 2 lub 4 dni. Po ich pokrojeniu, dyfuzję prowadzono przez 30 min w temp. 80°C, następnie roztwór z nadkrajanki dekantowano i przesączano przez gazę krochmalniczą nr 8xxx (190 µm). Ilość krajanki i wody dobierano tak, aby otrzymać przesącz o zawartości suchej masy około 14%, oznaczanej refraktometrycznie.

W doświadczeniu przeprowadzono filtrację ośmiu prób soku dyfuzyjnego. Soki A, B, C, D otrzymywano z korzeni bezpośrednio po ich rozmrożeniu. Sok E otrzymano z korzeni przetrzymywanych po rozmrożeniu przez 2 dni, soki F, G, H – przez 4 dni. Otrzymane soki były wstępnie oczyszczane z dużych cząstek miazgi przez wirowanie na wirówce. Następnie soki filtrowano przez membrany z azotanu celulozy (CN) lub polichlorku winylu (PCV).

Proces prowadzono w tzw. komórce firmy Amicon. Średnica membrany wynosiła 5,8 cm. Podczas filtracji zastosowano ciśnienie 110 kPa. Komórka pracowała w trybie „dead end”.

Membrana z azotanu celulozy (CN) jest membraną płaską, syntetyczną, stałą, organiczną, porowatą, asymetryczną. W Instytucie Inżynierii Chemicznej i Urządzeń Ciepłych Politechniki Wrocławskiej przeprowadzono badania, w których stwierdzono, że strumień przepływu wody wynosił: 1,86 dm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·min, a membrana ta zatrzymywała:

- w 100% albuminę wołową, której graniczna masa molowa wynosiła  $69 \cdot 10^3$  Da,
- w 96% albuminę jajeczną, której graniczna masa molowa wynosiła  $42 \cdot 10^3$  Da,
- w 76% trypsynę, której graniczna masa molowa wynosiła  $24 \cdot 10^3$  Da.

Membrana z polichloroku winylu (PCV) jest membraną płaską, syntetyczną, stałą, organiczną, porowatą, asymetryczną. Analogicznie określony strumień przepływu wody wynosił  $3,6 \text{ dm}^3/\text{m}^2 \cdot \text{min}$ . Zatrzymywała ona odpowiednio:

- w 100% albuminę wołową,
- w 85% albuminę jajeczną,
- w 26% trypsynę.

W soku dyfuzyjnym i oczyszczonym przez filtrację membranową oznaczano:

- zawartość rzeczywistej suchej substancji metodą termogravimetryczną [2],
- zawartość sacharozy metodą polarymetryczną i Lane-Eynona, po kwaśnej hydrolizie metodą Clarget-Herzfelda [11],
- zawartość cukrów redukujących metodą Lane-Eynona [11],
- zawartość azotu  $\alpha$ -aminokwasowego metodą kolorymetryczną [2],
- lepkość za pomocą reometru rotacyjnego Haake RS 100, stosując przystawkę pomiarową DG 41 (cylindry współosiowe) w temp.  $20^\circ\text{C}$ , przy stałym naprężeniu ścinającym  $\tau = 1 \text{ Pa}$ .

Obliczono również czystość soków w oparciu o wyniki zawartości sacharozy – metodą redukcyjną, zawartości suchej masy – termogravimetryczną oraz efekt oczyszczania [2] z równania:

$$E = \frac{10000 \cdot (C_r - C_s)}{C_r \cdot (100 - C_s)}$$

gdzie:

- E – efekt oczyszczania,
- $C_r$  – czystość soku oczyszczonego, [%],
- $C_s$  – czystość soku dyfuzyjnego, [%].

W czasie filtracji określano również strumień permeatu, mierząc czas i objętość przefiltrowanego soku.

## Wyniki i dyskusja

W wyniku oznaczenia zawartości sacharozy metodą polarymetryczną, w sokach F, G, H otrzymano wartości 11–13%, natomiast rzeczywista zawartość sacharozy wynosiła w nich 4,7–7,2% (tab. 2). Określenie zawartości sacharozy w takich sokach metodą polarymetryczną, która jest standardowo stosowana w cukrowniach, prowadzi do dużych błędów [13]. Dlatego też obliczenia czystości i efektu oczyszczania soku przeprowadzono w oparciu o wyniki uzyskane za pomocą metody Lane-Eynona.

Tabela 2

Zawartość suchej masy i sacharozy w soku dyfuzyjnym (D) i oczyszczonym za pomocą membrany z azotanu celulozy (CN) lub polichlorku winylu (PCV).

Dry mass and sucrose contents in the diffusion (D) juice and in a juice purified on membranes made of cellulose nitrate (CN) and of polyvinyl chloride (PVC).

Sok Juice	Sucha masa Dry mass [%]			Sacharoza polarymetrycznie Sucrose content obtained by a polarimetric method [%]			Sacharoza redukcyjnie Sucrose content obtained by reduction [%]		
	D	CN	PCV	D	CN	PCV	D	CN	PCV
A	12,90	12,32	12,43	11,5	11,6	11,6	11,5	11,5	11,5
B	14,24	13,53	13,67	13,3	13,4	13,3	12,5	12,5	12,5
C	13,85	13,38	13,51	12,9	12,6	12,8	12,5	12,5	12,5
D	13,60	13,20	13,37	12,7	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
E	14,17	13,52	13,77	13,2	12,9	12,8	10,0	10,0	10,0
F	13,31	12,18	12,62	12,2	12,1	12,0	4,7	4,7	4,7
G	13,39	12,49	12,77	12,5	12,5	12,5	7,2	7,2	7,1
H	13,09	12,14	12,46	11,3	11,1	11,2	7,0	7,0	7,0

Oznaczenie zawartości suchej substancji metodą refraktometryczną jest mniej dokładne od metody termogravimetrycznej. Ponadto odwirowanie drobnej miazgi zmniejsza wynik pomiaru metodą refraktometryczną o ok. 0,2%, a oddzielenie zawiesin na sączku o porach 0,45  $\mu\text{m}$  – nawet o 0,8%. Może to zmieniać wynik obliczeń czystości nawet o 3–4 jednostki [6]. Do oznaczenia zawartości suchej substancji zastosowano więc metodę termogravimetryczną.

