



**POLSKIE TOWARZYSTWO
TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI**

ŻYWNOŚĆ

NAUKA • TECHNOLOGIA • JAKOŚĆ

Nr 1 (38)

Kraków 2004

Rok 11

ŻYWNOSĆ

Organ naukowy PTTŻ – kwartalnik

Nr 3 (40)

Kraków 2004

Rok 11

SPIS TREŚCI

Od Redakcji	3
ANTONI RUTKOWSKI: Słowo od Przewodniczącego Rady Programowej.....	5
AGNIESZKA POŁOM, NINA BARYŁKO-PIKIELNA: Analiza czynników decydujących o preferencjach polskich konsumentów mięsa wieprzowego.....	7
RAFAŁ WINARSKI, STANISŁAW WAJDA, KAROL BORZUTA: Szacowanie składu tkankowego tusz wieprzowych dzielonych na elementy według zasad stosowanych w Unii Europejskiej	24
PIOTR KONIECZNY, RYSZARD KOWALSKI, JAN PYRCZ: Wybrane wyróżniki jakościowe suszonych produktów przekąskowych z mięsa wołowego.....	32
PRZEMYSŁAW RATAJCZAK, WOJCIECH BIAŁAS, RADOSŁAW DEMBCZYŃSKI, WŁODZIMIERZ GRAJEK, TOMASZ JANKOWSKI: Ekstrakcja dwufazowa lizozymu z białka jaja kurzego	40
ANNA DEMCZUK, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI, JADWIGA KOWALEWSKA-PIONTAS, JUSTYNA GÓRSKA: Wzbogacanie w oligosacharydy odcieków po ultrafiltracji mleka i ich zastosowanie w produkcji jogurtu	53
WANDA KUDEŁKA, MAŁGORZATA MARZEC: Preferencje studentów dotyczące spożycia mlecznych napojów fermentowanych	63
AGNIESZKA WOJTYŚ, TOMASZ JANKOWSKI: Wpływ temperatury na szybkość przenikania wybranych olejków eterycznych do komórek drożdży piekarskich	77
BARBARA BARANIAK, MAŁGORZATA NIEZABITOWSKA, HELENA PORZUCEK: Zawartość białka ogółem, inhibitorów tripsyny i stachiozy w preparatach białkowych uzyskiwanych z mąki grochu za pomocą różnych metod koagulacji.....	87
MIROŚLAW FIK, AGNIESZKA ZAWIŚLAK: Porównanie właściwości przeciwutleniających wybranych herbat	98
ANNA PEKSA, AGNIESZKA KITA, TOMASZ ZIĘBA: Wybrane właściwości smażonych chrupek ziemniaczanych z różnym dodatkiem błonnika	106
AGNIESZKA WIKIERA: Wpływ wybranych preparatów pektynaz i fosfataz na degradację fitynianów paszy trawionej metodą <i>in vitro</i>	114
J. JURIKOVA, M. KALACOVA, P. GRAMETBAUER: Zawartość metali ciężkich (ołowiu i kadmu) w zestawach dań obiadowych w stołówce wojskowej uczelni w Republice Czeskiej..	125
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie krajowym.....	129
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Współczesny leksykon wiedzy o żywności.....	146
STANISŁAW POPEK: Nowe książki.....	149
BOHDAN ACHREMOWICZ: Jubileusz 55-lecia pracy naukowo-dydaktycznej prof. dr hab. dr h.c. Mieczysława Pałasińskiego	154
JÓZEFA GARDZIELEWSKA: Z żałobnej karty – prof. dr hab. Jerzy Kortz	160
WACŁAW LESZCZYŃSKI: III Konferencja Naukowa „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie”.....	163
EWA ŚLAWSKA: X lat kwartalnika „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość”.....	164
Technolog Żywności	167

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 3 (40)

Kraków 2004

Vol. 11

CONTENTS

From the Editor	3
ANTONI RUTKOWSKI: Message from the Chairman of Programming Committee	5
AGNIESZKA POŁOM, NINA BARYŁKO-PIKIELNA: The analysis of factors determining preferences of Polish pork consumers	7
RAFAŁ WINARSKI, STANISŁAW WAJDA, KAROL BORZUTA: Assessment of the tissue composition of pig carcasses dissected according to methods as indicated by the EU regulations	24
PIOTR KONIECZNY, RYSZARD KOWALSKI, JAN PYRCZ: Selected quality properties of dried beef meat snacks	32
PRZEMYSŁAW RATAJCZAK, WOJCIECH BIAŁAS, RADOSŁAW DEMBCZYŃSKI, WŁODZIMIERZ GRAJEK, TOMASZ JANKOWSKI: An aqueous two-phase extraction of lysozyme from egg white	40
ANNA DEMCZUK, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI, JADWIGA KOWALEWSKA-PIONTAS, JUSTYNA GÓRSKA: Oligosaccharide-enriched milk permeates after ultrafiltration and their application in the production of yoghurt	53
WANDA KUDEŁKA, MAŁGORZATA MARZEC: The students' preferences for consuming fermented milk drinks	63
AGNIESZKA WOJTYŚ, TOMASZ JANKOWSKI: The effect of temperature on the permeation rate of some selected essential oils into baker's yeast cells	77
BARBARA BARANIAK, MAŁGORZATA NIEZABITOWSKA, HELENA PORZUCEK: The content of total protein, trypsin inhibitor, and stachyose in protein preparations coagulated from pea flour by various methods	87
MIROŚLAW FIK, AGNIESZKA ZAWIŚLAK: Antioxidant activity of some selected teas – a comparison	98
ANNA PEKSA, AGNIESZKA KITA, TOMASZ ZIĘBA: Selected properties of fried potato snacks with various contents of dietary fiber added to semi-products	106
AGNIESZKA WIKIERA: The effect of selected pectinase and phosphatase preparations on the phytate degradation in feeds digested using an <i>in vitro</i> procedure	114
J. JURIKOVA, M. KALACOVA, P. GRAMETBAUER: Heavy metal contents (lead and cadmium) in sets of courses served in military university dining hall in the Czech Republic	125
GRAŻYNA MORKIS: Food Problems in Polish Legislation	129
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Food Science Lexicon – Contemporary Terms	146
STANISŁAW POPEK: Book Reviews	149
BOHDAN ACHREMOWICZ: 55 Jubilee of Scientific and didactic work of prof. dr hab., dr h.c. Mieczysław Pałasiński	154
JÓZEFA GARDZIELEWSKA: Obituary Notice – prof. dr hab. Jerzy Kortz	160
WACŁAW LESZCZYŃSKI: 3 rd Scientific Conference: "Comestible and industrial potato and its transformation"	163
EWA ŚLAWSKA: 10 years anniversary of the quarterly "Food. Science. Technology. Quality" ..	164
The Food Technologist	167

Only reviewed papers are published

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

ISSN 1425-6959
ISBN 83-89541-31-9

Warunki prenumeraty

Szanowni Państwo,
uprzejmie informujemy, że przyjmujemy zamówienia na prenumeratę naszego kwartalnika, zarówno od Czytelników indywidualnych, jak i od instytucji, co powinno Państwu zapewnić bieżące otrzymywanie kolejnych wydawanych przez nas numerów.
Szczegółowe informacje znajdują się na stronie **www.ptz.org**

Zamówienia na prenumeratę, jak i na poszczególne numery prosimy kierować na adres:

Wydawnictwo Naukowe PTTŻ

31-425 Kraków, Al. 29 Listopada 46

Nr konta: Deutsche Bank Oddz. w Krakowie

70 1910 1048 0009 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 Barylko-Pikielna, prof. dr hab. Janusz Czapski,
prof. dr hab. Mirosław Fik, prof. dr hab. Józef Fornal, prof. dr hab. Roman A. Grzybowski,
prof. dr hab. Jan Kiszka, prof. dr hab. Henryk Kostyra, prof. dr hab. Andrzej Lenart,
prof. dr hab. Helena Oberman, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, prof. dr hab. Stanisław
Tyszkiewicz

RADA KONSULTACYJNA:

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

WYDAWCA:

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2004

Printed in Poland

Wydawanie publikacji dofinansowane przez Komitet Badań Naukowych

ISSN 1425-6959
ISBN 83-89541-31-9

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

AGNIESZKA POŁOM, NINA BARYŁKO-PIKIELNA

ANALIZA CZYNNIKÓW DECYDUJĄCYCH O PREFERENCJACH POLSKICH KONSUMENTÓW MIĘSA WIEPRZOWEGO

Streszczenie

Przedstawiono analizę czynników decydujących o preferencjach polskich konsumentów wieprzowiny, wykorzystującą nową metodę wzorcowego albumu zdjęć „pork chops” (kotletów schabowych). Wyniki uzyskano z badania preferencji 480 konsumentów, którzy dokonywali wyboru mięsa na podstawie jego wyglądu oraz wypełniali standardowy kwestionariusz ankietowy. W oparciu o modyfikowane cyfrowo obrazy fotograficzne wieprzowiny stwierdzono, że głównymi kryteriami jej wyboru była barwa mięsa i otłuszczenie zewnętrzne: zdecydowana większość konsumentów preferowała jasną barwę mięsa i brak otłuszczenia zewnętrznego. Zidentyfikowano również mniej liczną, ale wyraźnie odrębną grupę konsumentów preferujących mięso ciemne i chude. Wyniki wyboru skonfrontowano ze standardowym kwestionariuszem ankietowym, na podstawie którego określono dane socjodemograficzne i zwyczaje żywieniowe oraz deklarowane preferencje każdego z wymienionych segmentów badanej populacji konsumentów.

Słowa kluczowe: album zdjęć „pork chops”, mięso wieprzowe, konsumenci, preferencje, kryteria wyboru.

Wprowadzenie

Poznanie kryteriów, jakimi kieruje się konsument przy wyborze produktów żywnościowych ułatwia podejmowanie decyzji producentom i handlowcom, którzy chcą im sprostać. W warunkach konkurencji i nadwyżki podaży, znajomość czynników decydujących o wyborze mięsa podczas jego zakupu ma więc istotne znaczenie.

Wydatki na mięso w przeciętnym polskim gospodarstwie domowym zajmują czołowe miejsce i stanowią około 30% całości wydatków na żywność [1]. Dominującym rodzajem mięsa jest wieprzowina, która stanowi aktualnie około 60% ogólnego spożycia mięsa w Polsce [5], a preferowanym elementem kulinarnym jest schab [9].

W ostatnich latach obserwuje się zmiany w wielkości i strukturze konsumpcji produktów mięsnych – zmniejsza się spożycie mięsa wołowego, a wzrasta konsumpcja drobiu [4]. Nie bez wpływu na zachowania konsumentów na rynku mięsa pozostają też doniesienia o epidemiach chorób odzwierzęcych. Indywidualni konsumenci są coraz bardziej zainteresowani bezpieczeństwem żywności (zwłaszcza po skandalu dioksynowym w przemyśle drobiarskim, pryszczycą oraz BSE), jak również ochroną środowiska oraz problemami etycznymi w produkcji mięsa [3, 10].

Proces wyboru mięsa przez konsumentów zależy zarówno od ocenianych wzrokowo cech mięsa (np. barwy, stopnia przetłuszczenia), jak i kontekstu, jaki tworzą miejsce i warunki zakupu (np. czystość, estetyka i oświetlenie ekspozycji) [9].

Istotnym ograniczeniem w badaniach czynników decydujących o wyborze mięsa jest stosunkowo krótki czas, w którym świeże mięso, nawet paczkowane, zachowuje ściśle jednakową jakość pod względem wszystkich badanych cech wyglądu. Ponadto fakt zmienności poszczególnych porcji mięsa powoduje, że różni konsumenci oceniają w istocie porcje o różnej jakości [6, 7]. Jest więc oczywiste, że badania porównawcze kryteriów wyboru mięsa na próbkach naturalnych przez konsumentów w różnych krajach nie są możliwe.

Materiał i metody badań

Metoda wzorcowego albumu „pork chops”

Zastępując w badaniach preferencji konsumenta przy wyborze mięsa naturalne próbki mięsa ich obrazami fotograficznymi można pokonać wymienione wyżej trudności. Fotografia cyfrowa pozwala również w ściśle określony sposób przekształcać obraz, stopniując wybrane cechy wyglądu mięsa. Stwarza to możliwość prowadzenia badań wśród dużej populacji konsumentów, w ciągu dłuższego czasu, a także w skali międzynarodowej, gdzie można dokonywać porównań konsumentów ze względu na ich preferencje odnośnie wyglądu mięsa.

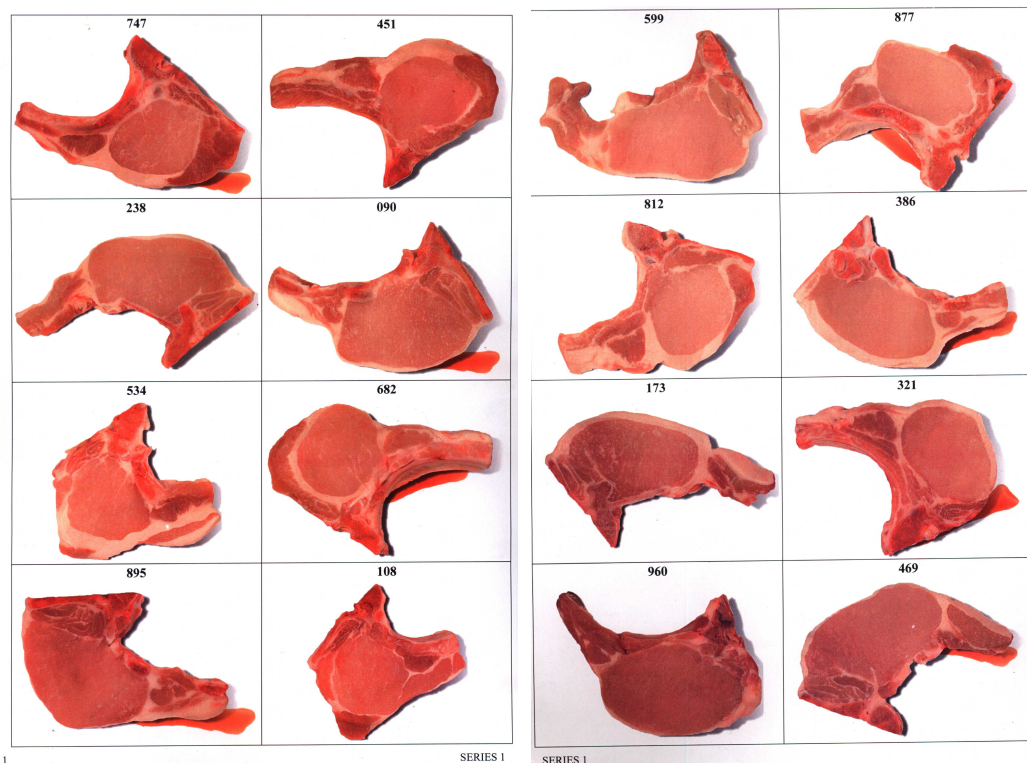
Podstawowe narzędzie badawcze, czyli album wzorców mięsa wieprzowego został zaprojektowany przez dr E. Dransfielda i współpracowników w Instytucie Badań nad Mięsem INRA Theix we Francji (Pracownia Oceny Jakości Sensorycznej i Preferencji Mięsa tego Instytutu). Składa się on z 16 oryginalnych fotografii różnych „pork chops”^{*} (kotletów wieprzowych) zmodyfikowanych w kontrolowany sposób tak, że każda z czterech badanych cech (barwa, okrywa tłuszczowa, marmurkowatość, wyciek) występowała na dwóch różnych poziomach (fot. 1). W ten sposób uzyskano 256 różnych fotografii w każdej z 6 serii, wyczerpujących wszystkie możliwe kombinacje wymienionych czterech cech 16 oryginalnych fotografii „pork chops” (2x2x2x2x16). Zdjęcia kotletów rozmieszczone były na podwójnych stronach albumu w sposób przypadkowy [1].

Instytut Badań nad Mięsem INRA Theix we Francji oraz Uniwersytet Rolniczy w Wageningen (Holandia) zainicjowały projekt międzynarodowych porównawczych badań mających na celu analizę preferencji konsumenckich wyglądu mięsa wieprzowego w różnych krajach, według ujednoliconej metodyki (ocena kotletów wieprzowych – „pork chops” według wzorcowego albumu + jednolita treść ankiety).

W celu uzyskania wyników pochodzących z różnych krajów, o możliwie szerokim zróżnicowaniu kultur i zwyczajów żywieniowych, do współpracy zaproszono 24 zespoły badawcze z 21 krajów, z pięciu kontynentów – Europy, Ameryki, Azji, Afryki oraz Australii; wśród nich także zespół polski. Wszystkie zespoły posługiwały się takim samym albumem fotografii kotletów uzupełnionym o identyczną ankietę.

Stosując standardowy album wzorców, głównym celem niniejszych badań było określenie kształtowania się preferencji konsumentów polskich w zakresie cech wizualnych kulinarnego mięsa wieprzowego pakowanego na tackach (kotletów

^{*} nazywanych dalej „kotletami”



Fot. 1. Przykład strony albumowej ze wzorcami kotletów schabowych – „pork chops” [1].
 Phot. 1. Example of one album's page showing standard pork chops [1].

schabowych), determinowane czterema cechami ich wyglądu – barwą, grubością okrywy tłuszczowej, marmurkowatością i wyciekaniem oraz wskazanie ewentualnej segmentacji konsumentów w wyborze tego mięsa w relacji z różnicami socjodemograficznymi oraz kulturowymi.

Badania pilotażowe

Badania właściwe poprzedzono badaniami pilotażowymi na losowej próbie 50 osób zamieszkałych w Warszawie i okolicach (październik 2002 r.). W ten sposób sprawdzono jasność i jednoznaczność polskiej wersji kwestionariusza ankietowego i zaadaptowano go do dalszych badań. Zapoznano również ankietowanych z praktycznym sposobem prezentacji wzorcowych zdjęć ankietowanym osobom.

Badania właściwe

Badania właściwe przeprowadzono na próbie 480 respondentów zamieszkałych w Warszawie i okolicach, na przełomie listopada oraz grudnia 2002 r. Dobór próby miał charakter przypadkowy. Jedynym ograniczeniem była dolna granica wieku (16 lat) i deklaracja spożywania mięsa. W tab. 1. przedstawiono charakterystykę socjodemograficzną badanej populacji na podstawie odpowiedzi z kwestionariuszy ankietowych.

Każdy respondent przed wypełnieniem kwestionariusza ankiety oglądał album przedstawiający zdjęcia kotletów wieprzowych. Spośród jednej przypadkowo wybranej przez ankietera serii wybierał kolejno 8 preferowanych zdjęć, tj. jedno

zdjęcie z dwóch sąsiednich stron albumu oraz zapisywał wybrane numery tych zdjęć na specjalnym arkuszu sprawozdawczym. Respondenci nie byli informowani ani o układzie albumu, ani o kryteriach różnicowania fotografii, oznaczonych liczbami kodowymi. Starano się, by wszystkie serie były wykorzystane w ocenie w porównywalnym stopniu.

Tabela 1

Charakterystyka socjodemograficzna badanej grupy konsumentów.
Socio-demographic profile of the consumer panel.

Dane demograficzne Demographic data	Konsumenty / Consumers	
	Liczba / Quantity	[%]
Wiek (w latach) / Age (years)		
16 – 24	131	27
25 – 34	107	22
35 – 44	85	18
45 – 54	92	19
≥ 55	65	14
Płeć / Sex: kobiety / female	314	65
mężczyźni / male	166	35
Stan cywilny / Marital status:		
wolny(a), rozwiedziony(a) / single, divorced	233	49
żonaty, zamężna, wspólnie z partnerem, partnerką / married / with partner (de facto married)	246	51
Liczba osób w gospodarstwie domowym / Number of persons in the household		
1	48	10
2	99	21
3	150	31
4	134	28
≥ 5	49	10
Członkowie gospodarstwa domowego / Members of the household:		
małżonek, partner / spouse, partner	251	52
dzieci / children	217	45
rodzice / parents	142	30
dziadkowie / grandparents	15	3
Inni / others	90	19
Całkowity miesięczny dochód gospodarstwa domowego łącznie (wszystkich osób) [zł] / Total monthly income of all members of the household [in PLN]		
< 1000	31	6
1001 – 1500	56	12
1501 – 2100	80	17
2101 – 3000	185	39
3001 – 6000	107	22
≥ 6001	21	4
Wiek (w latach) ukończenia edukacji / Age (years), at which the consumer completed his/her education		
≤ 16	9	2
17 – 18	28	6
19 – 22	121	25
≥ 23	196	41
Pochodzenie etniczne / Ethnic origin:		
polskie / Polish	479	99,8
inne niż polskie / other	1	0,2

Każdy ankietowany dokonywał oceny z innej prezentowanej serii (serie 1–6), a następnie wypełniał kwestionariusz ankietowy.

Kwestionariusz składał się z części zawierającej podstawowe pytania socjodemograficzne oraz ogólne (łącznie 27 pytań), w których pytano o zwyczaje związane z zakupem, przygotowaniem do spożycia i preferencjami mięsa. Wszystkie pytania miały charakter zamknięty, co ułatwiło analizę uzyskanych odpowiedzi.

Po zweryfikowaniu danych zawartych w kwestionariuszach ankietowych i na arkuszach sprawozdawczych z albumu poddano je obróbce statystycznej z zastosowaniem wieloczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) przy użyciu modelu liniowego procedury SAS [8]. Przyjęto poziom istotności $p \leq 0,05$. Hierarchiczną analizę skupień konsumentów (na podstawie podobieństwa dokonanych przez nich wyborów) przeprowadzono z wykorzystaniem procedury SAS CLUSTER. Rozdzieloną analizę skupień wykonano przy użyciu procedury SAS FASTCLUS.*

Wyniki i ich omówienie

Preferowane cechy kotletów wybieranych na podstawie albumu wzorców

Na podstawie wyników badań preferencji 480 osób wykazano istotne zróżnicowanie preferencji respondentów w zakresie wszystkich 4 badanych cech kotletów.

Wyniki testu χ^2 dowodzą, że w zakresie każdej z 4 badanych cech konsumenci różnili się istotnie pod względem preferencji określonej opcji danej cechy.

Stwierdzono, że większość badanych konsumentów zdecydowanie preferowała mięso o jasnoróżowej barwie, bez lub z minimalną grubością okrywy tłuszczowej, bez widocznego przetłuszczenia śródmięśniowego (marmurkowatości) i bez zauważalnego wycieku. Brak otłuszczenia i jasna barwa mięsa były preferowane przez zdecydowanie większy odsetek konsumentów niż brak marmurkowatości i wycieku (rys. 1).

W wyborach preferencyjnych dokonywanych jednorazowo przez konsumentów może się zdarzyć, że część z nich w istocie nie wykazuje wyraźnych i świadomych preferencji, a ich wskazania na fotografii kotletów w albumie mogą mieć charakter losowy. Niektóre cechy mogą być ważniejsze w czasie procesu selekcji niż pozostałe, które mogą w ogóle nie wpływać na wybór (a być dziełem przypadku).

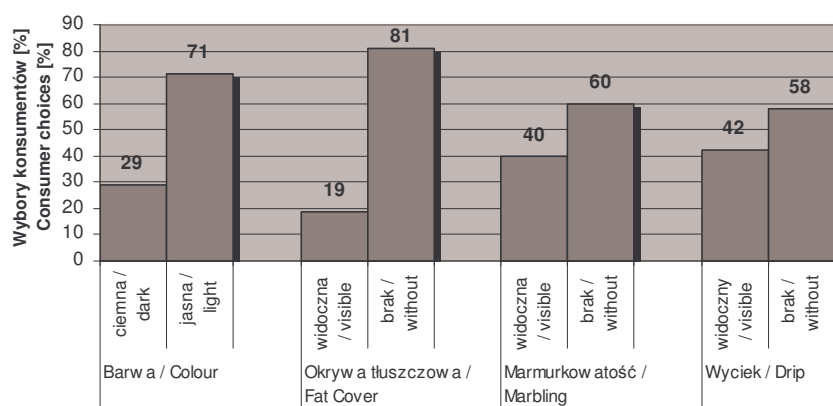
W przeprowadzonych badaniach każdy konsument dokonywał (nie wiedząc o tym) 8 wyborów, co pozwoliło oddzielić konsumentów, charakteryzujących się losowymi wskazaniami od tych, którzy wykazywali świadome i powtarzalne preferencje.

Określono (drogą komputerowej symulacji) prawdopodobieństwo losowego uzyskania tzw. głównego wyboru (main choice), tzn. prawdopodobieństwo ile razy wśród 8 kombinacji cech może wystąpić losowo ta sama kombinacja. Ustalono, że jeśli w 8 wyborach dokonanych przez konsumenta 6 lub więcej razy wskazuje on tę samą próbkę (kształt i położenie kotleta były celowo zmieniane, aby respondent nie rozpoznał, że fotografie kotletów powtarzają się) – oznacza to, że wybór nie jest przypadkowy. W odniesieniu do każdej analizowanej cechy oddzielono na tej podstawie wskazania przypadkowe od wskazań opartych na konsekwentnym, powtarzanym wyborze (rys. 2).

Po oddzieleniu przypadkowych wskazań (gdy konsument wybierał tę samą próbkę mniej niż 6 razy na 8) oznaczonych jako R (random – losowe), preferencje

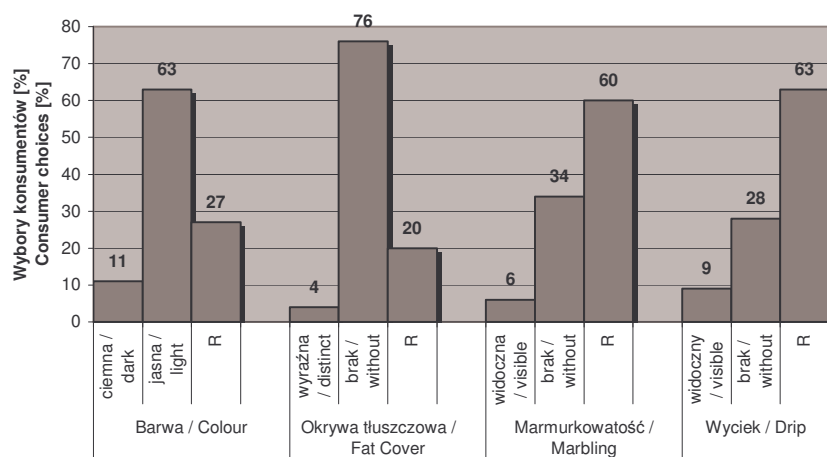
* Wszystkie obliczenia statystyczne wykonano w INRA Theix – jednolicie dla wszystkich uczestniczących w badaniach zespołów.

mięsa chudego (bez okrywy tłuszczowej) o jasnej barwie wystąpiły jeszcze wyraźniej. Natomiast w zakresie marmurkowości i wycieku okazało się, że około 60% wskazań miało charakter przypadkowy, co świadczy o znacznie mniejszej ważkości tych cech w wyborze preferowanego wyglądu mięsa. Potwierdziły to wyniki analizy korespondencji (correspondence analysis).



Rys. 1. Wybory konsumentów w zakresie 4 badanych cech kotletów. W odniesieniu do wszystkich 4 cech stwierdzono statystycznie istotne zróżnicowanie wyboru na podstawie testu χ^2 ($p < 0,0001$).

Fig. 1. Consumer choices within the range of four chop characteristics investigated. On the basis of a χ^2 test performed, there were stated statistically significant differences ($p < 0,0001$) in the among choices made by the consumers with regard to all the four characteristics.



Rys. 2. Wybory dokonane przez konsumentów w zakresie 4 badanych cech kotletów z wydzieleniem przypadkowej selekcji (R). Stosując test χ^2 ($p < 0,0001$) stwierdzono, że w przypadku każdej cechy wszystkie wybory były istotnie zróżnicowane.

Fig. 2. Consumer choices of the four chop characteristics investigated including a separately established random (R) selection category. As for all four chop characteristics, on the basis of a χ^2 test performed, there were stated significant differences among choices of each single characteristic ($p < 0,0001$).

Należy zauważyć, że kształt kotleta nie był czynnikiem badanym, ale czynnikiem dystrakcyjnym i środkiem do realistycznej prezentacji konsumentom badanych cech kotletów.

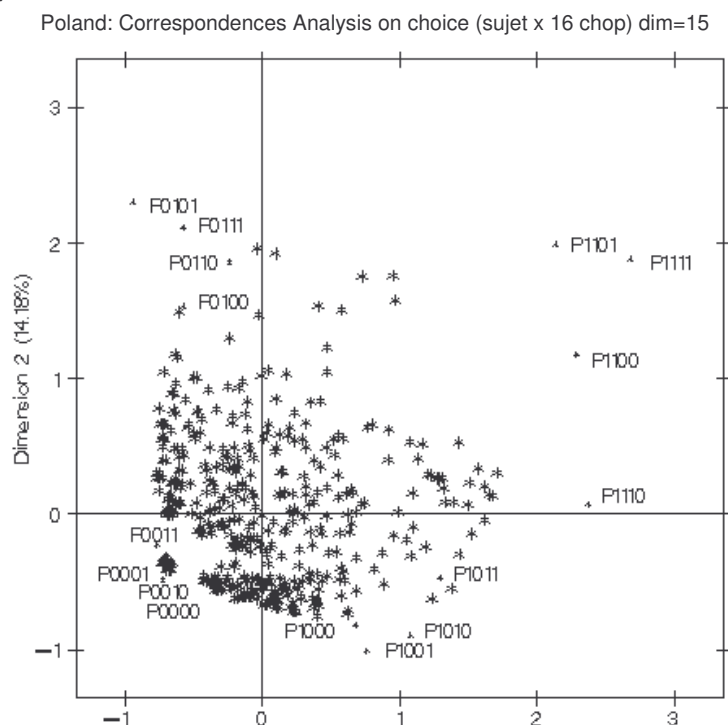
Analiza korespondencji – „mapa” rozkładu indywidualnych cech wyglądu kotletów dokonywanych przez konsumentów

Dla każdej z ankietowanych osób obliczono, ile razy została wybrana przez nią każda kombinacja badanych cech kotleta. Kombinacje te zakodowano w systemie zerojedynkowym jako: P0000, P0100 itd., co stworzyło „mapę” indywidualnych wyborów dokonywanych przez poszczególnych konsumentów (rys. 3).

W analizie korespondencji pierwszy wymiar – oś x – odpowiadał barwie (mięso o jasnoczerwonej barwie w ujemnej części osi: kody P0---, zaś ciemnoczerwone w dodatniej części osi: kody P1---). Pierwszemu wymiarowi przyporządkowany był największy udział zmienności – 15,2%. Zaobserwować można, iż znacznie większa „gęstość” wyborów konsumentów znajduje się w części grafu odpowiadającej jasnoczerwonej barwie mięsa. Barwa mięsa stanowi pierwszy wymiar, co oznacza, że była ona najbardziej istotną spośród wszystkich czterech badanych cech.

Drugi wymiar – oś y – odpowiadał okrywie tłuszczowej (widoczna okrywa w dodatniej części osi y: kody P-1--, brak okrywy (chude mięso) w ujemnej części osi: kody P-0--). Wymiar ten obejmował 14,2% zmienności. Zdecydowanie więcej indywidualnych wyborów konsumentów znajdowało się w części ujemnej osi y (co odpowiadało chudemu mięsu).

Trzeci wymiar nie miał relacji z żadną indywidualną cechą kotleta i był odpowiedzialny tylko za 7,8% całkowitej zmienności. Analiza była prowadzona aż do uzyskania pokrycia 100% zmienności (co odpowiadało 15 matematycznym wymiarom).

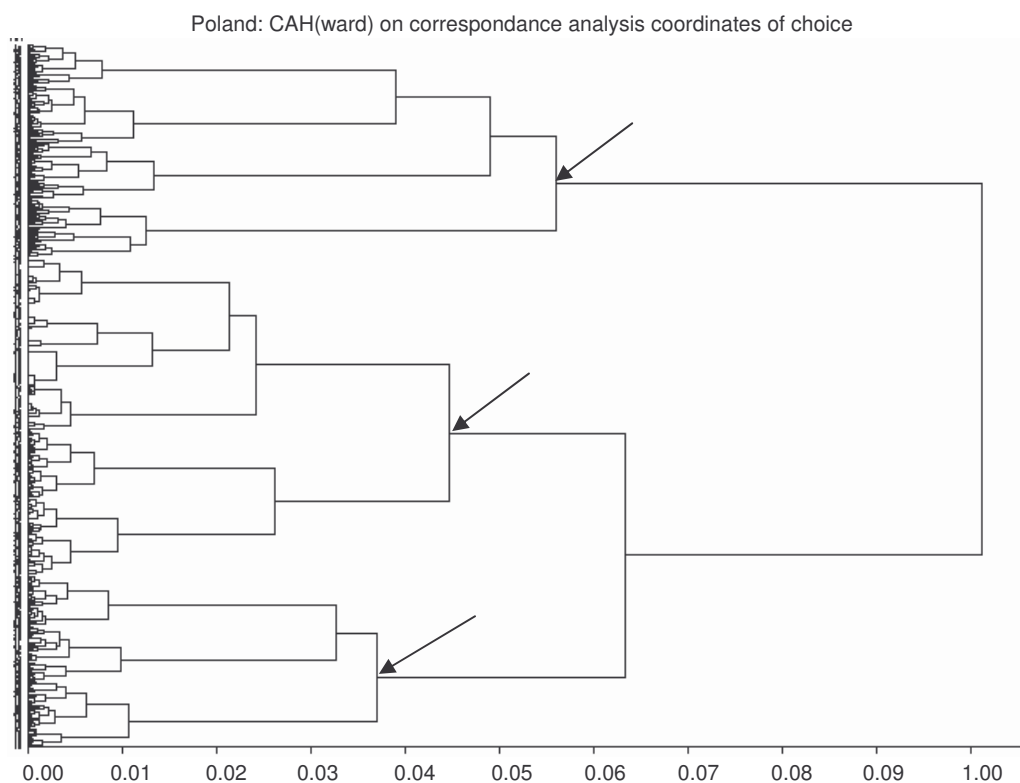


Rys. 3. Pierwsze dwa wymiary analizy korespondencji wyborów cech kotletów dokonywanych przez konsumentów (wymiar 1 – barwa mięsa, wymiar 2 – okrywa tłuszczowa).

Fig. 3. The first two dimensions of the correspondence analysis of choices made by the consumers with regard to four pork chop characteristics (dimension 1 – colour, dimension 2 – fat cover).

Segmentacja konsumentów ze względu na podobne kryteria wyboru

Oczywisty jest fakt, że konsumenci nie są jednorodną populacją o wyrównanych lub zbliżonych preferencjach. Występuje wśród nich często segmentacja na grupy o odmiennych preferencjach i bliskim ich podobieństwie wewnątrz grup. Aby więc wydzielić wśród wszystkich konsumentów osoby charakteryzujące się wyborem podobnych kombinacji cech kotletów, w oparciu o indywidualne wyniki wyboru preferowanego wyglądu mięsa, przeprowadzono najpierw hierarchiczną analizę skupień z wykorzystaniem procedury SAS CLUSTER [8]. Liczbę skupień określono biorąc pod uwagę „odległość” między skupieniami a profilem wyborów na grafie (rys. 4). Następnie wykonano rozdzielną analizę skupień przy użyciu procedury SAS FASTCLUS, klasyfikując konsumentów w 3 (różne pod względem ilościowym) skupienia (wskazane na grafie strzałkami).



Rys. 4. Hierarchiczna analiza skupień oparta na konsumenckich wyborach. Strzałkami zaznaczono 3 odrębne skupienia.

Fig. 4. A hierarchical analysis of clusters based on the consumer choices. The arrows indicate 3 separate clusters.

W tab. 2. przedstawiono procentowy udział indywidualnych wyborów charakterystycznych cech kotletów w każdym z trzech skupień konsumentów. Istotność różnic w porównaniu z całą populacją wyróżniono wytłuszczoną czcionką.

Na podstawie danych z tab. 2 scharakteryzowano ilościowo i jakościowo poszczególne skupienia:

- **skupienie 1** – 51 konsumentów (11%) nie miało zdecydowanych preferencji w stosunku do barwy mięsa (najwięcej losowych wyborów barwy kotletów), wykazywało większe preferencje w stosunku do mięsa tłustego (w porównaniu z innymi skupieniami), preferowało kotlety bez wycieku i widocznej marmurkowatości. Duży odsetek osób (blisko połowa) dokonywała przypadkowego wyboru.
- **skupienie 2** – 64 konsumentów (13%) wykazało zdecydowane preferencje w stosunku do mięsa ciemnoczerwonego o małym otłuszczeniu zewnętrznym.
- **skupienie 3** – najliczniejsze, objęło 365 konsumentów (76%) silnie preferujących jasnoczerwone i chude kotlety.

Należy zauważyć, że w przypadku pozostałych dwóch cech: marmurkowatości i wycieku, udział losowych wyborów w 2. i 3. skupieniu był zdecydowanie wyższy, co świadczy o ich relatywnie mniejszym znaczeniu w porównaniu z barwą i otłuszczeniem zewnętrznym.

Tabela 2

Procentowy udział dokonywanych wyborów cech kotletów w 3 skupieniach, z zaznaczeniem istotnych różnic w stosunku do całej populacji ($p < 0,001$).

Percent shares of choices among individual chop characteristics in each cluster; significant differences in relation to results of the entire panel are marked in bold ($p < 0,001$).

Skupieni a Clusters	Barwa Colour			Okrywa tłuszczowa Fat cover			Marmurkowatość Marbling			Wyciek Drip		
	ciemna dark	jasna light	R	wyraźna distinct	brak without	R	widoczn a visible	brak without	R	widoczn y visible	brak without	R
1	24	25	51	14	45	41	4	49	47	8	43	49
2	50	20	30	2	56	42	16	13	72	6	30	64
3	2	75	23	3	84	13	5	36	59	10	26	64
Cała populacja Entire panel	11	63	27	4	76	20	3	34	60	9	28	63

Zwyczaje żywieniowe konsumentów i ich preferencje dotyczące mięsa (na podstawie kwestionariusza ankietowego)

Spośród 480 respondentów, na pytanie o spożywanie posiłków poza domem, 30% odpowiedziało, że wszystkie posiłki jada w domu. Wśród 70% ankietowanych spożywających każdego tygodnia posiłki poza domem ($n = 337$) najczęściej wymieniano 1 oraz 2 posiłki (po 20%). Prawie tyle samo osób (19%) wskazało, iż spożywa każdego tygodnia poza domem 5 posiłków; 10% badanych spożywało poza domem 3 posiłki a 7% – 4 posiłki w ciągu tygodnia. Respondenci w mniejszym stopniu spożywali poza domem więcej niż 5 posiłków tygodniowo.

Na przygotowanie posiłku ankietowani poświęcali najczęściej od 30 min do 1 godz. (54%); 31% konsumentów przygotowywało posiłek więcej niż 1 godz., a 15% badanych przeznaczało na jego wykonanie mniej niż 30 min.

Rozpatrując wyposażenie kuchni w sprzęt gospodarstwa domowego stwierdzono, że wśród 480 ankietowanych osób prawie wszyscy mieli chłodziarkę (99,8%) oraz kuchenkę (98,9%), 93% osób miało w swoim gospodarstwie domowym piekarnik. Znaczący odsetek badanych posiadał zamrażarkę (81%). Co trzeci ankietowany dysponował kuchenką mikrofalową.

Prawie 40% respondentów stwierdziło, że w swoim gospodarstwie domowym główne posiłki (obiad, kolację) przygotowuje każdego dnia, zaś kilka razy w tygodniu – 32% respondentów. Co piąty konsument wskazał, że przygotowuje główne posiłki mniej niż raz w tygodniu, natomiast 9% badanych zaznaczyło, że tylko raz w tygodniu zajmuje się przygotowywaniem głównych posiłków w swoim gospodarstwie domowym.