Proces dyfuzji prowadzono w taki sposób, aby otrzymać soki o zawartości suchej substancji około 14% – czyli zbliżonej do otrzymywanych w warunkach przemysłowych – od 13 do 16% [17]. Soki te charakteryzowały się różnym składem chemicznym i właściwościami.

Skład chemiczny i cechy soków A, B, C, D nie różniły się od soków otrzymywanych w cukrowniach. Zawartość suchej substancji w tych sokach wynosiła od 12,90 do 14,24%, zawartość sacharozy oznaczonej metodą polarymetryczną wynosiła 11,5–13,3%, a metodą redukcyjną – 11,5–12,5% (tab. 2). Czystość tych soków kształtowała się na poziomie od 87,8 do 91,9% i była taka sama jak soków otrzymywanych w warunkach przemysłowych 88–92% [17]. Zawartość pozostałych

składników w tych sokach, czyli cukrów redukujących (0,3%) i azotu  $\alpha$ -aminokwasowego – zwanego także „azotem szkodliwym” (0,020–0,033%), również była zbliżona do soków przemysłowych [8].

Soki E, F, G, H odpowiadały swoim składem i właściwościami sokom dyfuzyjnym, które cukrownie uzyskują z korzeni uszkodzonych mrozem, co w polskich warunkach klimatycznych zdarza się dość często. Charakteryzowały się one ponad dziesięciokrotnie większą zawartością cukrów redukujących (3,5–4,0%) i około dwukrotnie większą zawartością azotu  $\alpha$ -aminokwasowego (0,37–0,46%) niż soki uzyskane z korzeni o dobrej wartości technologicznej. Mimo zbliżonej zawartości suchej substancji, soki te charakteryzowały się także znacznie większą lepkością niż soki uzyskane z korzeni o dobrej wartości technologicznej (tab. 3). Korzenie, których wartość technologiczna pogorszyła się w wyniku rozmrożenia lub innych czynników, zawierają mniej sacharozy, zwiększa się za to w nich zawartość cukrów redukujących, azotu  $\alpha$ -aminokwasowego, koloidów i innych substancji oraz lepkość soku [13], [14]. Powoduje to wiele trudności w procesie technologicznym – zwłaszcza w procesach oczyszczania soku [4].

Tabela 3

Lepkość, czystość i efekt oczyszczania soku dyfuzyjnego (D) i oczyszczonego za pomocą membrany z azotanu celulozy (CN) lub polichlorku winylu (PCV).

The viscosity, purity and efficiency of purification treatment of diffusion juice (D) and juice purified using membranes made of cellulose nitrate (CN) and polyvinyl chloride (PVC).

Sok Juice	Lepkość Viscosity [mPa·s]			Czystość Purity [%]			Efekt oczyszczania Efficiency of the purification treatment [%]	
	D	CN	PCV	D	CN	PCV	CN	PCV
A	2,40	1,53	1,70	89,1	93,3	92,5	41,4	33,6
B	2,53	1,60	1,78	87,8	92,4	91,4	40,8	32,8
C	2,29	1,59	1,64	90,3	93,4	92,5	34,8	25,2
D	2,16	1,53	1,64	91,9	94,7	93,5	36,4	20,9
E	2,50	1,54	1,57	70,6	74,0	72,6	15,6	9,6
F	2,75	1,62	1,68	35,3	38,6	37,2	13,1	8,0
G	2,53	1,58	1,74	53,8	57,6	55,6	14,5	7,1
H	3,36	1,58	1,65	53,5	57,7	56,2	15,6	10,3

Zastosowane w doświadczeniu membrany charakteryzowały się podobnymi wielkościami zatrzymywanych cząstek, różnice wystąpiły w ilości zatrzymywanej trypsyny (76% – membrana CN, 26% – membrana PCV). Natomiast strumień przepływu wody był prawie dwukrotnie większy przez membranę z PCV – 3,6 dm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·min niż przez membranę CN – 1,86 dm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·min.

Punkt odcięcia obydwu membran był znacznie większy niż 342 (masa cząsteczkowa sacharozy), w związku z tym zawartość sacharozy (tab. 2) i cukrów redukujących (tab. 4) po filtracji nie zmieniła się, a zawartość suchej substancji i azotu „szkodliwego” zmniejszyła się, ale w różnym stopniu.

Tabela 4

Zawartość cukrów redukujących i azotu  $\alpha$ -aminokwasowego w soku dyfuzyjnym (D) i oczyszczonym za pomocą membrany z azotanu celulozy (CN) lub polichlorku winylu (PCV).

Contents of reducing sugars and  $\alpha$ -aminoacid nitrogen in diffusion juice (D) and juice purified using membranes made of cellulose nitrate (CN) and polyvinyl chloride (PVC).

Sok Juice	Cukry redukujące Reducing sugars [%]			Azot $\alpha$ -aminokwasowy $\alpha$ -aminoacid nitrogen [%]		
	D	CN	PCV	D	CN	PCV
A	0,3	0,3	0,3	0,020	0,015	0,016
B	0,3	0,3	0,3	0,029	0,020	0,022
C	0,3	0,3	0,3	0,030	0,022	0,025
D	0,3	0,3	0,4	0,033	0,028	0,031
E	3,5	3,5	3,5	0,037	0,030	0,031
F	3,9	3,9	4,0	0,042	0,034	0,035
G	3,9	3,9	3,9	0,044	0,032	0,035
H	4,0	4,0	3,9	0,046	0,041	0,042

Zawartość suchej substancji zmniejszyła się w wyniku zatrzymania zawiesin oraz wielkocząsteczkowych niecukrów (np. koloidów).

Soki A, B, C, D zawierały mniej substancji koloidalnych w porównaniu z pozostałymi, mniejsza też była różnica w zawartości suchej substancji przed- i po filtracji (0,4–0,7% membrana CN i 0,2–0,5% membrana PCV).

Po filtracji soków E, F, G, H zawartość suchej substancji zmniejszyła się o 0,7–1,1% (membrana CN) lub o 0,4–0,7% (membrana PCV). Soki przefiltrowane za pomocą membrany CN zawierały mniej suchej substancji. Różnice te wynosiły 0,11–

0,17% przy filtracji soków o dobrej jakości i 0,25–0,44% przy filtracji soków z korzeni uszkodzonych mrozem. Świadczy to o dość dużej zawartości w tych sokach substancji o masach cząsteczkowych zbliżonych do punktu odcięcia badanych membran.