Wśród badanej grupy (n = 480) 36% ankietowanych osób prawie nigdy nie spożywało posiłków samotnie, zaś 32% osób jadało samotnie kilka razy w tygodniu. Po 13% respondentów odpowiedziało, że spożywa samotnie posiłki każdego dnia oraz mniej niż raz w tygodniu 6% badanych osób samotnie spożywało posiłki raz w tygodniu.

Aż 93% respondentów wskazało, że nie wstrzymuje się od spożywania pewnych produktów ze względów religijnych bądź kulturowych. Spośród 7% wstrzymujących się od spożywania produktów (n = 32), badani najczęściej wskazywali na ograniczanie spożywania głównie ze względu na post, np. w piątek.

Sposób zakupu mięsa, częstotliwość jego spożycia i preferencje konsumentów dotyczące mięsa: 69% konsumentów zadeklarowało, że jako członek swojego gospodarstwa domowego zazwyczaj robi zakupy mięsa. Wśród nich 64% zwykle nabywa mięso w supermarkecie, 33% – w sklepie mięsnym, a tylko 3% konsumentów – zaopatruje się w mięso w gospodarstwie rolnym.

Ankietowani najczęściej spożywali mięso (bez wskazywania na jego rodzaj) kilka razy w tygodniu (60% badanych). Co czwarty konsument jadał mięso raz dziennie, każdego dnia i w każdym posiłku – 7% respondentów. Tylko 6% badanych wykazało, że spożywa mięso raz w tygodniu, a 3% ankietowanych – rzadziej niż raz w tygodniu.

Mięso wieprzowe było najczęściej spożywane raz w tygodniu (56% odpowiedzi), 34% konsumentów jadało wieprzowinę co najmniej raz w miesiącu, a 8% – rzadziej niż raz w miesiącu. Tylko 2% badanych osób stwierdziło, że spożywa mięso wieprzowe każdego dnia.

Należy zwrócić uwagę, że pytano ankietowanych o kulinarne mięso wieprzowe, a nie o jego przetwory.

Na pytanie o zmiany w spożyciu mięsa wieprzowego 52% odpowiedzi wskazywało, że konsumpcja ta pozostała bez zmian. Wśród osób, które zauważyły zmiany spożycia wieprzowiny (n = 229), 78% badanych stwierdziło, że jada obecnie mniej wieprzowiny, zaś 22% – że spożywa jej więcej niż dotychczas.

Wśród sposobów przygotowywania wieprzowiny do spożycia najczęściej wskazywano smażenie (74% odpowiedzi) oraz duszenie (60% odpowiedzi) jako sposób obróbki kulinarnej; 40% respondentów wskazywało na gotowanie wieprzowiny, 18% na grillowanie, zaś 4% wymieniło inne sposoby obróbki kulinarnej (respondenci mogli zaznaczyć więcej niż jedną odpowiedź).

Aż 89% ankietowanych (n = 429) deklaroowało, że lubi mięso wieprzowe. Najczęstszym wymienianym tego powodem był smak wieprzowiny (75% odpowiedzi). Konsumenty doceniali także możliwości różnego przyrządzania mięsa wieprzowego

(45%) oraz jego dostępność (28% odpowiedzi); 16% respondentów wskazywało, iż preferują oni wieprzowinę ze względu na jej wartość odżywczą oraz cenę (14%). Można było zaznaczyć więcej niż jedną odpowiedź (stąd procent odpowiedzi nie sumuje się do 100).

Pod względem oceny jakości kupowanej wieprzowiny dla 59% ankietowanych była ona prawie zawsze dobrej jakości, dla 29% zawsze spełniała oczekiwania jakościowe, 11% konsumentów stwierdziło, że czasami kupione mięso wieprzowe jest dobrej jakości. Odpowiedzi: „prawie nigdy nie jest dobrej jakości” oraz „nigdy nie jest dobrej jakości” zaznaczył tylko 1% badanych konsumentów.

Na pytanie „czy mięso wieprzowe jest drogie?” opinie respondentów były podzielone. Odpowiedzi „tak” udzieliło 46% ankietowanych, zaś „nie” 54%. Wśród oceniających wieprzowinę jako mięso tanie, najczęściej, bo 39% ankietowanych wykazywało całkowity miesięczny dochód gospodarstwa domowego (wszystkich osób) w zakresie 2101–3000 zł.

Zaobserwowane zależności pomiędzy danymi ankietowanymi a segmentacją konsumentów w obrębie trzech skupień

W odniesieniu do każdego pytania określono istnienie zależności z dokonanymi wyborami, stosując test χ^2 (tab. 3).

Stosując test χ^2 ustalono, że spośród kilkudziesięciu danych socjodemograficznych i odnoszących się do zwyczajów żywieniowych badanej populacji konsumentów tylko 9 wykazało istotne zależności z ich indywidualnymi wyborami (tab. 3), rozpatrywanymi w trzech zidentyfikowanych wcześniej ich skupieniach. W tab. 4–10 przedstawiono wzajemne zależności pomiędzy tymi czynnikami w poszczególnych czterech skupieniach. Interesujące jest zwłaszcza drugie skupienie ($n = 64$), które obejmowało przede wszystkim młodych mężczyzn (w wieku między 16 a 24 rokiem życia), w większości studentów, stanu wolnego. Około połowa tej grupy dokonywała osobiście zakupów mięsa. Należy zauważyć, że drugie skupienie wykazało odrębne preferencje od większości: preferowało mięso ciemnoczerwone i chude.

Pierwsze skupienie w porównaniu z dwoma pozostałymi ma najmniejszą proporcję konsumentów w wieku 45–54 lat.

Pierwsze i drugie skupienia mają więcej konsumentów stanu wolnego niż trzecie.

Pierwsze i drugie skupienia mają mniejsze proporcje kupujących mięso niż trzecie.

Tabela 3

Istotnie statystyczne zależności między odpowiedziami ankietowanych osób a wyborami w poszczególnych skupieniach, według testu χ^2 .

Statistically significant dependences between responses of polled persons and their choices in individual clusters, according to the results of the χ^2 test.

Wyszczególnienie Detailed list	n - liczba badanych osób n – number of polled persons	test χ^2 [%]	df – stopień swobody df – Degree of freedom	Zależność istotna statystycznie Statistically significant dependence
Wiek / Age	480	19,01	8	0,015
Stan cywilny – wolny / Marital status - single	479	12,34	2	0,002
Stan cywilny - żonaty / Marital status - married	479	12,34	2	0,002
Zakup mięsa przez członka gospodarstwa domowego Meat purchased by a member of a household	479	6,85	2	0,033
Zakup w sklepie mięsnym / Meat purchased at a butcher's shop	460	6,55	2	0,038
Przygotowywanie głównych posiłków w gospodarstwie domowym / Preparing main meals at home (in a household)	479	30,86	6	0,000
Sposób obróbki kulinarnej – pieczenie / Preparation method - roasting	476	8,26	2	0,016
Sposób obróbki kulinarnej – duszenie / Preparation method – stewing	476	11,51	2	0,003
Czas przygotowywania posiłku Duration of preparing one meal	479	18,54	4	0,001

Pierwsze skupienie, w porównaniu z drugim i trzecim, ma największą liczbę proporcji osób kupujących mięso w sklepie mięsnym.

Porównując pierwsze skupienie z pozostałymi zauważyć można, że ma ono wyższą proporcję osób, które przygotowują główne posiłki mniej niż raz w tygodniu oraz małą proporcję tych, którzy sporządzają posiłki każdego dnia. Drugie skupienie ma największą proporcję osób, które przygotowują główne posiłki raz w tygodniu. Trzecie skupienie ma największą proporcję konsumentów przygotowujących posiłki każdego dnia oraz najmniejszą tych, którzy z częstotliwością mniejszą niż raz w tygodniu sporządzają swoje posiłki.

Tabela 4

Struktura wieku konsumentów w poszczególnych skupieniach wyboru cech mięsa i w całym panelu (przy użyciu testu χ^2). Istotne różnice struktury w stosunku do całego panelu zaznaczono pogrubioną czcionką, $p < 0,05$.

A consumers' age structure in individual clusters of choices among meat characteristic, as well as in the entire panel of choices (on the basis of the χ^2 test performed). The statistically significant differences in relation to results of the entire panel are marked in bold, $p < 0,05$.

Skupienia Clusters	Wiek [lata] / Age [years]				
	16-24	25-34	35-44	45-54	55+
	Respondenci / Respondents [%]				
1	33	18	20	6	24
2	39	23	17	13	8
3	24	23	18	22	13
Cały panel Entire panel	27	22	18	20	14

Tabela 5

Struktura stanu cywilnego konsumentów w poszczególnych skupieniach wyboru cech mięsa i w całym panelu (przy użyciu testu χ^2 nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic, $p < 0,05$).

A consumer's marital status structure as appearing in individual clusters of choices among meat characteristic and in the entire panel of choices (on the basis of the χ^2 test performed). No significant differences were stated if compared to the results of the entire panel (at $p < 0,05$).

Skupienia Clusters	Stan cywilny / Marital status	
	Wolny (a) / Single	Zamężna, żonaty / Married
	Respondenci / Respondents [%]	
1	59	41
2	66	34
3	44	56
Cały panel / Entire panel	49	51

W porównaniu z pierwszym i drugim skupieniem trzecie ma największą proporcję konsumentów, którzy przygotowują wieprzowinę poprzez pieczenie.

Drugie skupienie ma największą proporcję osób, które nie przygotowują wieprzowiny poprzez duszenie. Najwięcej osób, które jako sposób obróbki kulinarnej wieprzowiny wykorzystują duszenie jest w trzecim skupieniu.

Tabela 6

Struktura zakupu mięsa przez członka gospodarstwa domowego w poszczególnych skupieniach wyboru cech mięsa i w całym panelu (przy użyciu testu χ^2 nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic, $p < 0,05$). A structure of meat purchase made by a household member as appearing in individual clusters of meat characteristic choices, as well as in the entire panel (on the basis of the χ^2 test performed). No significant differences were stated if compared to the results of the entire panel (at $p < 0,05$).

Skupienia Clusters	Zakup mięsa przez członka gospodarstwa domowego Meat purchase made by a member of the household	
	Tak / Yes	Nie / No
	Respondenci / Respondents [%]	
1	61	39
2	58	42
3	72	28
Cały panel / Entire panel	69	31

Tabela 7

Struktura zakupu mięsa w sklepie mięsnym w poszczególnych skupieniach wyboru cech mięsa i w całym panelu (przy użyciu testu χ^2 nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic, $p < 0,05$). A structure of meat purchase at a butcher's shop as appearing in clusters of meat characteristic choices and in the entire panel (on the basis of the χ^2 test performed). No significant differences were stated comparing to the results of the entire panel (at $p < 0,05$).

Skupienia Clusters	Zakup mięsa w sklepie mięsnym / Meat purchase at a butcher's shop	
	Tak / Yes	Nie / No
	Respondenci / Respondents [%]	
1	46	54
2	23	77
3	35	65
Cały panel / Entire panel	35	65

Tabela 8

Struktura częstotliwości przygotowywania głównych posiłków w poszczególnych skupieniach wyboru cech mięsa i w całym panelu (przy użyciu testu χ^2). Istotne różnice struktury w stosunku do całego panelu zaznaczono pogrubioną czcionką, $p < 0,05$. A structure of main meal preparation frequency as appearing in clusters of meat characteristic choices and in the entire panel (on the basis of the χ^2 test performed). The significant structure differences in relation to the entire panel are shown in bold, $p < 0,05$.

Skupienia Clusters	Częstotliwość przygotowywania głównych posiłków Frequency of preparing main meals			
	Każdego dnia Every day	Kilka razy w tygodniu Several times during a week	Raz w tygodniu Once a week	Mniej niż raz w tygodniu Less than once a week
	Respondenci / Respondents [%]			
1	22	29	6	43
2	27	31	16	27
3	43	33	8	16
Cały panel / Entire panel	38	32	9	20

Tabela 9

Struktura przygotowywania wieprzowiny poprzez pieczenie w poszczególnych skupieniach wyboru cech mięsa i w całym panelu (przy użyciu testu χ^2 nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic, $p < 0,05$).
A structure of preparing pork by roasting it as appearing in individual meat characteristic choice clusters and in the entire panel (tested using the χ^2 test). No significant differences were stated compared to the results of the entire panel (at $p < 0,05$).

Skupienia Clusters	Pieczenie / Roasting	
	Tak / Yes	Nie / No
	Respondenci / Respondents [%]	
1	43	57
2	41	59
3	57	43
Cały panel / Entire panel	54	46

Tabela 10

Struktura przygotowywania wieprzowiny poprzez duszenie w poszczególnych skupieniach wyboru cech mięsa i w całym panelu (przy użyciu testu χ^2). Istotne różnice struktury w stosunku do całego panelu zaznaczono pogrubioną czcionką, $p < 0,05$.
A structure of preparing pork by stewing it as appearing in individual meat characteristic choice clusters and in the entire panel (on the basis of the χ^2 test performed). Significant structure differences in relation to the entire panel are shown in bold, $p < 0,05$.

Skupienia Clusters	Duszenie / Stewing	
	Tak / Yes	Nie / No
	Respondenci / Respondents [%]	
1	51	49
2	44	56
3	65	35
Cały panel / Entire panel	61	39

Wnioski

1. Wzorcowy album kotletów wieprzowych – „pork chops” stanowi przydatne narzędzie do badań czynników decydujących o wyborze mięsa przez konsumentów przy jego zakupie.
2. Przy zastosowaniu metod wielowymiarowej analizy uzyskanych wyników (analiza korespondencji, hierarchiczna i rozdzielna analiza skupień), można precyzyjnie zidentyfikować ważność poszczególnych czynników wyboru i ich kombinacji oraz oddzielić wybory mające charakter losowy.
3. Stosując metodę albumu wzorców, w połączeniu z kwestionariuszem, można stwierdzić, czy wśród konsumentów istnieje segmentacja charakteryzująca się

- odmienną ważnością czynników wyboru, a także dokładnie zidentyfikować różniące się segmenty (skupienia) konsumentów pod względem socjodemograficznym oraz zwyczajów i preferencji żywieniowych.
4. Zastosowana metodyka pozwala na przeprowadzanie badań preferencji przy zakupie mięsa w ciągu dłuższego czasu wśród liczniejszych populacji konsumentów, a także stwarza możliwości porównawczych badań międzynarodowych, co może się okazać szczególnie interesujące.

Literatura

- [1] Dransfield E., Martin J.F., Miramont J., Ngapo T.M.: Meat Appearance: Pork Chops. A tool for surveying consumer preferences. INRA, France, 2001.
- [2] Górka-Warsewicz H.: Konsument na rynku mięsa i jego przetworów. *Przem. Spoż.*, 2002, **2**, 18-19.
- [3] Gregory N.: Consumer concerns. In: Congress Proc. 46th ICoMST, Argentina 2000, pp. 804-809.
- [4] Kowalczyk I., Graczyńska B.: Uwarunkowania zachowań konsumentów na rynku mięsa i jego przetworów – wyniki badań. *Handel Wew.*, 2002, numer specjalny **XLVIII**, 78-81.
- [5] Kowrygo B., Rejman K. (red.): Development Trends in Food Processing and Consumption in Poland. In: Future Challenges for The Polish Food Sector and Nutrition. Wyd. SGGW, Warszawa 2002.
- [6] Miller R.K., Moeller S.J., Goodwin R.N., Lorenzen C.L., Savell J.W.: Consistency in meat quality. In: Congress Proc. 46th ICoMST, Argentina 2000, pp. 566-580.
- [7] Ngapo T.M., Martin J.F., Dransfield E.: Consumer Preferences of Pork Chops: An International Cross-Cultural Comparison. Congress Proc. 48th ICoMST, Rome 2002, pp. 150-151.
- [8] SAS, SAS Users Guide: Statistics. Version 6.12. Cary: SAS Institute Inc. 1996.
- [9] Sikora T., Weber P.: Próba poznania konsumenckich preferencji dotyczących mięsa kulinarnego. *Gosp. Mięs.*, 1995, **47 (1)**, 40-41.
- [10] Verbeke W., Viaene J.: Impact of the dioxin scare on Belgium perception of fresh meat in Belgium. 71st EAAE Seminar. The food consumer in the early 21st century, Zaragoza, Spain 2001.
- [11] Żuchowski I.: Konsumencka ocena jakości produktów branży mięsnej. *Handel Wew.*, numer specjalny, 2002, 277-281.

THE ANALYSIS OF FACTORS DETERMINING PREFERENCES OF POLISH PORK CONSUMERS

S u m m a r y

In this paper, the analysis of factors determining preferences of Polish consumers of pork is presented. The analysis was carried out using a new method with a standard album of computer-modified pork chop photographs. 480 consumers were polled: they had to choose chops on the basis of the external appearance of meat; they also had to answer a standard questionnaire. On the basis of the digitally modified photographic images of pork chops, it was stated that the main criteria influencing the consumer choices were the colour of meat and its fat cover. The majority of consumers preferred a lean (i.e. no fat cover), light red meat. Additionally, an evidently separate group of consumers was identified showing strong preferences for a dark red, lean pork. This group of consumers was smaller in number. The choice results were compared with the results of the standard polling questionnaire. On the basis of this analysis, there were determined socio-demographic characteristics and nutritional habits of consumers, as well as declared preferences in each individual cluster of a consumer population under investigation.

Key words: album of pork chops photographs, pork, consumers, preferences, criteria of choice 

RAFAŁ WINARSKI, STANISŁAW WAJDA, KAROL BORZUTA

SZACOWANIE SKŁADU TKANKOWEGO TUSZ WIEPRZOWYCH DZIELONYCH NA ELEMENTY WEDŁUG ZASAD STOSOWANYCH W UNII EUROPEJSKIEJ

Streszczenie

Materiał doświadczalny stanowiło 287 tusz tuczników, pochodzących z zaplecza surowcowego zakładów mięsnych „Łmeat” w Łukowie, „Morliny” koło Ostródy i „Prime Food” w Przechlewie. Lewe półtusze poddawano podziałowi na elementy zasadnicze, a następnie prowadzono dysekcję czterech elementów wg metodyki Walstry i Merkusa. W badaniach wykazano, że największy procentowy udział mięsa, spośród elementów poddawanych dysekcji, występował w szynce (67,67%) i łopatce (63,32%), a mniejszy w polędwicy (54,16%) i boczku (49,86%). Największy udział tłuszczu zewnętrznego ze skórą stwierdzono w polędwicy (28,13%) oraz boczku (24,99%), natomiast najwięcej tłuszczu międzymięśniowego zawierał boczek (18,48%) i łopatka (9,11%). Udział kości był najwyższy w polędwicy (10,82%) i łopatce (9,32%), a najmniejszy w szynce (7,55%) oraz w boczku (6,01%). Uzyskano bardzo wysokie współczynniki korelacji między zawartością mięsa w szynce i polędwicy, a udziałem mięsa w sumie czterech elementów dysekowanych ($r = 0,974$ i $r = 0,976$). Stwierdzono, że w oparciu o dysekcję pojedynczego elementu można dokładniej oszacować procentowy udział w tuszy tłuszczu zewnętrznego ze skórą aniżeli tłuszczu śródmięśniowego. Najwyższe wartości współczynników korelacji pomiędzy udziałem kości w pojedynczym elemencie a zawartością kości w sumie czterech elementów dysekowanych uzyskano w przypadku polędwicy ($r = 0,888$) oraz szynki ($r = 0,842$), a niższe łopatki ($r = 0,767$) i boczku ($r = 0,592$). W ocenie umięśnienia tusz wieprzowych proponuje się dysekcję szynki, która charakteryzuje się dużym udziałem w tuszy oraz ma łatwe do wypreparowania mięśnie. W przypadku szacowania zawartości kości w tuszy w oparciu o udział kości w polędwicy należy szczególną uwagę zwracać na prawidłowe przepoławianie tusz na półtusze.

Słowa kluczowe: półtusza wieprzowa, dysekcja, skład tkankowy.

Wstęp

Problem opracowania dokładnej, a jednocześnie prostej metody szacowania składu tkankowego tusz wieprzowych jest ciągle aktualny. W krajach Unii Europejskiej dysekcję szczegółową całej półtuszy ograniczono do czterech głównych elementów, tj. szynki, łopatki, polędwicy i boczku. Metodykę tę opracowali Walstra i

Mgr inż. R. Winarski, prof. dr hab. S. Wajda, Katedra Towaroznawstwa Surowców Zwierzęcych, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. M. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn; dr hab. K. Borzuta, Instytut Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego, Dział Surowcowo-Inżynierijny w Poznaniu, ul. Głogowska 239, 60-111 Poznań

Merkus [10]. Jednakże nawet tak uproszczony sposób wyceny składu tkankowego tusz jest zadaniem niezwykle pracochłonnym. W tej metodzie elementy poddawane dysekcji stanowią około 60% najwartościowszej części tuszy [11], a więc po takiej ocenie tusza ma mniejszą wartość handlową oraz przydatność technologiczną. Dlatego też zachodzi pytanie, czy możliwe jest ograniczenie dysekcji tylko do jednego wybranego elementu?

Celem niniejszej pracy było określenie przydatności składu tkankowego pojedynczego elementu uzyskanego z rozbioru tusz, według metodyki obowiązującej w Unii Europejskiej, do szacowania składników tkankowych w sumie czterech elementów dysekowanych i procentowego udziału mięsa w tuszy.

Materiał i metody badań

Niniejszy eksperyment towarzyszył pracom wykonanym w ramach realizacji projektu pt. „Dostosowanie systemu klasyfikacji tusz zwierząt rzeźnych EUROP do wymagań Unii Europejskiej”, zatwierdzonego umową bliźniaczą TWINNING PL./IB/2002/AG/06, MF Nr PL01.04.06 [2]. Materiał do badań stanowiło 287 specjalnie wyselekcjonowanych tusz tuczników, pochodzących z zaplecza surowcowego zakładów mięsnych „Łmeat” w Łukowie, „Morliny” koło Ostródy i „Prime Food” w Przechlewie. Dobór tusz do potrzeb projektu miał na celu możliwie najdokładniejsze odzwierciedlenie istniejącej w naszym kraju populacji tuczników, stąd też poprzedzony został szerokimi badaniami stanu otłuszczenia tusz, które objęły ponad 14 tysięcy tuczników ubijanych w różnych zakładach mięsnych na terenie całej Polski [3, 4]. Przy wyborze tuszy brano także pod uwagę prawidłowość przepołowienia ich na równe półtusze.

Po uboju i obróbce poubojowej tusze wychładzano do temp. 2–4°C. Lewe półtusze pochodzące z zaplecza Zakładów Mięsnych w Łukowie (63 półtusze) oraz w Przechlewie (132 półtusze) przewożono do „Morlin” w autochłodniach. Następnie półtusze poddawane były podziałowi według metodyki Walstry i Merkusa [10], obowiązującej w krajach UE przy atestacji urzędów do szacowania zawartości mięsa w tuszach wieprzowych. Cztery główne elementy, tj. szynkę, polędwicę, łopatkę i boczek poddawano dysekcji w celu wydzielenia składników tkankowych. Masę uzyskanych w wyniku dysekcji szczegółowej składników, tj. mięsa, tłuszczu międzymięśniowego, skóry wraz z tłuszczem podskórnym oraz kości ważono z dokładnością do 1 g. Rozbiór i dysekcję półtuszy wykonano w Zakładach Mięsnych Morliny koło Ostródy przez specjalnie do tego przeszkolony zespół pracowników zakładu. Nadzór nad prawidłowością wykonywania prac prowadzili eksperci z Duńskiego Instytutu Badań Mięsa w Roskilde oraz Działu Surowcowo-Inżynieryjnego Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego w Poznaniu.

Po rozbiórce półtuszy i dysekcji czterech głównych elementów obliczano procentową zawartość mięsa w tuszach według wzoru Walstry i Merkusa [10]. Następnie obliczano wartości średnie i odchylenia standardowe badanych cech. Ponadto obliczano współczynniki korelacji między składem tkankowym pojedynczych

elementów a sumą czterech elementów poddanych dysekcji i procentowego udziału mięsa w tuszy [9]. W obliczeniach posłużono się programem STATISTICA w wersji 5.5.

Wyniki i dyskusja

Pobrane do badań lewe półtusze miały średnią masę 39,11 kg, przy odchyleniu standardowym 4,36 kg, natomiast procentowy udział mięsa w tuszach, obliczony według wzoru Walstry i Merkusa [10], kształtował się na poziomie 52,85% przy odchyleniu standardowym $S = 5,15\%$ (tab. 1). Mięśność tusz objętych eksperymentem była więc wyższa o blisko 2% od mięśności tusz podawanej przez Lisiaka i Borzutę [5, 6], w monitoringu mięśności tusz tuczników ubijanych w 11 zakładach mięsnych w okresie styczeń – marzec 2003 i klasyfikowanych według systemu EUROP.

W sumie czterech dysekowanych elementów procentowy udział mięsa wynosił 60,38%, natomiast skóry z tłuszczem podskórnym – 22,32% (tab. 1). Udział tłuszczu międzymięśniowego i kości, w sumie czterech elementów, kształtował się na podobnym poziomie (odpowiednio: 8,42 i 8,49%), jednak odchylenie standardowe wymienionych cech różniło się blisko dwukrotnie ($S = 1,65\%$ i $S = 0,87\%$). Spośród analizowanych elementów, uzyskanych z rozbioru tusz, najwyższy udział mięsa stwierdzono w szynce (67,67%), łopatce (63,32%) i polędwicy (54,16%), a najniższy w boczku (49,86%). Interesujące wyniki uzyskano odnośnie zawartości mięsa w polędwicy. Element ten, tradycyjnie uważany za jeden z najcenniejszych, przy takim systemie podziału tusz wykazywał zbliżony udział mięsa jak w całej tuszy. Odchylenie standardowe wyników udziału mięsa w polędwicy wyniosło 7,19%, zaś w boczku – 6,99%.

Dysekowane elementy charakteryzowały się ponadto znacznie większym udziałem tłuszczu podskórnego ze skórą niż tłuszczu międzymięśniowego (tab. 1). Największy udział skóry z tłuszczem podskórnym stwierdzono w polędwicy (28,13%) oraz w boczku (24,99%), a mniejszy w szynce (19,37%) i łopatce (17,92%). Z kolei największą zawartość tłuszczu międzymięśniowego stwierdzono w boczku (18,48%), znacznie mniejszą w łopatce (9,11%), a najmniejszą w polędwicy (6,50%) i szynce (5,08%). Udział kości był największy w polędwicy (10,82%) oraz łopatce (9,32%), a mniejszy w szynce (7,55%) i boczku (6,01%). W przypadku omawianej cechy wartości odchylenia standardowego (S) kształtowały się następująco: polędwica – 1,69%, boczek – 1,26%, szynka – 0,77%.

Tabela 1

Charakterystyka składu tkankowego czterech elementów dysekowanych z tuszy wieprzowej.
The tissue composition profile of four joints obtained from dissected pork carcasses.

Wyszczególnienie Specification	Miara statystyczna Statistical measure	Masa elementów Weight of joints [kg]	Udział składników tkankowych [%] Percentage of the tissue components			
			Mięso Meat	Tłuszcz międzymięśniowy Inter-muscular fat	Skóra wraz z tłuszczem podskórnym Skin + subcutaneous fat	Kości Bones
Masa półtuszy Weight of half-carcasses	\bar{x} S v	39,11 4,36 11,14	- - -	- - -	- - -	- - -
Szynka Leg	\bar{x} S v	9,53 1,09 11,43	67,67 4,85 7,17	5,08 1,06 20,82	19,37 4,69 24,20	7,55 0,77 10,20
Połędwica Loin	\bar{x} S v	6,54 0,99 15,21	54,16 7,17 13,27	6,50 2,22 34,14	28,13 7,54 26,81	10,82 1,69 15,62
Łopatka Shoulder	\bar{x} S v	4,98 0,58 11,71	63,32 4,36 6,88	9,11 2,16 23,74	17,92 4,03 22,47	9,32 0,81 8,69
Boczek Belly	\bar{x} S v	4,04 0,70 17,24	49,86 6,99 14,02	18,48 5,49 29,72	24,99 6,78 27,12	6,01 1,26 20,96
Suma czterech elementów dysekowanych Sum of four dissected joints	\bar{x} S v	24,91 3,60 14,45	60,38 5,73 9,48	8,42 1,65 19,55	22,32 5,33 23,86	8,49 0,87 10,25
Zawartość mięsa w tuszy obliczona według wzoru Walstry i Merkusa [%] Lean meat content calculated according to a Walstra & Merkus formula	\bar{x} S v	52,85 5,15 9,74	- - -	- - -	- - -	- - -

Głównym celem niniejszej pracy było określenie współzależności pomiędzy procentową zawartością mięsa, skóry z tłuszczem podskórnym, tłuszczu międzymięśniowego i kości, w poszczególnych elementach poddanych dysekcji, a udziałem składników tkankowych w sumie czterech dysekowanych elementów oraz zawartością mięsa w tuszy obliczoną według wzoru Walstry i Merkusa [10] (tab. 2). Z zawartością mięsa w tuszy, określoną według ww. wzoru, najwyżej korelował procentowy udział mięsa w poszczególnych elementach, w tym: z szynką ($r = 0,956$), połówką ($r = 0,952$), łopatką ($r = 0,901$) i boczkiem ($r = 0,940$). Z tak określonym procentowym udziałem mięsa w tuszy ujemnie korelował udział tłuszczu w elementach. Wyższe wartości współczynników korelacji stwierdzono w przypadku tłuszczu podskórnego ze skórą aniżeli tłuszczu międzymięśniowego. Najwyżej korelował tłuszcz podskórny ze skórą szynki ($r = - 0,901$), połówki ($r = - 0,875$), i łopatki ($r = 0,823$), a najniżej tłuszcz boczku ($r = - 0,695$).

Jeszcze wyższe wartości współczynników korelacji uzyskano między składem tkankowym w czterech elementach a składem tkankowym pojedynczego elementu. Najwyższe współzależności pomiędzy zawartością składnika tkankowego w pojedynczym elemencie a udziałem tego składnika w sumie czterech dysekowanych elementów uzyskano w przypadku mięsa. Spośród analizowanych elementów najwyższe współczynniki korelacji uzyskano między udziałem mięsa w czterech dysekowanych elementach a zawartością mięsa w szynce i połówki. Współczynniki te miały wartość powyżej $r = 0,97$. Wynika z tego, że ograniczając dysekcję do jednego elementu, można uzyskać zbliżoną dokładność szacowania ilości mięsa do prowadzonej bardzo pracochłonnej dysekcji czterech elementów. Do celów praktycznych należy zalecać dysekcję szynki. Element ten ma największy, spośród wszystkich, udział w tuszy (około 24% [11]), a ponadto jego dysekcja jest stosunkowo łatwiejsza, z uwagi na zawartość dużych mięśni. Wyniki te potwierdzają wcześniejsze badania innych autorów [1, 7]. Różycki [8] także wprowadził szynkę do uproszczonej metody oceny knurów na podstawie potomstwa. Niemniej jednak uzyskane w tych badaniach współczynniki korelacji były niższe.

Stosunkowo wysokie współczynniki korelacji uzyskano także między zawartością tłuszczu zewnętrznego ze skórą w pojedynczym elemencie a udziałem tłuszczu ze skórą w sumie czterech dysekowanych elementów. Najwyżej korelował tłuszcz szynki ($r = 0,957$) i połówki ($r = 0,954$), najniżej zaś tłuszcz zewnętrzny ze skórą z łopatki ($r = 0,887$) i boczku ($r = 0,810$). Współczynniki korelacji pomiędzy zawartością tłuszczu międzymięśniowego w pojedynczym elemencie a udziałem tego składnika tkankowego w sumie czterech dysekowanych elementów miały wartości niższe i nie przekraczały, oprócz boczku ($r = 0,811$), wartości $r = 0,64$. Wynika z tego, że na podstawie dysekcji pojedynczego elementu dokładniej można oszacować zawartość w sumie czterech elementów skóry wraz z tłuszczem podskórnym, aniżeli tłuszczu międzymięśniowego.

Tabela 2

Współczynniki korelacji pomiędzy analizowanymi cechami.
Coefficients of correlations among the features parameters

Procentowy udział składników tkankowych w elementach dysekowanych Tissue components percentage of dissected joints	Procentowa zawartość mięsa w tuszy wg wzoru Walstry i Merkusa Lean meat percentage calculated according to a Walstra & Merkus Formula	Procentowa zawartość składników tkankowych w sumie czterech elementów dysekowanych Tissue components percentage in sum of four dissected joints			
		Mięso Meat	Tłuszcz międzym. Inter-muscular fat	Skóra wraz z tłuszczem podskórnym Skin+subcutaneous fat	Kości Bones
Szynka / Leg:					
Mięso / Meat	0,956*	0,974*	- 0,564*	- 0,938*	0,411*
Tłuszcz międzymięśniowy / Inter-muscular fat	- 0,378*	- 0,374*	0,570*	0,249*	- 0,167*
Skóra z tłuszczem podsk. / Skin+subcutaneous fat	- 0,901*	- 0,941*	0,458*	0,957*	- 0,530*
Kości - Bones	- 0,020	0,102*	- 0,033	- 0,239*	0,842*
Polędwica / Loin:					
Mięso / Meat	0,952*	0,976*	- 0,598*	- 0,933*	0,434*
Tłuszcz międzymięśniowy / Inter-muscular fat	- 0,391*	- 0,379*	0,640*	0,227*	- 0,108
Skóra z tłuszczem podsk. / Skin+subcutaneous fat	- 0,875*	- 0,923*	0,429*	0,954*	- 0,582*
Kości / Bones	0,371*	0,471*	- 0,223*	- 0,584*	0,888*
Łopatka / Shoulder:					
Mięso / Meat	0,901*	0,930*	- 0,588*	- 0,885*	0,411*
Tłuszcz międzymięśniowy / Inter-muscular fat	- 0,351*	- 0,397*	0,621*	0,267*	- 0,197*
Skóra z tłuszczem podsk. / Skin+subcutaneous fat	- 0,823*	- 0,847*	0,340*	0,887*	0,488*
Kości / Bones	0,224*	0,320*	- 0,211*	- 0,404*	- 0,767*
Boczek / Belly:					
Mięso / Meat	0,940*	0,956*	- 0,634*	- 0,895*	0,405*
Tłuszcz międzymięśniowy / Inter-muscular fat	- 0,446*	- 0,452*	0,811*	0,263*	- 0,186*
Skóra z tłuszczem podsk. / Skin+subcutaneous fat	- 0,695*	- 0,717*	0,073	0,810*	- 0,381*
Kości / Bones	0,482*	0,534*	- 0,393*	- 0,547*	0,592*

* - $P \leq 0,01$

Wielkość współczynników korelacji między udziałem kości w pojedynczym elemencie a udziałem kości w czterech dysekowanych elementach, wahała się od $r = 0,592$ do $r = 0,888$. Najwyższe wartości współczynników korelacji uzyskano w przypadku kości polędwicy ($r = 0,888$), szynki ($r = 0,842$) oraz łopatki ($r = 0,767$), a najniższe – kości boczku ($r = 0,592$). Wyniki te różnią się od podawanych w innych badaniach [1]. Odnotowane w literaturze niższe wartości współczynników korelacji, określających udział kości w polędwicy, związane są prawdopodobnie z niepoprawnym przepoławianiem tuszy. W wykonanym eksperymencie prawidłowość podziału tuszy przez środek kręgosłupa na równe półtusze była jednym z kryteriów doboru materiału badawczego.

Wnioski

1. Największy udział mięsa, spośród analizowanych czterech elementów, miała szynka (67,67 %) i łopatka (63,32%), a mniejszy polędwica (54,16%) i boczek (49,86%). Najwięcej tłuszczu zewnętrznego ze skórą stwierdzono w polędwicy (28,13%) oraz boczku (24,99%), a najwięcej tłuszczu międzymięśniowego zawierał boczek (18,48%) i łopatka (9,11%). Udział kości był największy w polędwicy (10,82%) i łopatce (9,32%), a najmniejszy w szynce (7,55%) i w boczku (6,01%).
2. Uzyskano bardzo wysokie współczynniki korelacji między zawartością mięsa w szynce i polędwicy a udziałem mięsa w sumie czterech elementów dysekowanych ($r = 0,974$ i $r = 0,976$). Do oceny umięśnienia tusz wieprzowych można proponować dysekcję szynki. Element ten stanowi procentowo znaczną część tuszy, a z punktu widzenia budowy anatomicznej składa się z łatwych do wypreparowania mięśni.
3. Dysekcja pojedynczego elementu pozwala dokładniej oszacować procentowy udział w tuszy tłuszczu zewnętrznego ze skórą aniżeli tłuszczu śródmięśniowego.
4. Najwyższe wartości współczynnika korelacji pomiędzy udziałem kości w pojedynczym elemencie a zawartością kości w sumie czterech elementów dysekowanych stwierdzono w przypadku polędwicy ($r = 0,888$) oraz szynki ($r = 0,842$), a niższe łopatki ($r = 0,767$) i boczku ($r = 0,592$). Stosując za podstawę do szacowania zawartości kości w tuszy, udział kości w polędwicy, należy zwracać dużą uwagę na prawidłowe przepoławianie tusz.

Literatura

- [1] Bochno R.: Badania nad przydatnością niektórych cech do szacowania zawartości mięsa i tłuszczu w wyrębach podstawowych półtuszy wieprzowych. Zesz. Nauk. WSR w Olsztynie, 1971, **Ser. B, 3 Supl.**, 72-89.
- [2] Borzuta K.: Plan uporządkowania systemu klasyfikacji tusz EUROP w Polsce. Trzoda Chlewna, 2002, **8-9**, 39-40.

- [3] Borzuta K., Borys A., Grześkowiak E., Wajda S., Strzelecki J., Lisiak D.: Zmienność wartości rzeźnej i jakości mięsa tuczników ze skupu letniego 2002 r. *Rocz. IPMiT*, 2003, **XL**, 5-11.
- [4] Grześkowiak E., Borzuta K., Strzelecki J., Wajda S.: Badanie zmienności stopnia umięśnienia i otluszczenia surowca wieprzowego w wybranych zakładach mięsnych kraju. *Rocz. IPMiT*, 2002, **XXXIX**, 67-75.
- [5] Lisiak D., Borzuta K.: Wyniki monitoringu mięsności tusz tuczników pogłowia masowego poddanych ubojowi w I kwartale 2003. *Trzoda Chlewna*, 2003, **8-9**, 50-53.
- [6] Lisiak D., Borzuta K.: Zmiany masy poubojowej i mięsności tusz tuczników w okresie styczeń 1998 – wrzesień 2002. *Gosp. Mię.*, 2003, **6**, 30-33.
- [7] Osińska Z.: Ocena poubojowa świń bekonowych (dla studiów magisterskich Wydz. Zoot.). *Wyd. WSR w Olsztynie*, 1971, s. 73-86.
- [8] Różycki M.: Zasady postępowania przy ocenie w SKURTCh. Stan hodowli i wyniki oceny świń. *Rocz. Instyt. Zoot.*, 1996, **XIV**, 69-82.
- [9] Ruszczyk Z.: *Metodyka doświadczeń zootechnicznych*. PWRiL, Warszawa 1981.
- [10] Walstra P., Merkus G.S.M.: Procedure of assessment of lean meat percentage as a consequence of the new EU reference dissection method in pig carcasses classification, 1996, Report ID-DLO 96. 014, pp. 1-22.
- [11] Winarski R., Wajda S., Borzuta K.: Przydatność elementów uzyskanych z podziału tusz wieprzowych według zasad stosowanych w Unii Europejskiej do szacowania składników tkankowych tusz. *Rocz. IPMiT*, 2003, **XL**, 25-31.