W wyniku filtracji nastąpiło zmniejszenie zawartości w sokach azotu  $\alpha$ -aminokwasowego (tab. 4). Soki przefiltrowane przez membranę CN zawierały mniej „azotu szkodliwego” niż soki przefiltrowane przez membranę PCV – różnice te nie były jednak zbyt duże. Filtracja spowodowała zmniejszenie zawartości tych niecukrów w sokach o ok. 6–30%. Ze względu na dość niską masę cząsteczkową tych związków należałoby przypuszczać, że w całości znajdują się w permeacie. Metoda oznaczania zawartości azotu  $\alpha$ -aminokwasowego polega na reakcji z miedzią, a w efekcie określa się sumę zawartości aminokwasów, amidów i betainy [7]. Niektóre z tych związków, charakteryzujące się większymi rozmiarami cząsteczek, mogły więc zostać zatrzymane na membranie i stąd też wynika zmniejszenie zawartości „azotu szkodliwego” po filtracji.

Niezależnie od lepkości soków dyfuzyjnych (2,16–3,36 mPa·s), po filtracji za pomocą membrany CN wynosiła ona 1,53 do 1,62 mPa·s (tab. 2) i była zbliżona do lepkości czystego roztworu sacharozy o stężeniu 13% – 1,48 mPa·s [9]. Świadczy to o prawie całkowitym usunięciu z soków substancji koloidalnych. Natomiast lepkość soków przefiltrowanych za pomocą membrany PCV była większa i wynosiła 1,57–1,78 mPa·s. W badaniach przeprowadzonych przez Siediakinę [15] zastosowano membrany z octanu celulozy, polisulfonamidu i policzterofluoroetyleny do filtracji soków o czystości 85,6%–92,4%. W efekcie zastosowania tych membran uzyskano zmniejszenie zawartości białek o 50%, a pektyny o masie cząsteczkowej  $50 \cdot 10^3$ – $100 \cdot 10^3$  Da były zatrzymywane w całości.

Wydajność procesów membranowych określa strumień permeatu. W tab. 5. i 6. przedstawiono zmiany strumienia permeatu w czasie filtracji.

Po początkowym okresie formowania membrany PCV (tab. 5), strumień ten w przypadku soków A, C, D wynosił około  $6 \cdot 10^{-6}$  m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·s, soków, B i E – około  $4 \cdot 10^{-6}$  m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·s, pozostałych – poniżej  $3 \cdot 10^{-6}$  m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·s. Po uformowaniu się membrany następował niewielki, liniowy spadek strumienia permeatu. Strumień ten w czasie filtracji za pomocą membrany CN (tab. 6) był zwykle mniejszy, choć w przypadku soków B, F, G, H różnice te były bardzo małe. Soki te charakteryzowały się dużą lepkością przed filtracją (powyżej 2,5 mPa·s), a także znacznie mniejszymi strumieniami permeatu od pozostałych. Największym strumieniem permeatu, przez cały czas trwania procesu, charakteryzował się sok D, którego lepkość była najmniejsza, a czystość największa. Potwierdza to fakt istotnego wpływu lepkości na wydajność filtracji, która była prawie dwa razy mniejsza przy filtracji soków o wysokiej lepkości. Dość nietypowym przebiegiem zmian strumienia permeatu charakteryzował się sok H w czasie filtracji przez membranę z PCV. Po początkowym

zmniejszeniu strumienia nastąpiło jego dość gwałtowne zwiększenie i dopiero pod koniec procesu można było zauważyć znów tendencję spadkową. Najbardziej prawdopodobną przyczyną było mechaniczne przerwanie niektórych porów membrany PCV, zwłaszcza że zjawisko to nie wystąpiło w czasie filtracji tego soku przez membranę CN. Również efekt oczyszczania soku H (10,3%) za pomocą membrany PCV nie był najmniejszy z obserwowanych. Należy sądzić, że zastosowana metoda filtracji („dead end”) spowodowała utworzenie się tzw. „placka filtracyjnego” który znacząco wpływał na wydajność filtracji.

Tabela 5

Zmiany strumienia permeatu w czasie filtracji soków dyfuzyjnych przez membranę z polichloroku winylu (PCV).

The changes in permeate flux occurring while filtrating diffusion juices through a membrane made of polyvinyl chloride (PVC).

Ilość soku Quantity of juice [cm <sup>3</sup> ]	Strumień permeate Permeate flux [10 <sup>-6</sup> (m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> ·s)]							
	A	B	C	D	E	F	G	H
1	6,64	4,92	6,21	7,58	4,73	3,44	2,91	2,10
2	6,47	4,46	6,21	7,58	4,73	3,21	2,91	2,10
3	6,64	4,10	6,21	7,10	4,73	3,01	2,88	1,67
4	6,45	4,04	6,21	6,95	4,73	2,92	2,86	1,76
5	6,42	3,99	6,21	6,81	4,56	2,85	2,85	1,82
6	6,40	3,88	6,16	6,78	4,50	2,82	2,84	1,88
7	6,37	3,87	6,12	6,71	4,41	2,82	2,84	1,89
8	6,37	3,84	6,10	6,63	4,35	2,82	2,84	1,99
9	6,32	3,81	6,05	6,58	4,30	2,82	2,84	2,02
10	6,20	3,77	6,03	6,53	4,21	2,81	2,84	2,09
15	6,03	3,67	5,79	6,35	4,18	2,82	2,83	2,27
20	6,10	3,59	5,61	6,23	4,14	2,80	2,83	2,34
25	5,81	3,54	5,56	6,15	4,12	2,79	2,82	2,46
30	5,80	3,52	5,52	6,09	4,08	2,80	2,81	2,50
35	5,68	3,49	5,47	5,98	4,06	2,81	2,81	2,53
40	5,46	3,47	5,43	5,95	4,04	2,78	2,81	2,55
45	5,35	3,45	5,36	5,94	4,01	2,78	2,81	2,53
50	5,26	3,43	5,32	5,74	4,01	2,74	2,80	2,50
55	5,16	3,41	5,25	5,70	4,00	2,72	2,80	2,48
60	5,09	3,38	5,23	5,69	4,00	2,70	2,79	2,46



Tabela 6

Zmiany strumienia permeatu w czasie filtracji soków dyfuzyjnych przez membranę z azotanu celulozy (CN).

The changes in permeate flux occurring while filtrating diffusion juices through a membrane made of cellulose nitrate (CN).

Ilość soku Quantity of juice of juice [cm <sup>3</sup> ]	Strumień permeate Permeate flux [10 <sup>-6</sup> (m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> ·s)]							
	A	B	C	D	E	F	G	H
1	5,41	4,46	4,64	5,83	3,79	2,98	2,71	2,44
2	5,19	4,30	4,55	5,83	3,79	2,96	2,69	2,42
3	4,86	4,29	4,39	5,83	3,73	2,91	2,67	2,40
4	4,59	4,04	4,30	5,83	3,72	2,86	2,68	2,37
5	4,50	4,03	4,29	5,76	3,71	2,84	2,68	2,37
6	4,46	3,99	4,25	5,75	3,68	2,87	2,68	2,34
7	4,31	3,99	4,21	5,64	3,68	2,86	2,68	2,35
8	4,24	3,96	4,21	5,66	3,67	2,86	2,68	2,33
9	4,23	3,92	4,18	5,59	3,67	2,85	2,67	2,33
10	4,28	3,91	4,18	5,53	3,67	2,87	2,68	2,34
15	4,11	3,76	4,12	5,40	3,68	2,90	2,67	2,31
20	4,03	3,69	4,08	5,32	3,67	2,96	2,66	2,25
25	3,88	3,58	3,99	5,26	3,67	2,96	2,66	2,21
30	3,84	3,51	3,97	5,17	3,65	2,92	2,66	2,15
35	3,74	3,46	3,88	5,18	3,63	2,95	2,66	2,07
40	3,65	3,42	3,88	5,05	3,60	2,88	2,65	2,03
45	3,51	3,38	3,88	4,91	3,59	2,86	2,64	2,04
50	3,47	3,36	3,81	4,86	3,56	2,83	2,63	2,02
55	3,34	3,34	3,82	4,89	3,57	2,80	2,62	1,98
60	3,38	3,32	3,75	4,85	3,51	2,76	2,61	1,95

Jednym z najistotniejszych parametrów procesów oczyszczania soków w cukrownictwie jest tzw. efekt oczyszczania soku, który określa ilość niecukrów usuniętych z soku. Uzyskane wartości świadczą zarówno o ilości odseparowanych zawiesin, jak i substancji koloidalnych. Filtracja na obydwu membranach pozwoliła na całkowite usunięcie zawiesin, natomiast substancje koloidalne zostały usunięte w różnym stopniu, o czym świadczą wyniki zarówno zawartości suchej masy, jak i lepkości soków po filtracji. Obliczony efekt oczyszczania za pomocą membrany CN

był znacznie większy zwłaszcza w przypadku soków o dobrej jakości (tab. 3) i wynosił 34,8–41,4%, filtracja tych samych soków za pomocą membrany PCV pozwoliła na uzyskanie efektu oczyszczania na poziomie 20,9–33,6%, a więc o około 25% mniejszego. Przy niezmienionej w czasie filtracji zawartości sacharozy, zmiana efektu oczyszczania spowodowana była tylko zmniejszeniem zawartości niecukrów, a więc różnice te były znaczące. Efekt oczyszczania soków o niskiej jakości technologicznej był znacznie mniejszy i wynosił 13,1–15,6% (membrana CN) lub 7,1–10,3% (membrana PCV). Także po filtracji tych soków uzyskano znacznie lepszy efekt oczyszczania za pomocą membrany CN. Przyczyną tak małego efektu oczyszczania była duża zawartość w sokach substancji o małych masach cząsteczkowych, jak np. cukry redukujące (3,5–4,0%), które nie mogły być odseparowane na membranach.

Wyniki zastosowane do obliczeń (sucha masa – metodą termogravimetryczną, sacharoza – redukcynnie) utrudniają bezpośrednie porównanie z efektem oczyszczania soku dyfuzyjnego w cukrowniach. Można jednak przypuszczać, że wartości te, zwłaszcza gdy dotyczy to usunięcia substancji wielkocząsteczkowych, są co najmniej porównywalne. Przy klasycznym oczyszczaniu soków otrzymanych z korzeni o dobrej wartości technologicznej efekt oczyszczania zwykle wynosi 28–35%, rzadko powyżej 40% [7]. W efekcie przeprowadzonych badań uzyskano efekt oczyszczania soków o dobrej jakości na poziomie 35–41%. Można więc stwierdzić, że zastosowanie membrany CN do filtracji soków pozwala na uzyskanie podobnego efektu oczyszczania co metoda tradycyjna. Efekt oczyszczania soków nietypowych, o bardzo złej jakości technologicznej był znacznie niższy i wynosił maksymalnie 15,6%. Warto przy tym podkreślić, że oczyszczanie soków uzyskanych z korzeni o obniżonej wartości technologicznej, podobnie jak soki E, F, G, H, prowadzi zwykle do całkowitego zatrzymania procesu technologicznego [4].

Poprzez zastosowanie technik membranowych do oczyszczania soku dyfuzyjnego można zatem uzyskać efekt oczyszczania nawet powyżej 40%, znacznie skrócić technologiczny cykl produkcyjny i rozwiązać problem utylizacji odpadów (błoto defekosaturacyjne). Przeszkodę stanowią: wysokie koszty instalacji oraz konieczność zapewnienia dobrej wydajności procesu w sposób ciągły, przez cały czas trwania kampanii.

### **Wnioski**

1. W wyniku ultrafiltracji soku dyfuzyjnego, za pomocą membran z azotanu celulozy (CN) i polichloroku winylu (PCV), zawartość sacharozy i cukrów redukujących nie zmieniła się.
2. Soki po ultrafiltracji charakteryzowały się mniejszą zawartością azotu  $\alpha$ -aminokwasowego niż soki dyfuzyjne, przy czym filtracja przez membranę CN

- umożliwiła oddzielenie tych substancji w większym stopniu niż filtracja przez membranę PCV.
3. Lepkość soków po filtracji była mniejsza o 0,7–1,8 mPa·s (membrana CN) i 0,5–1,7 mPa·s (membrana PCV) i była zbliżona do lepkości czystych roztworów sacharozy o podobnym stężeniu.
  4. Membrana PCV charakteryzowała się większym strumieniem permeatu, zwłaszcza w początkowej fazie filtracji niż membrana CN.
  5. Im większa była czystość i mniejsza lepkość soku dyfuzyjnego, tym strumień permeatu był większy.
  6. Zastosowanie filtracji membranowej umożliwiło oczyszczenie soków o złej jakości, co w warunkach przemysłowych jest najczęściej niemożliwe.
  7. Soki otrzymane po filtracji przez membranę z azotanu celulozy charakteryzowały się lepszą jakością niż soki po filtracji przez membranę z polichlorku winylu.