**ASSESSMENT OF THE TISSUE COMPOSITION OF PIG CARCASSES DISSECTED
ACCORDING TO METHODS AS INDICATED BY THE EU REGULATIONS**

S u m m a r y

The investigations were conducted using 283 pig carcasses slaughtered in three meat plants: 'Łmeat' Łuków, 'Morliny' near Ostróda, and 'Prime Food' Przechlewo. The left half-carcasses were divided into main joints and, subsequently, four joints were dissected according to a method of Walstra and Merkus. The investigation showed that among the four dissected joints under analysis the highest percentage of meat was found in leg (67.67%) and shoulder (63.32%), whereas the lower percentage of meat was in loin (54.16%) and belly (49.86%). The highest percentage of subcutaneous fat with skin was found in loin (28.13%) and belly (24.99%), whereas the highest percentage of inter-muscular fat was found in belly (18.48%) and shoulder (9.11%). As for bones, the highest percentage of this component was detected in loin (10.82%) and shoulder (9.32%), and the lowest in leg (7.55%) and belly (6.01%). There were obtained very high correlation coefficients between the meat percentage levels in leg and loin, and the percentage level of this tissue component in the sum of four dissected joints ($r = 0.974$ and $r = 0.976$). It was stated that on the basis of the dissection of a single joint, it is possible to more precisely assess the percentage of subcutaneous fat with skin in carcass than the percentage of inter-muscular fat. The highest correlation coefficients between bones percentage of meat in the single joint and the percentage level of this tissue component in the sum of four dissected joints were achieved for the loin ($r = 0.888$) and leg ($r = 0.842$), whereas lower coefficients were determined for shoulder ($r = 0.767$) and belly ($r = 0.592$). Thus, it is suggested a dissection of leg in order to estimate the muscularity of pig carcass because its percentage in carcass is high and its muscles are easy to separate. It is accentuated the importance of correct splitting carcasses in half-carcasses for the purpose of assessing the percentage level of bones in carcass on the basis of the loin's bones.

Key words: pig half-carcass, dissection, tissue composition. 

PIOTR KONIECZNY, RYSZARD KOWALSKI, JAN PYRCZ

WYBRANE WYRÓŻNIKI JAKOŚCIOWE SUSZONYCH PRODUKTÓW PRZEKĄSKOWYCH Z MIĘSA WOŁOWEGO

Streszczenie

W pracy przeprowadzono ocenę fizykochemiczną i sensoryczną suszonych produktów przekąskowych z mięsa wołowego. W dwóch różnych wyrobach tego typu („Beef Jerky Original” oraz „Beef Jerky Sweet & Hot”) oznaczono zawartość: suchej masy, białka, tłuszczu, chlorku sodu, azotanów(III) oraz określono aktywność wody. Wykonano ocenę sensoryczną przekąsek metodą 5-punktową przez zespół oceniający, jak również ocenę preferencji konsumenckiej z wykorzystaniem opracowanej ankiety.

Stwierdzono, że przekąski charakteryzowały się swoistymi, zbliżonymi cechami jakościowymi. Zawierały one ponad 50% białka, około 3,6% tłuszczu i około 6,0% chlorku sodu. Duża zawartość suchej masy (około 80%) i obniżona aktywność wody (0,7–0,8) czynią z przekąsek wołowych wygodne produkty rynkowe. Wyroby te charakteryzowały się dobrą jakością sensoryczną, uzyskując w 5-punktowej skali oceny ogólne 3,92 i 3,62 pkt., odpowiednio w przypadku przekąski o smaku oryginalnym i przekąski o smaku słodko-pikantnym.

W badaniach preferencji konsumenckich, przekąska o smaku oryginalnym uzyskała większą akceptację respondentów niż o smaku słodko-pikantnym, a ankietowani najczęściej określali swą gotowość do zakupu obu badanych produktów słowem „czasami”.

Słowa kluczowe: przekąski mięsne, „Beef Jerky”, ocena sensoryczna, wyróżniki fizykochemiczne, preferencje konsumenckie.

Wprowadzenie

Suszenie mięsa jest jedną z najstarszych metod jego utrwalania. Wykorzystywano je do otrzymywania tradycyjnych produktów mięsnych, takich jak: „pemmican” (Ameryka Północna), „biltong” (Afryka) oraz „charaqui” (Ameryka Południowa) [3, 7, 9]. Współcześnie, mięso suszone w warunkach przemysłowych jest używane przede wszystkim jako składnik receptur koncentratów spożywczych.

Produkty z suszonego mięsa, głównie wołowego, pod wspólną nazwą „Jerky”, co oznacza „nierówny, urywany” i odnosi się do charakterystycznego wyglądu gotowych

wyrobów, są od wielu lat sprzedawane, głównie w USA, jako przekąski („snack food”). Szczególnie popularne jest wytwarzanie przekąsek z mięsa suszonego w warunkach domowych. Produkuje się je z odpowiednio przygotowanego surowca, doprawionego smakowo i utrwalonego na drodze suszenia lub wędzenia [11]. Produkty typu „Jerky” charakteryzuje duża różnorodność asortymentowa. Są produkowane z mięsa wołowego, wieprzowego, drobiowego, dziczyzny, a nawet ryb, przy użyciu różnych mieszanek przypraw i innych dodatków funkcjonalnych, jak np. przeciwutleniacze i stabilizatory. Zróżnicowane są również poszczególne zabiegi technologiczne (rozdrabnianie, peklowanie, wędzenie, suszenie, pakowanie) i stosowane urządzenia [1, 3]. W stosunkowo nielicznych badaniach, dotyczących produktów przekąskowych z suszonego mięsa, podkreśla się przede wszystkim konieczność kojarzenia ich dobrej jakości sensorycznej z odpowiednią trwałością przechowalniczą [1, 3, 6]. Jednym z ostatnich i najważniejszych osiągnięć w tym zakresie jest opracowanie wytycznych do wdrożenia systemu HACCP w przemysłowej produkcji przekąsek typu „Beef Jerky” [2].

Wobec rosnącej popularności na krajowym rynku segmentu żywności wygodnej (ang. convenience) [4], w tym również wyrobów typu „Jerky”, uznano za uzasadnione i celowe oznaczenie składu chemicznego i wybranych wyróżników jakości sensorycznej importowanych wyrobów ww. rodzaju, znajdujących się w krajowej sieci handlu detalicznego. Przewidziano również określenie stopnia zainteresowania konsumentów tymi wyrobami. Poczyniono także obserwacje odnoszące się do konsumenckiej akceptacji przekąsek, nietypowych dla polskich przyzwyczajęń żywieniowych. Powyższe było przedmiotem badań realizowanych w niniejszej pracy.

Materiał i metody badań

Przedmiotem badań były oryginalne, handlowe mięsne produkty przekąskowe typu „Beef Jerky”, importowane z USA, pochodzące z tej samej partii produkcyjnej, tj. „Beef Jerky Original” (przekąska wołowa o oryginalnym smaku mięsa) oraz „Beef Jerky Sweet & Hot” (przekąska wołowa o smaku słodko-pikantnym). W wymienionych wyrobach oznaczano zawartość: suchej masy metodą suszarkową [13], białka metodą Kjeldahla [12], tłuszczu metodą Soxhleta [14], chlorku sodu [15], azotanów(III) [16].

Ponadto oznaczono aktywność wody za pomocą elektronicznego miernika typu Aquaspector 1 produkcji niemieckiej, zgodnie z fabryczną instrukcją obsługi.

Wszystkie oznaczenia wykonywano w 3 powtórzeniach.

Ocenę sensoryczną produktów przeprowadzono metodą 5-punktową zgodnie z zasadami podanymi przez Gawęcką i Jędrykę [8]. Wykonał ją przeszkolony zespół złożony z 10 osób. Oceniano następujące wyróżniki: barwę, teksturę, zapach i smak. Poszczególnym wyróżnikom przyporządkowano współczynniki ważkości od 0,10 (barwa) do 0,40 (smak).

Wykonano również badanie preferencji konsumenckiej produktów metodą wywiadu konsumenckiego, w którym zadano 3 pytania:

1. Czy oceniasz produkt jako: bardzo dobry, dobry, obojętny, niedobry, zły?
2. Czy chciałbyś ten produkt spożywać: często, czasami, wcale?
3. Jeśli produkt Ci smakuje lub nie smakuje określ jednym zdaniem dlaczego?

Wywiad przeprowadzono w grupie 50 losowo wybranych studentów, mężczyzn i kobiet, w wieku od 20 do 30 lat.

Analiza statystyczna wyników, w zależności od potrzeb, obejmowała obliczenie odchyłeń standardowych wartości średnich oraz jednoczynnikową analizę wariancji.

Wyniki i ich omówienie

W tab. 1. przedstawiono wyniki oceny fizykochemicznej produktów przekąskowych typu „Beef Jerky”. Pod względem ocenianych wyróżników jakościowych oba produkty charakteryzowały się zbliżonymi wartościami, nieodbiegającymi od deklarowanych na opakowaniach (ang. nutrition facts). Według informacji producenta, przekąskę wołową o smaku oryginalnym cechowała wartość energetyczna 1157 kJ/100 g, a o smaku słodko-pikantnym 1218 kJ/100 g. Producent deklarował także w 100 g produktu odpowiednio: 53,5 i 50,0 g białka, 3,30 i 3,60 g tłuszczu oraz 10,7 i 17,8 g cukrów.

Badane przekąski zawierały ponad 50% białka ogółem, poniżej 3,5% tłuszczu i aż około 6% chlorku sodu. Mieszanka NaCl z azotanami(III) i innymi składnikami przyprawowymi nadaje specyficzny smak tym produktom i zwiększa ich przechowalniczą trwałość. Ważna funkcja technologiczna chlorku sodu polega również na ekstrakcji białek. Ma to szczególne znaczenie w produktach wytwarzanych z mięsa rozdrobnionego [3, 11].

Ze względów żywieniowych zaleca się jednak, aby ilość chlorku sodu w wyrobach mięsnych nie przekraczała 2% [9].

Przekąska wołowa „Beef Jerky” o smaku oryginalnym charakteryzowała się wyraźnie niższą aktywnością wody (0,702) niż analogiczny produkt o smaku słodko-pikantnym (0,777). Mogło to być rezultatem odmiennych receptur i/lub parametrów operacji technologicznych zastosowanych podczas ich produkcji. Uzyskanie odpowiedniej aktywności wody produktu tego typu zależy nie tylko od parametrów procesu suszenia doprawionego mięsa, ale również od odpowiedniego doboru ilościowo-jakościowego składników użytej mieszanki przypraw i dodatków funkcjonalnych [1, 2]. Według zaleceń amerykańskiej Służby Kontroli i Bezpieczeństwa Żywności (FSIS), bezpieczne mikrobiologicznie są produkty „Jerky” z tzw. wskaźnikiem MPR (ang. moisture-to-protein-ratio), tj. stosunkiem zawartości wody do białka nie większym niż 0,75:1, przy czym w surowym mięsie wołowym wskaźnik MPR wynosi średnio 4,5:1 [5]. Jak obliczono, badane produkty charakteryzowały wskaźniki MPR równe 0,34 (przekąska o smaku oryginalnym) i 0,39

(przekąska o smaku słodko-pikantnym). Oceniane przekąski nie wymagały przechowywania chłodniczego, a deklarowany okres ich przydatności do spożycia wynosił aż 18 miesięcy.

Tabela 1

Skład fizykochemiczny mięsnych produktów przekąskowych Beef Jerky (wartości średnie \pm odchylenia standardowe) (n = 3).

Physicochemical composition of Beef Jerky meat snacks (mean values \pm standard deviations) (n = 3).

Wyróżnik Parameter	Przekąska „Beef Jerky” o smaku oryginalnym Original Beef Jerky meat snack ($\bar{x} \pm s$)	Przekąska „Beef Jerky” o smaku słodko-pikantnym Sweet & Hot Beef Jerky meat snack ($\bar{x} \pm s$)
Sucha masa [%] Dry mater	82,66 \pm 0,66	79,67 \pm 0,67
Tłuszcz [%] Fat	3,27 \pm 0,19	3,59 \pm 0,23
Białko [%] Protein	50,61 \pm 0,81	52,43 \pm 0,56
NaCl [%] NaCl	5,50 \pm 0,17	6,20 \pm 0,19
Azotany(III) [ppm] Nitrates(III)	10,48 \pm 0,11	10,60 \pm 0,03
Aktywność wody Water activity	0,702 \pm 0,032	0,777 \pm 0,029

Spośród wielu kryteriów, które decydują o wyborze i zakupie określonego produktu spożywczego, jego cechy sensoryczne są jednymi z najważniejszych. Odnosi się to również do wyrobów mięsnych [10].

W tab. 2. przedstawiono wyniki oceny sensorycznej. Przekąska o smaku oryginalnym uzyskała ogólną średnią ocenę 3,92 pkt, natomiast o smaku słodko-pikantnym 3,62 pkt. Różnicę ocen spowodowała głównie niższa akceptacja zapachu (wartość średnia 3,45 pkt) i smaku (wartość średnia 3,50 pkt) przekąski słodko-pikantnej. Smak i zapach oraz tekstura, wymuszająca charakterystyczne żucie tego rodzaju przetworów (ang. chewiness) należą do najważniejszych cech sensorycznych handlowych przekąsek typu „Beef Jerky” i one decydują o ich odmienności asortymentowej i atrakcyjności rynkowej [3].

Tabela 2

Ogólna ocena sensoryczna mięsnych produktów przekąskowych „Beef Jerky” [pkt].
Sensory assessment of dried Beef Jerky.

Wyróżniki jakości sensorycznej Sensory quality parameters	Współczynniki ważkości Coefficients of importance	Przekąska „Beef Jerky” o smaku oryginalnym Beef Jerky meat snack having the original taste	Przekąska „Beef Jerky” o smaku słodko-pikantnym Sweet & Hot Beef Jerky meat snack
Barwa Colour	0,10	0,41	0,42
Zapach Smell	0,20	0,81	0,69
Smak Flavour	0,40	1,60	1,40
Tekstura Texture	0,30	1,10	1,11
Ocena ogólna Total assessment	1,00	3,92 ^a	3,62 ^b

a, b – wartości średnie oznaczone małymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$;

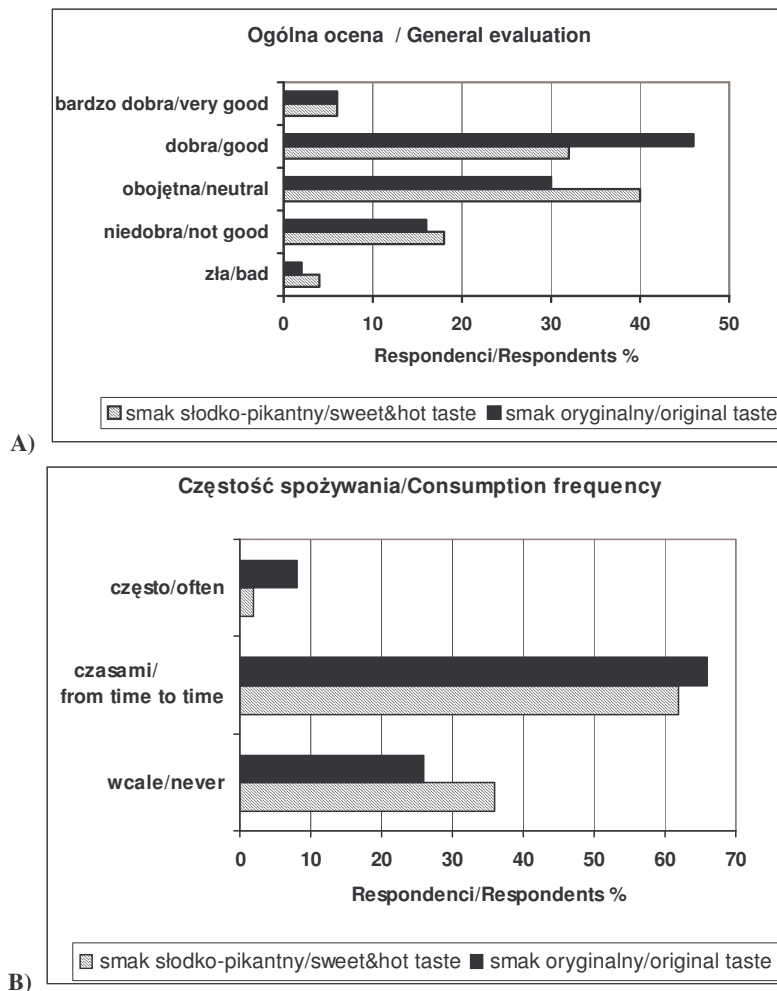
a, b – mean values, designated by small letters, are statistically significantly different at $p \leq 0.05$.

Przekąski mięsne poddano również ocenie konsumentckiej, stosując do tego celu opracowaną ankietę. Celem badań ankietowanych było ustalenie preferencji dotyczących spożywania produktów typu „Beef Jerky”.

Na podstawie wyników (rys. 1A i B) można stwierdzić, że ponad 52% respondentów oceniło przekąskę wołową „Beef Jerky” o smaku oryginalnym jako dobrą lub bardzo dobrą, natomiast w przypadku przekąski o smaku słodko-pikantnym taką opinię wyraziło 38% ankietowanych osób. Przekąski mięsne o smaku słodko-pikantnym były jednocześnie częściej oceniane negatywnie (jako niedobre lub złe), niż te o smaku oryginalnym. Odsetek produktów z oceną „zła” wyniósł, odpowiednio, 4% i 2%.

Wyniki preferencji konsumentckich, odnoszących się do ogólnej oceny produktów przekąskowych, znalazły odzwierciedlenie również w odpowiedziach respondentów na pytanie o deklarowaną częstość ich spożywania. Najczęściej udzielano odpowiedzi „czasami” (w przypadku przekąski wołowej o smaku oryginalnym 66% respondentów, a o smaku słodko-pikantnym 62%), przy czym produkty „Beef Jerky” o smaku oryginalnym kupowałyby „często” 8% ankietowanych. W przypadku przekąski o smaku słodko-pikantnym taką deklarację złożyło jedynie 2% oceniających.

Interesujące uzupełnienie powyższych ocen stanowiły odpowiedzi respondentów na pytanie o uzasadnienie swoich opinii. „Specyficzny smak i teksturę” wyrobu wymieniano w części ankiet wśród pozytywnych, a innym razem wśród negatywnych cech badanych produktów mięsnych.



Rys.1. Preferencje konsumenckie przekąsek „Beef Jerky” w zakresie ich ogólnej oceny (A) i przewidywanej częstości spożywania (B).

Fig. 1. Consumer preferences for Beef Jerky meat snacks with regard to the general evaluation (A) and anticipated frequency of snack consumption (B).

Część ankietowanych podkreślała interesujący, nowatorski charakter oferowanych przetworów. Z całą jednak pewnością można twierdzić, że duży wpływ na wyniki badań ankietowych w odniesieniu do preferencji mięsnych produktów przekąskowych typu „Beef Jerky” miał fakt, że przekąski te są na rynku polskim praktycznie nieznanne.

Mimo ograniczonego zakresu badań stwierdzono, że suszone wyroby przekąskowe z mięsa wołowego wydają się być ciekawą propozycją rynkową dla polskiego konsumenta, gotowego zaakceptować przetwory spełniające jego rosnące

wymagania sensoryczne i odżywcze. Wybrane aspekty technologiczne związane z wytwarzaniem tych produktów będą przedmiotem odrębnej publikacji.