*Pracę wykonano w ramach projektu badawczego nr 6 P06 H 036 20 finansowanego przez KBN w latach 2001–2003.*

### Literatura

- [1] Bodzek M., Bohdziewicz J., Konieczny K.: Techniki membranowe w ochronie środowiska. Wyd. Politechniki Śląskiej, Gliwice 1997.
- [2] Butwiłowicz A.: Metody analityczne kontroli produkcji w cukrowniach. Instytut Przemysłu Cukrowniczego, Warszawa 1997.
- [3] Cheryan M.: Ultrafiltration and Microfiltration Handbook. Technomic Publishing Company, Lancaster 1998.
- [4] de Nie L.N., van der Poel P.W., van de Velde M.H.: Zuckerrüben und Frostscha den in den Niederlanden - Ein erfolgreicher Ansatz zur Vermeidung der Anlieferung von gefrorenen Rüben. Zuckerindustrie 1985, **1**, 4-37.
- [5] Dobrzycki J.: Efekt oczyszczania soku. Gazeta Cukrownicza 1982, **10**, 153-156.
- [6] Dobrzycki J.: Błędy refraktometrii. Gazeta Cukrownicza 2002, **2**, 34.
- [7] Dobrzycki J.: Chemiczne podstawy technologii cukru. WNT, Warszawa 1984.
- [8] Dobrzycki J.: Poradnik inżyniera. Cukrownictwo. WNT, Warszawa 1973.
- [9] <http://www.univ-reims.fr/Externes/AVH/MementoSugar/001.htm#refs>
- [10] Kołtuniewicz A. : Wydajność ciśnieniowych procesów membranowych w świetle teorii odnawiania powierzchni. Oficyna Wyd. Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1996.
- [11] Krełowska-Kułas M.: Badanie jakości produktów spożywczych. PWE, Warszawa 1993.
- [12] Rautenbach R.: Procesy membranowe. WNT, Warszawa 1996.
- [13] Regiec P.: Zmiany zawartości cukrów w czasie przechowywania rozmrożonych korzeni buraka cukrowego. Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Technologia Żywności, 1995, IX, **281**, 7-17.
- [14] Regiec P.: Zmiany zawartości niektórych składników koloidowych i cech fizykochemicznych soku z zamrożonych i odtajanych korzeni buraka cukrowego. Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Technologia Żywności, 1991, VI, **215**, 55-63.
- [15] Sediakina T. V.: Selection of membranes for diffusion juice purification. Sakhar, 1999, **3**, 14-16.

- [16] Witrowa-Rajchert D.: Procesy membranowe w technologii żywności. *Przem. Spoż.* 2001, **8**, 52-55.
- [17] Żero M.: Informacja o wynikach produkcyjnych i danych techniczno technologicznych przemysłu cukrowniczego 2002/2003. Instytut Przemysłu Cukrowniczego, Warszawa 2003.

## A PURIFICATION TREATMENT OF DIFFUSION JUICE USING SYNTHETIC MEMBRANES

### Summary

Samples of diffusion juice showing varying quality were filtrated using an ultrafiltration process in a laboratory. The process was carried out using membranes made of cellulose nitrate (CN) and polyvinyl chloride (PVC). In the diffusion juices and filtrates obtained there were assayed the contents of dry mass, sucrose, reducing sugars, and  $\alpha$ -aminoacid nitrogen, as well as viscosity. The juice purity level achieved and the final purification effect were calculated. It was stated that, owing to the filtration with cellulose nitrate (CN) and polyvinyl chloride (PVC) membranes, the content of sucrose and reducing sugars remained unchanged. After the ultra-filtration the juices had a smaller  $\alpha$ -aminoacid content compared with the diffusion juices, and these substances were more accurately separated when filtrated through a CN membrane than through a PCV membrane. The viscosity of juices decreased by 0.7–1.8 mPa·s after the completed filtration with CN membranes, and by 0.5–1.7 mPa·s when filtrated using PVC membranes; this parameter was close to the viscosity of pure sucrose solutions of a similar concentration value. A PVC membrane was characterized by a greater flux of permeate than a CN membrane, especially in the initial phase of the filtration. The greater the purity and lower the viscosity of the diffusion juice, the greater the permeate flux. The application of membrane filtration made it possible to purify juices of bad quality, which are very hard to purify under industrial conditions. Juices filtered through a cellulose nitrate membrane were characterized by a better quality compared with the juices filtered through a polyvinyl chloride membrane.

**Key words:** membrane filtration, diffusion juice, purification effect ☒

TOMASZ SADŁOŃ, KRZYSZTOF PIEKARCZYK

## KONTROLA BAKTERIOLOGICZNA URZĄDZEŃ DOZUJĄCYCH WODĘ PO ZASTOSOWANIU ZABIEGÓW MYCIA I DEZYNFEKCJI

### Streszczenie

Przeprowadzono bakteriologiczne analizy wody pobieranej z urządzeń dozujących (dystrybutorów) opakowań o pojemności powyżej 5 litrów. Celem badań było określenie skuteczności zabiegów mycia i dezynfekcji w zależności od typu urządzeń. Próbki pobierano po przeprowadzeniu zabiegów mycia i dezynfekcji dystrybutorów.

Woda w butli z dozownikiem stanowi integralny produkt oferowany klientom. Na końcową jej jakość wpływa więc czystość wody w opakowaniu oraz czystość urządzenia dozującego. Ze względu na budowę dystrybutory podzielono na dwa typy: I – urządzenia rozbieralne, w których wymiana części mających kontakt z wodą jest łatwa do wykonania, II – urządzenia nierozbieralne. Ustalono parametr oceny skuteczności zabiegów mycia i dezynfekcji urządzeń. Wykazano, że różnice w budowie określają metodę skutecznej dezynfekcji. Wszystkie urządzenia typu pierwszego po jednokrotnej dezynfekcji podawały niezmienną pod względem bakteriologicznym wodę. Aby uzyskać podobny efekt w urządzeniach typu II, konieczne było powtórzenie zabiegu dezynfekcji. Z powodu wykrycia w wodzie z urządzenia po dezynfekcji bakterii z grupy coli i *Psudomonas aeruginosa*, z 308 urządzeń typu II do powtórnego zabiegu przekazano 99. Wykazano, że sposób wykonania zabiegu mycia i dezynfekcji jest uzależniony od konstrukcji urządzeń dozujących.

**Słowa kluczowe:** woda źródłana, urządzenia dozujące, mycie i dezynfekcja, jakość mikrobiologiczna.

### Wstęp

Krajowe przepisy określające przydatność do spożycia wód mineralnych i źródłanych w opakowaniach jednostkowych ograniczają się jedynie do jakości produktu gotowego, czyli wody w zapieczętowanej butelce. W przypadku opakowań o małych pojemnościach przepisy te spełniają swoją funkcję, jednak w przypadku opakowań o pojemności powyżej 5 litrów, gdzie konieczne jest zastosowanie urządzenia dozującego, nie obejmują momentu konsumpcji. Obowiązujące rozporządzenie MZ z 18 kwietnia 2003 r. [8], podobnie jak wcześniejsze z 27 grudnia

2000 r. [7], stanowi o konieczności zaopatrzenia opakowania na wodę o pojemności powyżej 5 litrów w urządzenie dozujące, nie ujmuje natomiast wymagań związanych ze stanem sanitarnym tego urządzenia i nie określa czasu użytkowania pomiędzy zabiegami dezynfekcyjnymi. Dokument sporządzony przez polską sekcję European Bottled Watercooler Association przy Krajowej Izbie Gospodarczej – Przemysł Rozlewniczy szczegółowo opisuje metody utrzymania odpowiedniego stanu sanitarnego urządzenia podczas jego eksploatacji [6].

Opakowania o pojemności powyżej 5 litrów wraz z urządzeniami dozującymi pojawiły się w Polsce w 1990 r. Obecnie na rynku polskim działa wielu dystrybutorów wód źródlanych. W swojej ofercie proponują opakowania 2, 3, 5 galonowe i gamę urządzeń do dozowania wody: grzewczo-chłodzące oraz dozujące wodę o temperaturze pokojowej. Rozbudowana konstrukcja urządzeń grzewczo-chłodzących sprawia duże trudności w utrzymaniu jakości wody, przygotowywanej przez nie pomiędzy opakowaniem a kranem dozującym. Pojawiły się urządzenia z wbudowaną lampą emitującą promieniowanie ultrafioletowe, zabezpieczającą powietrze w strefie poboru wody. Utrzymanie odpowiedniej mikrobiologicznej jakości wody jest niezwykle istotnym elementem w odbiorze jakości rozumianej przez konsumentów [1]. Znaczenie tego problemu wzrasta proporcjonalnie do czasu użytkowania urządzeń dozujących i w przypadku wielu firm działających w segmencie pięciogalonowym rynku rozlewniczego jest poważnym problemem, jak dotąd pomijanym. Możliwość zapewnienia oferty na wysokim poziomie jakościowym w dużej mierze zależy od rodzajów urządzeń do dozowania wody, jakimi dysponują firmy segmentu pięciogalonowego. W związku z wprowadzeniem systemu HACCP, jako obowiązującej metody zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego żywności, koniecznością staje się wprowadzenie praktyk gwarantujących bezpieczeństwo produktu nie tylko w sferze produkcji, ale również podczas dystrybucji i konsumpcji [3, 5]. Przepisy National Sanitary Foundation, organizacji promującej ciągle podnoszenie standardów w produkcji i obrocie wodą w opakowaniach jednostkowych, jednoznacznie nakładają na firmy rozlewnicze obowiązek dbałości o stan sanitarny i techniczny oferowanych urządzeń, nie tylko w momencie nabycia przez konsumenta, ale także w trakcie stałej współpracy. Tak więc z punktu widzenia producentów wód, idealnym urządzeniem byłoby takie, które łatwo można zdemontować, wymienić wszystkie części kontaktujące się z wodą, i co najważniejsze, łatwo oczyścić. Prosta budowa, łatwy demontaż oraz wymiana części mających kontakt z wodą na nowe i sterylne jest podstawową zaletą takiego urządzenia, gdyż umożliwia utrzymanie wymaganej jakości wody w urządzeniu dozującym. Proces przygotowania urządzeń dozujących oraz ich dezynfekcja jest poważnym przedsięwzięciem organizacyjnym z uwagi na konieczność utrzymania wysokiej czystości mikrobiologicznej w trakcie oraz po wykonaniu wszystkich zabiegów. Szczególnej uwagi wymaga problem czynnika

ludzkiego. Podczas gdy proces przygotowania opakowań i napełnienie ich wodą jest automatyczny, gdzie kontakt pracowników z produktem lub opakowaniami jest ograniczony lub w ogóle nie istnieje, to w przypadku przygotowania urządzeń do dozowania wody bezpośredni kontakt, z przyczyn podyktowanych ilością niezbędnych operacji do wykonania, jest niezbędny.

Dysponowanie dystrybutorami rozbieralnymi umożliwia opracowanie skutecznych metod mycia i dezynfekcji. Procesy dezynfekcyjne można prowadzić z zastosowaniem różnych metod. Z uwagi na różnice w stopniu zabrudzenia i warunków w jakich pracują urządzenia, nie istnieje uniwersalna metoda lub środek, za pomocą którego możliwe byłoby wykonanie skutecznego zabiegu mycia i dezynfekcji zarówno urządzeń rozbieralnych, jak i nierozbieralnych. Właściwa jakość wody w zapieczętowanym opakowaniu, jako efekt podejmowanych działań i zastosowania procesów zabezpieczających na etapie produkcji, może być zupełnie niezauważona przez klientów przy użyciu nieodpowiednio przygotowanych urządzeń dozujących [4].

Wielkość polskiego rynku rozlewniczego w segmencie pięciogalonowym oraz prognozy rozwoju na przyszłość stanowią poważne wyzwanie dla organów ustalających zasady funkcjonowania tego segmentu, dla organizacji promujących standardy w przemyśle rozlewniczym oraz dla samych firm rozlewniczych, odpowiadających za bezpieczeństwo produktu [2].