Wnioski

1. Suszone wyroby przekąskowe „Beef Jerky Original” (przekąska wołowa o oryginalnym smaku mięsa) oraz „Beef Jerky Sweet & Hot” (przekąska wołowa o smaku słodko-pikantnym), to produkty spożywcze o swoistych, zbliżonych cechach jakościowych.
2. Na podstawie wyników badań fizykochemicznych można stwierdzić, że są to produkty zawierające ponad 50% białka, 3,60% tłuszczu i stosunkowo dużo chlorku sodu (około 6%). Z uwagi na małą zawartość wody (około 20%) oraz aktywność wody, oceniane wyroby charakteryzuje dobra przydatność do obrotu handlowego.
3. Wyniki oceny sensorycznej przekąsek wskazują, że charakteryzują się one zbliżonymi średnimi ocenami ogólnymi tj. 3,92 i 3,62 pkt, odpowiednio w przypadku przekąski o smaku oryginalnym oraz słodko-pikantnym. Największy wpływ na ocenę miała smakowitość.
4. Ocena preferencji konsumenckich dowiodła, że przekąska wołowa o smaku oryginalnym była bardziej preferowana niż przekąska o smaku słodko-pikantnym. Znalazło to odzwierciedlenie w wyraźnie większym procentowym udziale osób oceniających ją pozytywnie (odpowiednio 52 i 38%). Wśród ankietowanych, osoby deklarujące zakup oferowanych przekąsek jako „często” lub „czasami” stanowiły 74% i 64%, odpowiednio w przypadku przekąski o smaku oryginalnym i o smaku słodko-pikantnym.

Literatura

- [1] Albright S.N, Kendall P.A., Sofos J.N.: Sensory properties of beef Jerky processed under various conditions, Proceedings of IFT Annual Meeting, June 10-14, 2000, Dallas, TX, USA, session 11.
- [2] Anon.: HACCP Generic Model- Dried Meats (Beef Jerky) - CFIA, ACIA Raport, Oct. 1997, Canada, pp. 1-35.
- [3] Anon.: Internet- American Style Great Beef Jerky, (<http://www.greatJerky.com>), 2004.
- [4] Anon.: Produkcja żywności typu „convenience” w zakładach mięsnych. Mięso i Wędliny , 1998, **1**, 18-21.
- [5] Anon.: Safe Practices for Sausage Production. Distance Learning Course Manual, 1999.
- [6] Calicioglu M, Sofos J.N., Samelis J, Kendall P.A., Smith G.C.: Effect of acid adaptation on inactivation of *Salmonella* during drying and storage of Beef Jerky treated with marinades. Int. J. Food Microbiol., 2000, **89**, 51-65.
- [7] Duda Z.: Regionalne produkty mięsne w Polsce i na świecie - charakterystyka i technologia (cz. II), Mięso. Miesięcznik Branży Mięsnej, 2003, **IX-X**, 22-24.
- [8] Gawęcka J., Jędryka T.: Analiza sensoryczna – wybrane metody i przykłady zastosowań, Wyd. AE, Poznań 2001.

- [9] Kołożyn-Krajewska D., Petaja E.: Suszone produkty przekąskowe z mięsa renifera. *Przem. Spoż.*, 1991, **9**, 229.
- [10] Konieczny P., Uchman W.: Żywność wygodna w branży mięsnej. W: *Żywność wygodna w przetwórstwie surowców mięsnych i jaj* – pod red. P. Koniecznego i W. Uchmana, Wyd. Prodrug. Poznań 2000, s. 12-22.
- [11] Pohlman S.R., Kalchayanand N., Means W.J., Field R.A., Wolf A.W.: Destruction of non-pathogenic *Escherichia coli* in Beef Jerky made with home-style dehydrators, University of Wyoming Annual Animal Science Research Report. Department of Animal Science, Health/Food Safety, 2003, pp. 100-105.
- [12] PN-75/A-04018. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko (ze zmianami PN -75/A-04018/Az3:2002).
- [13] PN-73/A-82110. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody.
- [14] PN-73/A-82111. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu.
- [15] PN-73/A-82112. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości soli kuchennej (ze zmianami PN -73/A-82112/Az1:2002).
- [16] PN-74/A-82114. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości azotynów i azotanów.

SELECTED QUALITY PROPERTIES OF DRIED BEEF MEAT SNACKS

S u m m a r y

The objective of this paper was to evaluate some selected physicochemical and sensory properties of dried meat snacks. Two different products (the Beef Jerky having original taste and Sweet&Hot Beef Jerky) were analysed in order to determine contents of dry matter, protein, fat, NaCl, and nitrates. The water activity of both types of snacks was also measured. A trained taste panel performed the sensory analysis of snacks examined using a 5-point scale. Additionally, consumer preferences were assessed on the basis of a questionnaire developed for this purpose.

It was found that the Beef Jerky type snacks examined were characterized by some specific and akin quality properties. The Beef Jerky products assessed contained over 50% of protein, about 3.6% of fat, and about 6.0% of NaCl. Owing to the high content of dry matter (about 80%) and reduced water activity (0.7–0.8), the Beef Jerky snacks are convenient and usable market products. On the scale of 1 to 5, the general assessment score was 3.92 for Beef Jerky snacks having original taste, and 3.62 for Sweet&Hot Beef Jerky snacks, and this result proved their acceptable, good sensory quality.

While studying the consumer preferences, it was stated that, generally, consumers preferred the Beef Jerky snacks having original taste than the Sweet&Hot ones, and the polled usually used a phrase 'from time to time' when describing their readiness to buy the two meat snacks.

Key words: meat snacks, Beef Jerky, sensory analysis, physicochemical composition, consumer preferences. ☒

PRZEMYSŁAW RATAJCZAK, WOJCIECH BIAŁAS,
RADOSŁAW DEMBCZYŃSKI, WŁODZIMIERZ GRAJEK,
TOMASZ JANKOWSKI

EKSTRAKCYJA DWUFAZOWA LIZOZYMU Z BIAŁKA JAJA KURZEGO

Streszczenie

W pracy badano przydatność wodnych układów dwufazowych do separacji lizozymu z białka jaja kurzego oraz opracowano optymalne warunki procesu.

Separację lizozymu wykonano w wodnym układzie dwufazowym PEG/fosforan potasu. Stosując czysty preparat lizozymu, w doświadczeniach modelowych określono optymalne warunki jego separacji metodą płaszczyzny odpowiedzi. Zbadano wpływ wielkości masy cząsteczkowej PEG, pH roztworu fosforanów oraz stężenia chlorku sodu w układzie dwufazowym na wartość współczynnika podziału lizozymu K. Stwierdzono, że w badanym zakresie stężeń NaCl w układzie dwufazowym, wzrost stężenia chlorku sodu zwiększał wartość tego współczynnika. Z kolei wzrost pH i masy cząsteczkowej glikolu polietylenowego zmniejszał wartość współczynnika K. Największą jego wartość uzyskano w układzie: PEG 4000 (20% m/m) / K_2HPO_4 + KH_2PO_4 (25% m/m), o pH równym 6,0 i stężeniu NaCl wynoszącym $0,85 \text{ mol/dm}^3$. Zastosowanie tego układu do separacji lizozymu z białka jaja kurzego umożliwiło piętnastokrotne zwiększenie jego aktywności.

Słowa kluczowe: lizozym, białko jaja kurzego, ekstrakcja dwufazowa, PEG, fosforany, współczynnik podziału.

Wstęp

Lizozym (N-acetylmuramylhydrołaza; E.C.3.2.1.17) katalizuje hydrolizę wiązań β -1,4-glikozydowych pomiędzy kwasem N-acetylmuraminowym a N-acetylglikozoaminą w ścianie komórek bakterii, głównie gramdodatnich, prowadząc do zniszczenia jej struktury i w efekcie końcowym do śmierci mikroorganizmu [13].

Mgr inż. P. Ratajczak, mgr inż. W. Białas, dr inż. R. Dembczyński, prof. dr hab. W. Grajek, prof. dr hab. T. Jankowski, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, ul Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań

Dzięki tej właściwości może on być wykorzystywany jako środek antybakteryjny zwiększający bezpieczeństwo mikrobiologiczne żywności [4, 6]. Dotychczas w Polsce enzym ten jest stosowany jako konserwant tylko przy produkcji serów dojrzewających, zamiennie z azotanami, pod nazwą E 1105 [5].

Lizozym występuje w formie pojedynczego łańcucha polipeptydowego, składającego się ze 129 aminokwasów. Na N-końcu występuje lizyna, natomiast C-końcowym aminokwasem jest leucyna. Łańcuch polipeptydowy połączony jest za pomocą czterech mostków dwusiarczkowych [12]. Białko ma kształt zbliżony do elipsoidy o wymiarach 4,5 x 3,0 x 3,0 nm. Masa cząsteczkowa jest stosunkowo niska i wynosi około $14,4 \cdot 10^6$ Da. Lizozym ma zasadowy charakter, a wartość liczbowa punktu izoelektrycznego w zależności od pochodzenia enzymu zawiera się w przedziale 9,6–11,0. Białko lizozymu odznacza się wysoką termostabilnością, szczególnie w środowisku kwaśnym [7], jest dobrze rozpuszczalne w wodzie, wodnych roztworach soli oraz tłuszczach. Ponadto lizozym jest odporny na działanie enzymów proteolitycznych takich, jak trypsyna czy pepsyna [11].

Bardzo wydajnym źródłem tego enzymu, pod względem możliwości pozyskiwania go na skalę przemysłową, jest białko jaj ptaków, a szczególnie jaja kurzego, w którym stanowi on ok. 3,5% suchej masy [16]. Aktualnie, najczęściej stosowaną metodą izolacji lizozymu z białka jaja kurzego jest wieloetapowe wytrącanie przy użyciu chlorku sodu oraz ultrafiltracja [8]. Preparaty o bardzo wysokiej czystości otrzymuje się stosując techniki chromatograficzne [10, 17].

Alternatywę dla wymienionych metod stanowi ekstrakcja w wodnych układach dwufazowych (ATPS – *aqueous two-phase systems*) [1]. Układy te zbudowane są z dwóch faz bogatych w wodę i znajdujących się w stanie równowagi. Główną ich zaletą, w odniesieniu do tradycyjnych metod, są sprzyjające warunki do zachowania w stanie nienaruszonym właściwości biologicznych rozdzielanych cząstek. Podział substancji pomiędzy obie fazy jest głównie efektem określonych właściwości hydrofobowych oraz wielkości i rodzaju ładunku danej cząstki. Optymalizacja tego procesu ogranicza się z reguły do doświadczalnego określenia składu poszczególnych faz, jak również, sporadycznie na modyfikacjach struktury izolowanej molekuly np. metodami inżynierii genetycznej [9]. Wodne układy dwufazowe otrzymuje się zwykle przez zmieszanie (1) roztworu glikolu polietylenowego (PEG) z roztworem dekstranu, (2) roztworu glikolu polietylenowego z wodnym roztworem soli np. siarczanów, fosforanów, względnie (3) wodnego roztworu niejonowego związku powierzchniowo czynnego (polimery typu oksyetylen, oksypropylen), w którym po zmianie temperatury na wyższą od temperatury mętnienia lub niższą od krytycznej temperatury roztworu, następuje rozdział na dwie fazy [18].

Celem pracy było sprawdzenie możliwości zastosowania wodnych układów dwufazowych do oczyszczania lizozymu z białka jaja kurzego oraz optymalizacja

procesu poprzez określenie odpowiedniego pH roztworu fosforanów, masy cząsteczkowej glikolu polietylenowego oraz stężenia NaCl w układzie separacyjnym.

Materiały i metody badań

Lizozym

Materiałem użytym do badań był lizozym (Sigma – Aldrich, USA) o aktywności 46400 U/mg oraz białko jaja kurzego pochodzące z jaj dostępnych w handlu.

Wodne układy dwufazowe

Układy dwufazowe wytworzono z przygotowanych wcześniej roztworów glikoli polietylenowych o stężeniach 27% (m/m) i mieszanin roztworów fosforanów $K_2HPO_4 + KH_2PO_4$ o stężeniach 25% (m/m). Wartości pH fosforanów ustalane były poprzez zmieszanie w odpowiednich proporcjach roztworów K_2HPO_4 i KH_2PO_4 . Kontrolę pH dokonywano za pomocą pH-metru. Układy przygotowywano w naczyniach wirówkowych o pojemności 15 cm³. W pierwszym etapie w naczyniach umieszczano 1,5 cm³ roztworu PEG o określonej masie cząsteczkowej, po czym wprowadzano 0,5 cm³ wodnego roztworu lizozymu o stężeniu 0,4 mg/cm³ i całość dokładnie mieszano. Do powstałego roztworu dodawano 2 cm³ roztworu fosforanów o określonym pH. W przypadku badania wpływu chlorku sodu na rozdział lizozymu, dodawano NaCl w takiej ilości, by końcowe stężenie soli w układzie wynosiło odpowiednio 0,085, 0,47 i 0,85 mol/dm³. Tak wypełnione naczynie wirówkowe wytrząsano przez 3 min, a następnie wirowano (3500 obr./min, 3 min) w celu przyspieszenia rozdziału faz. Po pomiarze objętości rozdzielonych faz, dolnej i górnej, były one przenoszone do probówek typu „Eppendorf”.

Przygotowanie białka jaja kurzego do rozdziału

Białko jaja kurzego, oddzielone od żółtka, homogenizowano przez 2 godziny przy użyciu mieszadła mechanicznego (450 obr./min). Następnie homogenat filtrowano dwukrotnie przez sito o średnicy otworów 1 mm w celu usunięcia ewentualnej piany. Tak przygotowane białko rozcieńczano 50 razy (w stosunku objętościowym) i wirowano (3000 obr./min, 2 min). Rozcieńczone białko poddawano rozdziałowi w wodnych układach dwufazowych.

Rozdział białka jaja kurzego

Do układów dwufazowych wprowadzano, zamiast roztworu czystego lizozymu, pięćdziesięciokrotnie rozcieńczone białko jaja kurzego i dalej postępowano jak w

punkcie powyżej. W zebranych fazach oznaczano aktywność lizozymu i stężenie białka całkowitego, a następnie porównywano z próbą wyjściową i określano stopień oczyszczenia enzymu, korzystając z równania [8]:

Stopień oczyszczenia = (aktywność właściwa lizozymu po zagęszczeniu) / (aktywność właściwa enzymu przed zagęszczeniem)

Oznaczanie aktywności lizozymu metodą spektrofotometryczną

Aktywność enzymu oznaczano w oparciu o spektrofotometryczny pomiar zmiany absorbancji zawiesiny bakterii *Micrococcus lysodeikticus* w czasie 1 min. Liofilizowane bakterie *Micrococcus lysodeikticus* zawieszono w 0,066 molowym buforze fosforanowym o pH 6,2 w takim stężeniu, aby absorbancja mierzona przy długości fali 450 nm zawierała się w zakresie 0,55 – 0,6 (wartość początkowa A_0). Następnie do kuwety o drodze optycznej 1 cm, w której znajdowało się 2,5 cm³ przygotowanej zawiesiny bakterii o temp. 25°C, dodawano 0,1 cm³ badanej próby i po upływie 60 s odczytywano absorbancję końcową (A_k). Następnie obliczano różnicę absorbancji ΔA i korzystając z równania krzywej wzorcowej wyznaczano stężenie lizozymu. Znając aktywność wzorca obliczano aktywność w badanej próbce według równania:

Aktywność próby = aktywność wzorca x stężenie lizozymu odczytane z krzywej kalibracyjnej.

Oznaczanie zawartości białka całkowitego

Białko całkowite oznaczano metodą BCA [15]. W metodzie tej wykorzystuje się zjawisko polegające na tym, że w środowisku alkalicznym jony Cu^{2+} w obecności określonych aminokwasów ulegają redukcji do jonów Cu^+ , które następnie tworzą barwny kompleks z kwasem bis-cynchoninowym. Maksimum absorpcji tego kompleksu znajduje się przy $\lambda = 562$ nm. W celu wykonania oznaczenia, do szklanych probówek nalewano 2 cm³ mieszaniny roboczej, a następnie dodawano 0,1 cm³ badanej próby. Przygotowany roztwór inkubowano przez 30 min w temp. 37°C i mierzono absorbancję przy długości fali 562 nm. Stężenie białka obliczano na podstawie równania krzywej kalibracyjnej zależności absorbancji od stężenia albuminy surowicy bydlęcej.

Metoda płaszczyzny odpowiedzi w optymalizacji warunków rozdziału

Plan doświadczenia oraz pełną analizę statystyczną wykonano w oparciu o zastosowanie metody płaszczyzny odpowiedzi (ang. response surface methodology, RSM). Wszystkie obliczenia wykonano w programie komputerowym Statistica 6.0. W badaniach uwzględniono wpływ trzech czynników: pH w zakresie 6,0–9,0, stężenie

NaCl w zakresie 0,085–0,85 mol/dm³ oraz masę cząsteczkową PEG w zakresie 4000–8000. Otrzymane wyniki doświadczalne poddano transformacji postaci $y' = \log(y)$, gdzie

$y = K$, co ułatwiło przeprowadzenie analizy statystycznej. Przy wyborze modelu matematycznego, opisującego zależności pomiędzy badanymi czynnikami oraz ich wpływ na wartość współczynnika K , kierowano się rezultatem testu braku dopasowania oraz wartością poprawionego współczynnika determinacji R^2 . Wnioskowanie przeprowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Badania modelowe z użyciem czystego preparatu lizozymu

Pierwszy etap badań stanowiły doświadczenia modelowe z użyciem czystego preparatu lizozymu (Sigma-Aldrich). Szczegółowy schemat doświadczenia wraz z wynikami w postaci średniej z trzech powtórzeń przedstawiono w tab. 1.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników (tab. 2) wskazuje, że dobrany model był wysoce istotny ($p < 0,0001$), cechował się również wysoką wartością poprawionego współczynnika determinacji ($R^2 = 0,98$). Wynik testu braku dopasowania ($p = 0,068$) wskazywał ponadto, że model ten może być wykorzystany do przewidywania zmian wartości współczynnika podziału K w założonych przedziałach wartości badanych zmiennych niezależnych. Wszystkie wartości współczynników podane w tab. 2. były istotne statystycznie ($p < 0,05$). Siłę, z jaką badane czynniki oddziaływały na wielkość K , przedstawiono w postaci wykresu PARETO efektów (rys. 1).

Na podstawie przeprowadzonych obliczeń wyznaczone zostały ponadto równania regresji współczynnika podziału K :

- PEG 4000 $\log(K) = 3,4958 - 0,9232a + 2,384b + 0,0576a^2$,
- PEG 6000 $\log(K) = 3,4218 - 0,9232a + 2,384b + 0,0576a^2$,
- PEG 8000 $\log(K) = 3,3590 - 0,9232a + 2,384b + 0,0576a^2$,

gdzie a – wartość pH, b – stężenie NaCl.

Wartości liczbowe wyrazów wolnych w powyższych równaniach regresji wskazywały na istotny, lecz bardzo mały wpływ masy cząsteczkowej PEG na podział badanego białka. Zmiana masy glikolu polietylenowego z 4000 na 8000 Da ($C_{\text{NaCl}} 0,085$ mol/dm³, pH 6,0) powodowała spadek wartości K o około 0,46. Z danych literaturowych wynika, że białka o niskiej masie cząsteczkowej szybciej migrują do fazy glikolu polietylenowego, a istotny wpływ na to zjawisko wywiera również masa cząsteczkowa polimerów tworzących poszczególne fazy [1]. Zależność ta ma charakter odwrotny, tj. im mniejsza jest masa cząsteczkowa glikolu tym większy jest

współczynnik podziału K. Lizozym jako białko o niskiej masie cząsteczkowej ($14,4 \cdot 10^3$ Da) zachowywał się zgodnie z tą regułą i gromadził się przede wszystkim w fazie górnej (PEG). Podobne zjawisko zaobserwowano w przypadku taumatyny, białka o nieznacznie większej masie cząsteczkowej ($22 \cdot 10^3$ Da) i identycznym punkcie izoelektrycznym, separowanego

Tabela 1

Plan doświadczenia (pH, stężenie NaCl, masa PEG) oraz wartości współczynnika podziału lizozymu (K) w wodnych układach dwufazowych PEG/fosforan potasu.

The experiment plan (pH, concentration of NaCl, molecular weight of PEG) and values of the (K) partition coefficient for lysozyme in aqueous two-phase systems of PEG/potassium phosphate.

Lp. No.	pH	Stężenie NaCl Concentration of NaCl [mol·dm ³]	Masa cząsteczkowa PEG Molecular weight of PEG	Wartość K 'K' coefficient value	log K
1	6,0	0,085	4000	1,31	0,117
2	6,0	0,085	6000	1,60	0,204
3	6,0	0,085	8000	1,09	0,037
4	6,0	0,470	4000	19,07	1,280
5	6,0	0,470	6000	13,88	1,142
6	6,0	0,470	8000	13,94	1,144
7	6,0	0,850	4000	85,66	1,933
8	6,0	0,850	6000	84,33	1,926
9	6,0	0,850	8000	80,64	1,907
10	7,5	0,085	4000	0,98	-0,009
11	7,5	0,085	6000	0,73	-0,137
12	7,5	0,085	8000	0,67	-0,174
13	7,5	0,470	4000	8,56	0,932
14	7,5	0,470	4000	9,34	0,970
15	7,5	0,470	4000	8,02	0,904
16	7,5	0,470	4000	9,10	0,959
17	7,5	0,470	4000	8,43	0,926
18	7,5	0,470	6000	9,10	0,959
19	7,5	0,470	6000	6,97	0,843
20	7,5	0,470	6000	8,68	0,939
21	7,5	0,470	6000	8,25	0,916
22	7,5	0,470	6000	5,36	0,729
23	7,5	0,470	8000	5,73	0,758
24	7,5	0,470	8000	6,97	0,843
25	7,5	0,470	8000	6,62	0,821
26	7,5	0,470	8000	6,46	0,810
27	7,5	0,470	8000	5,00	0,699
28	7,5	0,850	4000	72,75	1,862
29	7,5	0,850	6000	75,42	1,877
30	7,5	0,850	8000	17,62	1,246
31	9,0	0,085	4000	1,48	0,170

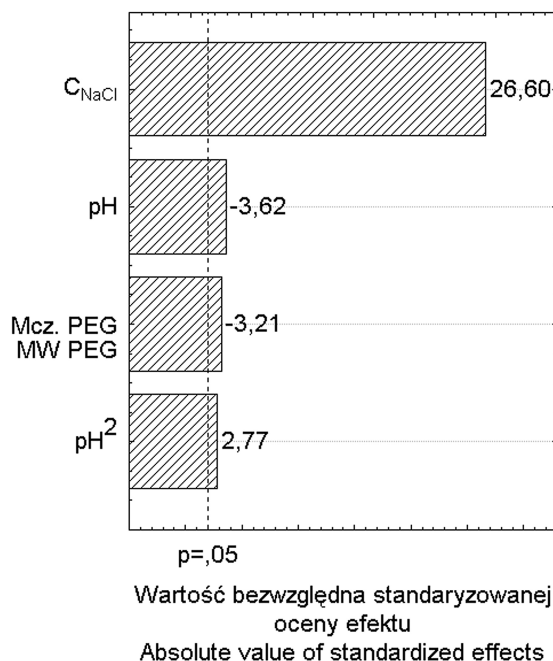
32	9,0	0,085	6000	0,84	-0,076
33	9,0	0,085	8000	1,09	0,037
34	9,0	0,470	4000	11,86	1,074
35	9,0	0,470	6000	5,95	0,775
36	9,0	0,470	8000	6,58	0,818
37	9,0	0,850	4000	57,0	1,756
38	9,0	0,850	6000	18,92	1,277
39	9,0	0,850	8000	56,73	1,754

Tabela 2

Analiza wariancji zredukowanego modelu kwadratowego.

The variance analysis of a reduced quadratic model.

Źródło Source	Suma kwadratów Sum of squares	Stopnie swobody Degree of freedom	Średni kwadrat Mean square	Wartość F F Value	Prawdopodobieństwo Probability
Model	13,903	5	2,781	359,32	< 0,0001
pH	0,141	1	0,141	18,22	0,0002
C _{NaCl}	13,108	1	13,108	1693,86	< 0,0001
M.cz. PEG MW PEG	0,117	2	0,058	7,55	0,0021
pH ²	0,154	1	0,154	19,86	0,0001
Reszta Residual	0,240	31	0,008		
Brak dopasowania Lack of Fit	0,189	19	0,010	2,33	0,0682
Czysty błąd Pure Error	0,051	12	0,004	-	-



Rys. 1. Wykres PARETO efektów.

Fig. 1. The Pareto chart of effects.

z homogenatu bakterii *Escherichia coli* w układach dwufazowych typu PEG/dekstran oraz PEG/fosforany [3]. Wpływ masy cząsteczkowej glikolu zwiększa się ze wzrostem masy cząsteczkowej izolowanego białka. Badania nad rozdziałem α -amylazy ($48 \cdot 10^3$ Da) w układach PEG/fosforany wykazały, że wraz ze wzrostem masy glikolu z 1500 do 6000 Da następował blisko 170-krotny spadek wartości współczynnika podziału K [14].

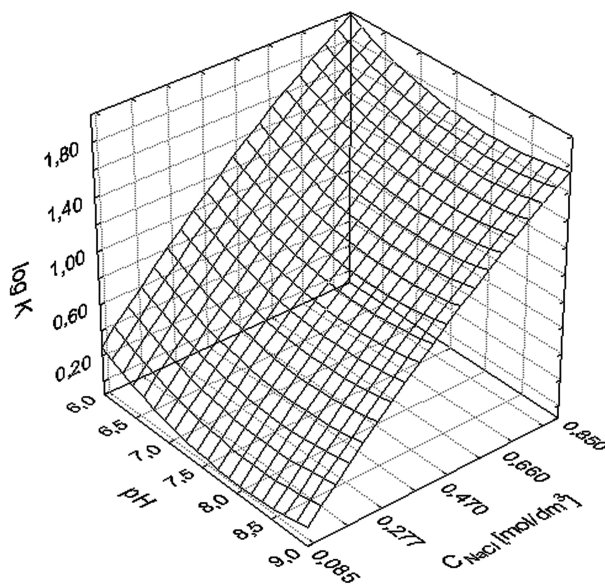
W badanych układach stopień zagęszczenia lizozymu w fazie górnej, wyrażony za pomocą współczynnika podziału K, był bardzo zróżnicowany, a jego wartość wahała się od 0,67 do 85,66. Czynniki, które wpływały w sposób wysoce istotny na kierunek migracji lizozymu było przede wszystkim stężenie chlorku sodu oraz w mniejszym stopniu pH fazy dolnej badanych układów (rys. 2). Najmniejsze zagęszczenie enzymu w fazie glikolu odnotowano w układach o najniższym z badanych stężeń NaCl ($0,085 \text{ mol/dm}^3$). Zwiększenie stężenia z $0,085 \text{ mol/dm}^3$ do $0,85 \text{ mol/dm}^3$ powodowało około 100-krotny wzrost wartości K, niezależnie od masy cząsteczkowej glikolu polietylenowego (rys. 3). Podobne zmiany wielkości wartości współczynnika podziału zaobserwowano podczas ekstrakcji lizozymu z transgenicznego tytoniu w układach PEG/fosforany, w których stężenie NaCl wynosiło $1,0 \text{ mol/dm}^3$ [2]. Również w przypadku wspomnianych powyżej badań nad migracją α -

amylazy w układach PEG/fosforany, stwierdzono, że 8,8% stężenie (m/m) chlorku sodu powoduje blisko 77-krotny wzrost współczynnika podziału [14]. Na podstawie badań modelowych, prowadzonych na czystych roztworach określonych białek stwierdzono, że dodatek obojętnej soli, np. chlorku sodu, powoduje wzrost współczynnika podziału dodatnio naładowanych białek [3].

Zjawisko to tłumaczy się w ten sposób, że wprowadzona do układu sól ulega dysocjacji na jony, które gromadzą się przy powierzchni międzyfazowej, tworząc podwójną warstwę elektryczną. W zależności od wielkości współczynników podziału kationów i anionów, powierzchnia podwójnej warstwy elektrycznej od strony np. fazy górnej będzie dodatnia bądź ujemna [18].

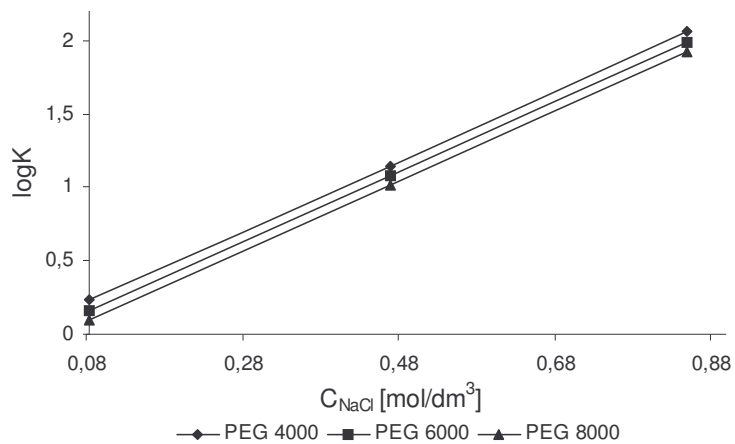
W przypadku chlorku sodu współczynnik podziału anionów jest większy niż kationów, zatem badane białka, mające w podanych warunkach pH ładunek dodatni, będą preferencyjnie przeciągane do fazy górnej, na skutek oddziaływań elektrostatycznych z jonem chlorkowym.

Analiza zmian wielkości współczynnika podziału w zależności od pH wykazała, że w zakresie pH od 6,0 do 7,5 następował wyraźny spadek stężenia lizozymu w fazie glikolu polietylenowego. Powyżej pH 7,5 odnotowano natomiast niewielki jego wzrost (rys. 4). Zależność ta występowała bez względu na stężenie NaCl i masę cząsteczkową PEG.



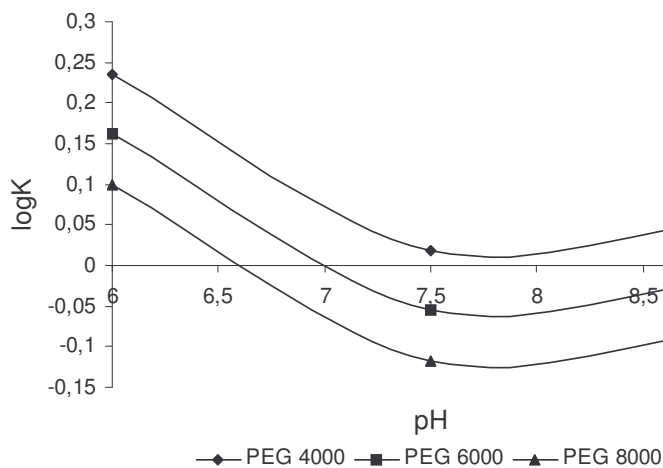
Rys. 2. Wykres powierzchni odpowiedzi współczynnika podziału K w funkcji pH i stężenia chlorku sodu (M.cz. PEG 4000).

Fig. 2. The response surface diagram of 'K' partition coefficient as a function of pH and sodium chloride concentration (MW PEG = 4000).



Rys. 3. Wartość współczynnika podziału K w zależności od stężenia chlorku sodu (PEG 4000, 6000, 8000; pH = 6,0).

Fig. 3. The 'K' coefficient values depending on the NaCl concentration (PEG 4000, 6000, 8000; pH = 6,0).



Rys. 4. Wartość współczynnika podziału K w zależności od pH (PEG 4000, 6000, 8000; C_{NaCl} = 0,085 mol/dm³).

Fig. 4. The 'K' coefficient values depending on pH values (PEG 4000, 6000, 8000; C_{NaCl} = 0,085 mol/dm³).

Na podstawie wyników wykonanych doświadczeń wytypowano układ, w przypadku którego współczynnik podziału był największy w badanym zakresie zmiennych: PEG (20% m/m) / K_2HPO_4 + KH_2PO_4 (25% m/m), pH 6,0 i stężenie NaCl wynoszące $0,85 \text{ mol/dm}^3$.

Oczyszczanie lizozymu z białka jaja kurzego

W drugim etapie doświadczeń wykorzystano zoptymalizowany układ dwufazowy PEG/fosforany do separacji lizozymu z białka jaja kurzego. Wyniki tych badań przedstawiono w tab. 3.

Otrzymano roztwór lizozymu w glikolu polietylenowym o 15-krotnym stopniu oczyszczenia w stosunku do wyjściowego białka jaja. Taki stopień oczyszczenia jest porównywalny z metodami membranowymi. Kijowski i wsp. [8] otrzymali preparaty lizozymu o 17-krotnym stopniu oczyszczenia stosując membranę ultrafiltracyjną o punkcie odcięcia $100 \cdot 10^3 \text{ Da}$. Aktywność preparatu lizozymu uzyskanego za pomocą technik membranowych wynosiła 12300 U/mg , czyli była o blisko 1500 jednostek niższa od aktywności lizozymu zagęszczonego metodą ekstrakcji w wodnych układach dwufazowych typu PEG/fosforany stosowanych w prezentowanej pracy.

Tabela 3

Separacja lizozymu z białka jaja kurzego w układzie dwufazowym PEG 20% (m/m) / $K_2HPO_4+KH_2PO_4$ 25% (m/m) o pH 6,0 i stężeniu NaCl $0,85 \text{ mol/dm}^3$.

The separation of lysozyme from egg white in aqueous two-phase system of PEG 20% (w/w) / $K_2HPO_4+KH_2PO_4$ 25% (w/w) at: pH = 6,0, and NaCl concentration = $0,85 \text{ mol/dm}^3$.

Surowiec Raw material	Objętość Volume [cm^3]	Białko całkowite Total protein [mg]	Aktywność całkowita Total activity [U/cm^3]	Aktywność specyficzna Specific activity [U/mg]	Wzrost aktywności Activity increase
Białko jaja Egg white	0,5	$0,85 \pm 0,06$	$1557 \pm 44,5$	$911 \pm 56,3$	1
Frakcja PEG Fraction of PEG	1,5	$0,083 \pm 0,004$	$771 \pm 18,2$	$13895 \pm 453,7$	$15,1 \pm 0,86$

Porównując nowoczesne metody izolacji lizozymu z białka jaja kurzego należy zaznaczyć, że ekstrakcja w wodnych układach dwufazowych jest procesem szybkim i zarazem najtańszym, a poza tym pozwala uzyskać podobne rezultaty jak wymienione

wyżej metody membranowe i chromatograficzne. Istotną zaletą ekstrakcji w układach dwufazowych jest ponadto łatwość powiększania skali. Celem dalszych badań powinno być jeszcze większe zagęszczenie lizozymu i jego oddzielenie od glikolu polietylenowego poprzez zastosowanie wtórnego układu dwufazowego.

Wnioski

1. Spośród trzech badanych zmiennych: pH, stężenie NaCl i masa cząsteczkowa glikolu polietylenowego, największy wpływ na migrację lizozymu do fazy górnej (PEG) ma stężenie chlorku sodu w układzie separacyjnym. Wykazano, że zwiększenie siły jonowej roztworu poprzez zwiększenie stężenia NaCl do wartości $0,85 \text{ mol/dm}^3$, zwiększyło stokrotnie wartość współczynnika podziału lizozymu.
2. Przy wzroście masy cząsteczkowej PEG z 4000 Da do 8000 Da maleje powinowactwo lizozymu do fazy glikolu polietylenowego.
3. Największe powinowactwo lizozymu do fazy glikolu polietylenowego występuje przy $\text{pH} = 6$.
4. Stopień oczyszczenia lizozymu metodą ekstrakcji dwufazowej z użyciem układu PEG/fosforany jest porównywalny z technikami membranowymi.
5. Największą wartością liczbową współczynnika podziału lizozymu uzyskano w odniesieniu do układu: 20% (m/m) PEG 4000, 25% $\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ (m/m), $\text{pH} 6,0$ i $\text{NaCl } 0,85 \text{ mol/dm}^3$.

Literatura

- [1] Albertsson P.A.: Partition of cells particles and macromolecules. Ed. Wiley, New York 1986.
- [2] Blasubramaniam D., Wilkinson C., van Cott K., Zhang Ch.: Tobacco protein separation by aqueous two-phase extraction. *J. Chromat.*, 2003, **989**, 119-129.
- [3] Cascone O., Andrews A., Asenjo J.A.: Partitioning and purification of thaumatin in aqueous two-phase systems. *Enzyme Microb. Technol.*, 1991, **13**, 629-635.
- [4] Cunningham F.E., Proctor V.A., Goetsch S.I.: Egg-white lysozyme as a food preservative: an overview. *World. Poultry Sci. J.*, 1991, **47**, 142-169.
- [5] Rozporządzenie MZ z dn. 23.04.2004 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu. *Dz. U.* 2004. Nr 94, poz. 933.
- [6] Kijowski J., Leśniewski G.: Metody badania aktywności enzymatycznej oraz oznaczanie ilościowe lizozymu z białka jaja kurzego. *Przem. Spoż.*, 1995, **12**, 476-479.
- [7] Kijowski J., Leśniewski G.: Wykorzystanie lizozymu do utrwalania żywności, w diagnostyce medycznej i farmakologii. *Biotechnologia*, 1995, **2**, 130 - 140.
- [8] Kijowski J., Leśniewski G., Fabisz-Kijowska A.: Lysozyme polymer formation and functionality of residuals after lysozyme extraction. In: *Egg nutrition and biotechnology*. J. S. Sim, S. Nakai, W. Guenter eds. CAB International Wallingford, 2000, 269-285.
- [9] Kohler K., Ljungquist C., Kondo A., Veide A., Nilsson B.: Engineering proteins to enhance their partition coefficients in aqueous two-phase systems. *Biotechnol.*, 1991, **9**, 642-646
- [10] Leśniewski G.: Otrzymywanie lizozymu z białka jaja kurzego metodami krystalizacji, ultrafiltracji oraz z użyciem wymiennicza jonowego. Praca doktorska AR w Poznaniu, 1997.

- [11] Panfil-Kuncewicz H.: Charakterystyka lizozymu i możliwości jego zastosowania w przemyśle spożywczym. *Żyw. Człow. Metab.*, 1988, **15**, 218-222.
- [12] Proctor V.A., Cunningham F.E.: The chemistry of lysozyme and its use as a food preservative and pharmaceutical. *Crit. Rev. Food Sci.*, 1988, **26**, 359-360.
- [13] Schlegel H.G.: *Mikrobiologia ogólna*. PWN, Warszawa 1996.
- [14] Schmidt A.S., Ventom A.M., Asenjo A.J.: Partitioning and purification of α -amylase in aqueous two-phase systems. *Enzyme Microb. Technol.*, 1994, **16**, 131-141.
- [15] Smith P.K., Krohn R.I., Hermanson G.T., Mallia A.K., Gartner F.H., Provenzano M.D., Fujimoto E.K.: Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.*, 1985, **150**, 76-85.
- [16] Trziszka T., Kopeć W.: Lizozym - fenomenalny składnik białka jaja. *Drobiarstwo*, 1996, **3**, 43-44.
- [17] Vaidya A.A., Lele B.S., Kulkarni M.G., Mashelkar R.A.: Thermoprecipitation of lysozyme from egg white using copolymers of N-isopropylacrylamide and acidic monomers. *J. Biotechnol.*, 2001, **87**, 95-107.
- [18] Zielińska-Dawidziak M., Jankowski T.: Separacja produktów biotechnologii w wodnych układach dwufazowych. *Biotechnologia*, 2002, **56**, 142-152.

AN AQUEOUS TWO-PHASE EXTRACTION OF LYSOZYME FROM EGG WHITE

S u m m a r y

The objective of this paper was to determine the usefulness and effectiveness of aqueous two-phase systems (ATPS) applied to separate lysozyme from egg white. The lysozyme separation was carried out in a system composed of polyethylene glycol (PEG) and potassium phosphate. In the model experiments with pure lysozyme, the optimal process parameters were evaluated. Additionally, the effects of the PEG molecular weight, pH of phosphate solution, and NaCl concentration on the value of the 'K' lysozyme partition coefficient were investigated. It was found that with regard to the NaCl concentration range investigated, within this particular two-phase system, the increase in the sodium chloride concentration caused the increase in the value of 'K' coefficient. Contrary to this, the increase in the 'PEG' molecular weight and in pH values of the phosphate solution caused a decrease in the lysozyme partition coefficient in ATPS. The highest lysozyme separation parameters were obtained in the system: PEG 4000 (20% w/w)/ $K_2HPO_4 + KH_2PO_4$ (25% w/w), with the pH level of 6,0, and the NaCl concentration of 0,85 M.