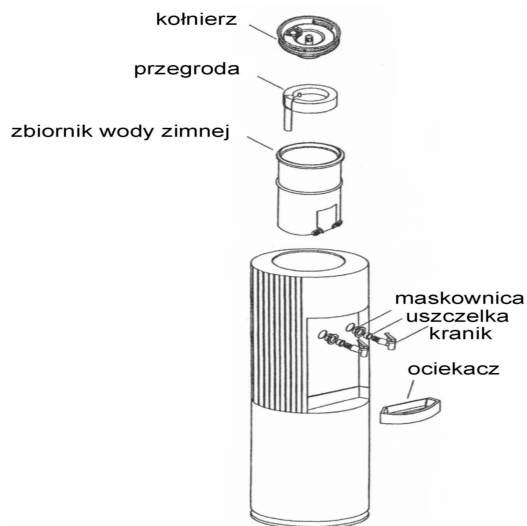
Celem pracy było określenie skuteczności wypracowanych metod mycia i dezynfekcji urządzeń dozujących wodę oraz wykazanie różnicy efektu dezynfekcji urządzeń w zależności od ich konstrukcji.

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły urządzenia grzewczo-chłodzące, dozujące wodę z butli o pojemności 5 galonów (18,9 l) po zastosowaniu procesów mycia i dezynfekcji. Urządzenie zaopatrzone jest w kołnierz z iglicą, która po założeniu butli otwiera korek zabezpieczający i przegrodę z przewodem doprowadzającym wodę do zbiornika wody zimnej. Napełnianie zbiorników wody w urządzeniu następuje samoczynnie. Do poboru wody służą krany umieszczone na płycie czołowej (rys. 1).

Do analizy przygotowano dwa typy dystrybutorów:

- typ I – urządzenia rozbieralne, w których wymiana części kontaktujących się z wodą jest możliwa i łatwa do wykonania. Pozwala to na mechaniczne usunięcie zanieczyszczeń, biofilmu i zastosowania łagodnych preparatów dezynfekujących, stosowanych w krótkim czasie;
- typ II – urządzenia nierozbieralne, w których wymiana części kontaktujących się z wodą jest niemożliwa, co nie pozwala na mechaniczne usunięcie zanieczyszczeń, biofilmu oraz wymaga zastosowania agresywnych preparatów myjących i dezynfekujących, stosowanych w długim czasie.



Rys. 1. Schemat budowy urządzenia dozującego wodę.

Fig. 1. Scheme of the distributor's structure

Skuteczność zastosowanych zabiegów oceniano na podstawie wyników analizy bakteriologicznej wody pobieranej z urządzenia. Do kontroli dystrybutorów używano wody z butli, pobieranej z linii technologicznej bezpośrednio przed badaniem. Ocenę bakteriologicznej czystości wody wykonywano w oparciu o wymogi zawarte w rozporządzeniu MZ z dnia 18 kwietnia 2003 r. i wewnętrzne procedury kontroli procesu produkcyjnego i gotowego produktu. Wodę z dystrybutora pobierano z kranu wody chłodnej i badano metodą filtrów membranowych wg Polskich Norm [9, 10, 11, 12]. Analizę bakteriologiczną ograniczono do oznaczenia obecności w 100 ml wody bakterii z grupy coli, paciorkowców kałowych, *Pseudomonas aeruginosa* oraz oznaczenia ogólnej liczby bakterii.

### Wyniki i dyskusja

W latach 2002–2003, w ciągu 21 miesięcy, prowadząc comiesięczne oznaczenia czystości mikrobiologicznej wody, przebadano 299 urządzeń dozujących typu I. W próbach wody pobranej z dystrybutorów nie wykazano obecności bakterii z grupy coli, paciorkowców kałowych i *Pseudomonas aeruginosa*. Ogólna liczba bakterii wyhodowanych na agarze odżywczym po 48 godz. inkubacji w temp. 37°C odpowiadała standardom założonym na początku eksperymentu. W wodzie z dystrybutora i w wodzie bezpośrednio z butli ogólne liczby bakterii były podobne i nie przekraczały 20 w 100 ml.



Wobec powyższego wszystkie testowane urządzenia przekazano do dystrybucji. Proces mycia i dezynfekcji przeprowadzono w jednorodnych warunkach bez względu na stan i ogólny wygląd urządzeń. Stworzenie ciągu technologicznego mycia i dezynfekcji urządzeń, o stałych parametrach, skutkowało powtarzalnym rezultatem w postaci urządzenia podającego czystą, nie zmienioną pod względem bakteriologicznym wodę. Na podstawie wyników doświadczenia ustalono poziom kontroli czystości urządzeń po myciu i dezynfekcji i określono, że próba kontrolna do badań jakości mikrobiologicznej dystrybutorów typu I będzie wynosiła 4 urządzenia na 100 dezynfekowanych.

W tab. 1. przedstawiono efekty dezynfekcji urządzeń dozujących typu II.

Tabela 1

Udział wyników potwierdzających obecność poszczególnych grup bakterii, dyskwalifikujących urządzenie dozujące typu II do użytku.

Percentage fraction of the results confirming the presence of bacteria from individual classes, which disqualify the use of the second type distributor during.

Miesiąc Month	Liczba badanych urządzeń Number of checked distributors	Udział wyników dyskwalifikujących urządzenie do użytku [%] Number of results disqualifying the use of distributors [%]				Udział dystrybutorów do powtórnej dezynfekcji Percentage fraction of distributors requiring repeated disinfection
		Ogólna liczba bakterii Total amount of bacteria	Bakterie grupy coli Coli group	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>	
Rok 2002 / Year 2002						
II	1	0	0	0	0	0
III	34	0	2,9	35,2	0	35,2
IV	57	0	17,5	7,0	0	19,3
V	32	0	0	0	0	0
VI	12	0	0	0	0	0
VII	45	2,2	0	11,9	0	11,1
VIII	23	0	0	0	0	0
IX	17	0	47	35,2	0	47
X	30	0	23,3	20	0	23,3
XI	0	0	0	0	0	0
XII	8	0	0	0	0	0
Rok 2003 / Year 2003						
I	20	0	0	5	0	5
II	29	0	0	6,8	0	6,8

Badania mikrobiologiczne wody pobieranej z dystrybutorów tego typu przeprowadzono w latach 2002 i 2003. Konstrukcja urządzeń uniemożliwiała

mechaniczne usunięcie zanieczyszczeń w wewnętrznej instalacji podawania wody. Do mycia i dezynfekcji używano preparatów o wyższym stężeniu i w dłuższym czasie. W czasie eksperymentu zbadano 308 urządzeń, z czego 99 przekazano do powtórnej dezynfekcji, nierzadko uzyskując pożądaną efektywność czystości mikrobiologicznej dopiero po 3 pełnych cyklach dezynfekcyjnych. Nie wykazano obecności paciorkowców kałowych. Głównym powodem przekazywania urządzeń do powtórnej dezynfekcji było wykrywanie obecności w wodzie bakterii z grupy coli i *Pseudomonas aeruginosa*. Urządzenia wykorzystane do eksperymentu były w różnym stopniu zanieczyszczone. Wyniki analiz wody z dystrybutorów charakteryzowały się dużą rozbieżnością, od całkowitego braku do ilości uniemożliwiającej policzenie kolonii. Do problemu nie zawsze skutecznej dezynfekcji doszedł problem czasu, jaki należało przeznaczyć na dezynfekcję tego typu urządzeń oraz problem ze stosowaniem agresywnych środków chemicznych i ich utylizacją.

### Wnioski

1. Zastosowanie rozbiornych urządzeń dozujących (typu I) w opakowaniach o pojemności powyżej 5 l umożliwia przeprowadzenie skutecznej ich dezynfekcji, bez używania agresywnych środków chemicznych, a prosta budowa i łatwy demontaż pozwala na wykonanie wymiany elementów wpływających na jakość wody w miejscu użytkowania urządzenia.
2. Powtarzalność efektu dezynfekcji urządzeń typu pierwszego umożliwia złagodzenie rygorów kontroli i zmniejszenie liczby analiz czystości mikrobiologicznej.
3. Urządzenia dozujące nierozbiornalne (typu II) wymagają szczególnego traktowania i kontroli. Z powodu braku powtarzalności efektu dezynfekcji, konieczna staje się analiza każdego urządzenia po myciu i dezynfekcji. Na podstawie wyników dezynfekcji reprezentatywnej próby nie można wnioskować o czystości mikrobiologicznej całej grupy dezynfekowanych urządzeń.

### Literatura

- [1] Hamrol A., Mantura W.: Zarządzanie jakością - teoria i praktyka. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1999, s. 44.
- [2] Herde J.: Odpowiedzialność za produkt. Wyd Forum, Poznań 2000.
- [3] Kołożyn-Krajewska D., Sikora T.: HACCP. Koncepcja i system zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego żywności. SITSpoż. NOT, Warszawa 1999, s. 17.
- [4] Sadłoń T.: Bacteriological control of sources and processing of water for human consumption. Wyd. UMK, Prace limnologiczne XXII- Nauki mat.-przyrod., 2003, z. 110.
- [5] Codex Alimentarius Commission.: Food hygiene- Basic texts. Version 3,1997, p. 36-39.

- [6] Zalecane praktyki higieniczne EBWA dla systemu 5 galonowego. European Bottled Watercooler Association – polska sekcja przy KIG, 2002.
- [7] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 27 XII 2000 r. w sprawie szczególnych warunków i wymagań sanitarnych przy produkcji naturalnych wód mineralnych, naturalnych wód źródlanych oraz wód stołowych w opakowaniach jednostkowych. Dz. U. z dnia 23 stycznia 2001 r. Nr 4, poz. 38.
- [8] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 18 IV 2003 roku w sprawie szczególnych warunków sanitarnych oraz wymagań w zakresie przestrzegania zasad higieny w procesie produkcji lub obrotu naturalnymi wodami mineralnymi i naturalnymi wodami źródlanymi. Dz. U. z dnia 21 maja 2003 r. Nr 89, poz. 842.
- [9] Pr-PN –C-04615-30: 1999. Woda i ścieki. Badania mikrobiologiczne. Oznaczenie bakterii *Pseudomonas aeruginosa* metodą filtrów membranowych.
- [10] Pr-PN-ISO 9308-1: 1999. Jakość wody. Wykrywanie i oznaczenie bakterii grupy coli, bakterii grupy coli termotolerancyjnych i domniemanych *Escherichia coli*. Metoda filtrów membranowych.
- [11] PN-82/C-04615.25. Woda i ścieki. Badania mikrobiologiczne. Oznaczenie paciorkowców kałowych metodą filtrów membranowych (FM) i metodą probówkową.
- [12] PN-ISO 6222: 1999. Jakość wody. Oznaczenie żywych organizmów. Określenie ogólnej liczby kolonii na agarze odżywczym metodą posiewu powierzchniowego lub wglębnego.

## BACTERIOLOGICAL ANALYSIS OF CLEANED AND DISINFECTED DISTRIBUTORS

### S u m m a r y

A series of bacteriological analyses of water collected from distributors applied to dose water from containers of more than 5 litres volume. The objective of the laboratory studies was to determine the washing and disinfection efficiency with regard to a special type of the system used. Water samples were collected after the completed cleaning and disinfection of the distributors. Water in the bottle and a distributor constitute one integral unit offered to customers. Thus, the final water quality is, in fact, influenced by the two factors: purity of water in the container and distributor's cleanness. With regard to the structure of the distributors, they can be divided into two types. The first type comprises distributors, in which the exchange of the elements directly contacting water is easy to perform, and the second type: devices in which the replacement of spare parts is impossible. A parameter called evaluation efficiency of the cleaning and disinfection procedures was set. It was proved that some differences in the structure of the distributors determine the selection of an efficient disinfection method. Distributors of the first type were disinfected once, and after this treatment they distributed water of no microbiological changes. As for the distributors of the second class, it was necessary to disinfect them twice in order to obtain the same effect as the single disinfection treatment of the first class distributors. 99 distributors of the second class, out of totally 308 distributors checked, needed to be disinfected for the second time because water from them contained coli bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*). The investigation performed shows that the method of washing and disinfecting distributors depends on the structure of the distributors.

**Key words:** spring water, distributors, washing and disinfection, microbiological quality 