The 15-fold increase of lysozyme activity was obtained when the optimal conditions of ATPS, as determined during the model experiments, were applied to the separation of lysozyme from egg white.

Key words: lysozyme, egg white, ATPS, PEG, phosphate, partition coefficient. ☒

ANNA DEMCZUK, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI,
JADWIGA KOWALEWSKA-PIONTAS, JUSTYNA GÓRSKA

WZBOGACANIE W OLIGOSACHARYDY ODCIEKÓW PO ULTRAFILTRACJI MLEKA I ICH ZASTOSOWANIE W PRODUKCJI JOGURTU

Streszczenie

Opracowano warunki hydrolizy laktozy oraz wydajnej syntezy GOS w permeacie po ultrafiltracji mleka z dodatkiem preparatu b-galaktozydazy. Otrzymany koncentrat GOS zastosowano do produkcji jogurtu.

Oceniono zależność stopnia hydrolizy laktozy oraz wydajności syntezy galaktooligosacharydów od temperatury i czasu reakcji, obecności lub braku białka w roztworach substratu oraz od wyjściowego stężenia laktozy w roztworach substratu. Korzystną wydajność syntezy galaktooligosacharydów otrzymano w procesie prowadzonym przez 8 h w odcieku nieodbiańczonym, zawierającym 30% laktozy, w temp. 5°C. Otrzymany koncentrat galaktooligosacharydów zastosowano do uzupełnienia zawartości suchej masy w mleku przeznaczonym do produkcji jogurtów.

Stwierdzono, że dodatek koncentratu galaktooligosacharydów wpłynął stymulująco na rozwój bakterii z rodzajów *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* w jogurcie.

Słowa kluczowe: b-galaktozydaza, prebiotyki, probiotyki, galaktooligosacharydy.

Wprowadzenie

Zagospodarowanie serwatki, a także permeatu po ultrafiltracji (UF) serwatki lub mleka jest ciągle aktualnym problemem technologicznym, ekonomicznym i ekologicznym.

Do nowych kierunków zagospodarowywania serwatki lub odcieków (permeatów) po UF serwatki lub mleka zalicza się ich enzymatyczne wzbogacanie w oligosacharydy (OS), głównie galaktooligosacharydy (GOS) i zastosowanie w produkcji żywności prozdrowotnej [8, 9, 16].

W przewodzie pokarmowym GOS są wykorzystywane przez bifidobakterie i bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, stymulując ich rozwój [13]. Korzystny wpływ GOS na ww. mikroflorę jelita grubego, właściwości antyadhezyjne i inhibicyjne wobec wielu patogenów, a także właściwości żywieniowe pozwalają zaliczyć je do składników żywności funkcjonalnej [7, 10].

Aplikacyjne zainteresowanie GOS zmierza w kierunku ich zastosowania w produkcji odżywek dla niemowląt i przybliżenia ich składu do mleka ludzkiego, ale również do opracowania technologii produkcji dodatków modyfikujących właściwości jogurtów, napojów, deserów, galaretek, lodów, wyrobów piekarskich (chleba) i cukierniczych (ciastek i cukierków), dżemów oraz marmolad [5].

W procesie wzbogacania permeatów po UF serwatki lub mleka w GOS stosuje się najczęściej enzymatyczną transgalaktozylację laktozy [13]. O wydajności reakcji syntezy GOS oraz ich składzie decydują: właściwości stosowanych preparatów β -galaktozydazy oraz warunki procesu, np. stężenie laktozy [5, 11].

Celem niniejszych badań było opracowanie warunków hydrolizy laktozy oraz wydajnej syntezy GOS w permeacie po UF mleka z dodatkiem preparatu β -galaktozydazy, a następnie otrzymanie koncentratu GOS i zastosowanie go w produkcji jogurtu.

Materiał i metody badań

W badaniach stosowano: mleko o zawartości 2% tłuszczu (SM „Mlekoop”, Grajewo), proszek mleka odtłuszczonego (SM Gostyń), suszony permeat po UF mleka (SM w Wolsztynie), liofilizowane kultury bakterii fermentacji mlekowej EZAL seria MY 96 (Rhodia Food Biolacta w Olsztynie), preparat β -galaktozydazy Maxilact LX5000 (Gist-Brocades), peroksydazę (Fluka), dihydrochlorek o-tolidyny (Fluka) i oksydazę glukozową (Sigma), podłoża MRS i M17 (Merck).

Warunki reakcji enzymatycznej hydrolizy i transgalaktozylacji laktozy

Hydrolizę laktozy przez preparat Maxilact LX 5000 w dawce 40 j.a./1 g laktozy prowadzono w roztworach nieodbiałczonych i odbiałczonych permeatu po UF mleka o pH 6,4, zawierających 10, 20 i 30% laktozy. Badano wpływ odbiałczenia permeatu oraz czasu procesu na stopień hydrolizy laktozy i wydajność syntezy OS. Proces prowadzono w temp. 5°C przez 24 h, pobierając próbki do analizy po 4, 8, 12 i 24 h oraz w temp. 37°C przez 6 h, pobierając próbki do analizy po 3, 4, 5 i 6 h.

Stopień hydrolizy laktozy wyrażano jako procent zhydrolizowanej laktozy w stosunku do jej zawartości ogółem. W tym celu oznaczano zawartość laktozy i glukozy w hydrolizatach metodą AOAC [1, 2]. W próbkach wszystkich otrzymanych hydrolizatów przeprowadzono chromatograficzny rozdział sacharydów na płytkach TLC [17].

Hydrolizat otrzymany w ustalonych warunkach zagęszczano w wyparce próżniowej do zawartości 74,2% s.m. Otrzymany koncentrat GOS zastosowano w produkcji jogurtu.

Sposób produkcji jogurtu

Jogurt produkowano zgodnie z instrukcją technologiczną [15].

Zawartość suchej masy w mleku uzupełniano do 18,5%, dodając obliczoną dawkę mleka w proszku (próba kontrolna) lub mleka w proszku i koncentratu GOS w stosunku s.m. 1:1, lub tylko ww. koncentratu zamiast mleka w proszku. Mleko pasteryzowano w temp. 90°C przez 10 min. W procesie fermentacji stosowano liofilizowane kultury bakterii fermentacji mlekowej, wcześniej uaktywniane w mleku w temp. 42°C do momentu otrzymania skrzepu.

W próbkach mleka przygotowanych w sposób opisany powyżej oraz w próbkach jogurtu oznaczano: kwasowość potencjalną oraz redukcyjność cukrów metodą Bertranda, a także zawartość suchej masy [3] i zawartość białka metodą Lowry [12]. Przeprowadzono ocenę sensoryczną próbek jogurtu oraz rozdział chromatograficzny sacharydów w próbkach otrzymanych jogurtów i w próbce koncentratu GOS, zastosowanego do uzupełnienia zawartości s.m. mleka. Rozdział prowadzono na płytkach TLC.

W jogurcie podczas dojrzewania oznaczano metodą płytkową liczbę drobnoustrojów *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Odważano 1 g określonego jogurtu i sporządzano kolejne jego rozcieńczenia, które nanoszono na płytki. Do określenia liczby pałeczek stosowano podłoże stałe MRS o pH 5,8, płytki inkubowano w temp. 37°C przez 72 h w warunkach beztlenowych. Do określenia liczby paciorkowców stosowano podłoże stałe M17 o pH 7,2, płytki inkubowano w temp. 37°C przez 72 h w warunkach tlenowych. Liczbę drobnoustrojów podano w jtk/1 g jogurtu [4], w modyfikacji własnej.

Wyniki i dyskusja

Badano zależność stopnia hydrolizy laktozy od temperatury i czasu reakcji, obecności lub braku białka w roztworach substratu (odcieku po UF mleka) oraz od wyjściowego stężenia laktozy w roztworach substratu.

Zarówno w reakcji prowadzonej w temp. 37°C, jak i w 5°C stopień hydrolizy laktozy wzrastał wraz ze wzrostem wyjściowego stężenia tego cukru w odcieku i zawierał się w granicach od 60,8 do 99,3%. Stopień hydrolizy laktozy zmieniał się wraz z czasem trwania reakcji. Wydłużaniu czasu reakcji towarzyszył wzrost stopnia hydrolizy laktozy (tab. 1).

Tabela 1

Porównanie stopnia hydrolizy laktozy w odbiałczonych (-) i nieodbiałczonych (+) roztworach permeatu po UF mleka, o różnym stężeniu laktozy hydrolizowanej przez preparat β -galaktozydazy Maxilact. Dodatek β -galaktozydazy 40 j.a./1 g laktozy.

Comparison of the hydrolysis degree of lactose in permeate solutions with or without protein after the completed ultrafiltration of milk showing different concentration values of the lactose; the lactose was hydrolyzed using a preparation of β -galactosidase Maxilact. Additionally, β -galactosidase 40 AU/1 g of lactose was added.

Warunki procesu hydrolizy laktozy Conditions of the lactose hydrolysis process				Stopień hydrolizy laktozy Hydrolysis degree of the lactose [%]
Temperatura Temperature [°C]	Czas hydrolizy laktozy Time of lactose hydrolysis [h]	Obecność białka w roztworze substratu Protein present in the substrate solution	Zawartość laktozy Lactose content [%]	
37	3	(+) 10	69,00	
	4		72,00	
	5		72,20	
	6		75,20	
37	3	(+) 20	60,80	
	4		70,60	
	5		72,50	
	6		74,50	
37	3	(+) 30	79,79	
	4		80,57	
	5		81,09	
	6		82,67	
37	3	(-) 10	76,86	
	4		81,56	
	5		84,70	
	6		87,84	
37	3	(-) 20	82,35	
	4		86,47	
	5		90,58	
	6		93,30	
37	3	(-) 30	87,25	
	4		90,84	
	5		90,84	
	6		96,52	
5	4	(+) 10	81,80	
	8		87,44	
	12		91,16	
	24		93,02	

c.d. tab. 1

5	4	(+)	20	82,33
	8			83,72
	12			94,60
	24			96,76
5	4	(+)	30	74,47
	8			80,67
	12			91,53
	24			99,29
5	4	(-)	10	69,00
	8			69,00
	12			70,58
	24			75,30
5	4	(-)	20	62,56
	8			70,93
	12			73,72
	24			75,85
5	4	(-)	30	70,74
	8			73,23
	12			78,82
	24			80,02

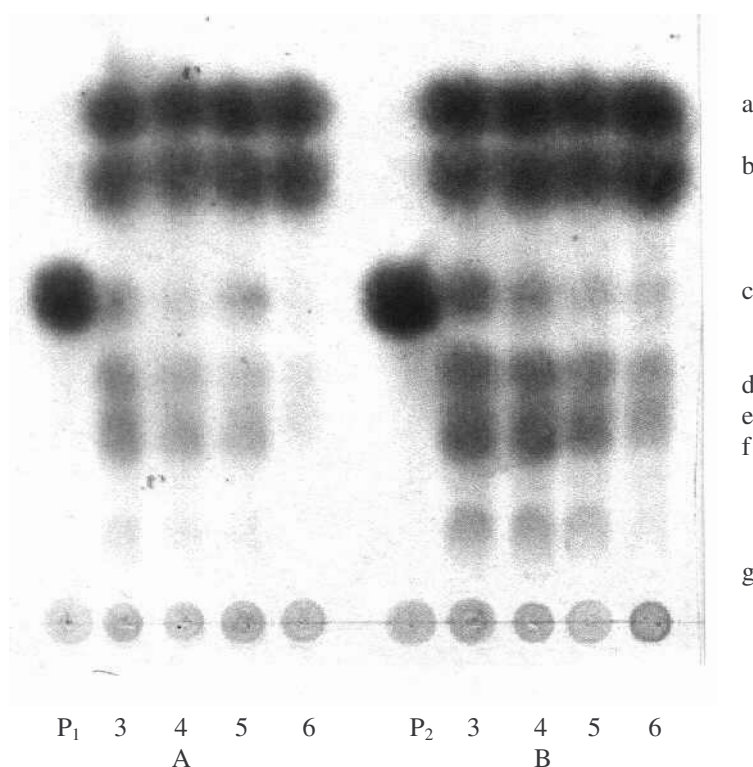
W procesie prowadzonym w temp. 37°C obecność białek hamowała reakcję hydrolizy laktozy. W obecności białek najwyższy stopień hydrolizy laktozy wyniósł 82% w odcieku zawierającym 30% tego cukru, po 6 h reakcji, podczas gdy w odcieku odbiałczonym stopień hydrolizy laktozy osiągnął wartość 96% przy tym samym stężeniu wyjściowym laktozy i po tym samym czasie reakcji (tab. 1).

Stwierdzono, że o wpływie białek na aktywność β -galaktozydazy decydowała temperatura procesu. Prowadząc proces w temp. 5°C otrzymano inne niż w 37°C stopnie hydrolizy laktozy w porównywanych próbkach odcieku (tab. 1).

Reakcji hydrolizy laktozy katalizowanej przez β -galaktozydazę towarzyszyła reakcja transgalaktozylacji prowadząca do powstania GOS.

Wykazano, że zbyt szybka i głęboka hydroliza laktozy, przy jej stosunkowo niskim stężeniu wyjściowym, może nie sprzyjać syntezie GOS. Potwierdza to chromatogram z rozdziału sacharydów w próbkach hydrolizatów laktozy oznaczony literą „A”. (rys. 1). Zaobserwowano, że w procesie prowadzonym w odcieku o zawartości laktozy 20% uzyskano wysoki stopień hydrolizy laktozy wynoszący 93,3% (słabe natężenie barwy plamek w poz. c), ale otrzymano niewielkie stężenie GOS (słabe natężenie barwy plamek d-g). (rys. 1). Natomiast w hydrolizatach „B” z roztworów odcieków o zawartości 30% laktozy i wysokim stopniu jej hydrolizy (96,52%) stwierdzono wyższą koncentrację GOS (plamki d-g na chromatogramie, rys. 1). Charakter i liczba GOS powstających w reakcjach transgalaktozylacji

katalizowanych przez enzym β -galaktozydazę zależy od początkowego stężenia substratu. Wydajność syntezy GOS z laktozy rośnie wraz ze wzrostem początkowego stężenia tego cukru [9, 16]. Zazwyczaj użycie wysokich stężeń początkowych laktozy w roztworze umożliwia uzyskanie korzystnych wydajności syntezy GOS. Prawdopodobnie, wraz ze wzrostem koncentracji laktozy, grupy β -galaktozylowe mają większe powinowactwo do laktozy i/lub GOS niż do wody [9].



Rys. 1. Chromatogram z rozdzielu sacharydów w odbiałczonych roztworach odcieku po UF mleka o zawartości 20% laktozy (P_1) i 30% laktozy (P_2), hydrolizowanej przez preparat β -galaktozydazy Maxilact. Hydrolizę prowadzono w temp. 37°C, pH 6,4. Próbkę pobierano po 3, 4, 5 i 6 h.

Fig. 1. Chromatograms obtained on the basis of saccharides separation in a deproteinized solution of milk permeate after the ultra-filtration of milk containing 20% of lactose (P_1) and 30% of lactose (P_2); the lactose was hydrolyzed using a preparation of β -galactosidase Maxilact. The hydrolysis was conducted at 37°C, pH 6,4. The samples were taken after 3, 4, 5, and 6 hours

Oznaczenia / Designation:

a – glukoza / glucose; b – galaktoza / galactose; c – laktoza / lactose; d–g galaktooligosacharydy / galactooligosaccharides;

A – próbki hydrolizatu z roztworów o zawartości 20% laktozy / samples of hydrolizate from solutions containing 20% of lactose;

B – próbki hydrolizatu z roztworów o zawartości 30% laktozy / samples of hydrolizate from solutions containing 30% of lactose;

Z przeprowadzonych badań wynika, że o wydajności syntezy GOS decydował również czas reakcji enzymatycznej. Wraz z postępującym czasem reakcji dochodziło do wtórnej degradacji GOS, w wyniku czego ich zawartość w zhydrolizowanym odcieku malała (rys. 1, A i B). Jest to zgodne z danymi literaturowymi [14].

Korzystną wydajność syntezy GOS uzyskano w procesie prowadzonym przez 8 h w odcieku nieodbiańczonym, zawierającym 30% laktozy w temp. 5°C. Hydrolizat zagęszczano następnie do zawartości 74,2% s.m., otrzymując koncentrat GOS. Zgodnie z założeniem, koncentrat GOS zastosowano do uzupełnienia zawartości suchej masy w mleku, do około 18,5 %, przeznaczonym do produkcji jogurtu.

W wyniku oceny sensorycznej próbek jogurtu stwierdzono, że uzupełnianie suchej masy mleka koncentratem GOS w różnym stopniu wpłynęło na skład i właściwości gotowych produktów. Najwyżej oceniono jakość jogurtu z mleka, do którego obok mleka w proszku dodano koncentrat (tab. 2).

Z porównania składu chemicznego i właściwości jogurtu wynika, że różnią się one zawartością białek oraz redukcijnością. Dotyczy to przede wszystkim jogurtu z mleka, w którym zawartość suchej masy uzupełniono wyłącznie dodatkiem koncentratu GOS (tab. 2).

Na uwagę zasługują również różnice kwasowości otrzymanych jogurtów. Znacznie wyższa kwasowość próbek jogurtu otrzymanego z mleka z dodatkiem koncentratu GOS może być potwierdzeniem stymulującego oddziaływania GOS na rozwój i aktywność bakterii stosowanych w produkcji jogurtu. W jogurtach oznaczano liczbę drobnoustrojów *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* (tab. 3).

Pomiędzy jogurtem z dodatkiem koncentratu GOS i bez dodatku zaobserwowano różnice w populacji szczepów pałeczek i paciorkowców. Wg Cruza i wsp. [6], obecność OS może stymulować rozwój nie tylko szczepów *Lactobacillus*, ale i *Streptococcus*. Znalazło to odzwierciedlenie w naszych badaniach. Zaobserwowano wzrost liczby pałeczek, z $1,14 \cdot 10^8$ jtk/1 g jogurtu z dodatkiem mleka w proszku do $1,6 \cdot 10^8$ jtk/1 g jogurtu z dodatkiem koncentratu GOS. Jeszcze większe różnice występują w populacji paciorkowców. W jogurcie z dodatkiem mleka w proszku liczba bakterii z rodzaju *Streptococcus* wynosiła $1,4 \cdot 10^9$ jtk/1 g jogurtu, podczas gdy w jogurcie z dodatkiem koncentratu GOS liczba ta wzrosła do $1,2 \cdot 10^{10}$ jtk/1 g jogurtu. Świadczy to o stymulującym wpływie dodatku GOS na mikroflorę jogurtową.

Wyższa kwasowość próbek jogurtu (z mleka z podwyższoną zawartością GOS) zadecydowała o ich właściwościach sensorycznych.

Zauważone różnice w ocenie jakości jogurtu z surowca uzupełnionego dodatkiem koncentratu GOS z odcieków po UF mleka można łatwo wyeliminować np. optymalizując wielkość jego dodatku, a także dobierając temperaturę i czas fermentacji.

Tabela 2

Wpływ dodatku koncentratu galaktooligosacharydów do mleka na skład i właściwości otrzymanych jogurtów.

The effect of galactooligosaccharides concentrate added to milk on the composition and properties of yogurts obtained.

Surowiec do produkcji jogurtu Raw material to produce yogurt	Ocena jogurtu / Evaluation of yogurt				
	Zawartość Content of		Kwasowość Acidity pH	Redukcyjność roztworu Reductivity of solution ml 0,1N KMnO ₄	Ocena sensoryczna Sensory assessment
	s.m. dry matter [%]	białka protein [%]			
Mleko + mleko w proszku Powdered milk	18,5	3,75	4,92	15,1	k*-jednolita, ciągliwa s*-jednolity, bez ocieku serwatki, połysk porcelanowy b*-biała, lekko kremowa z*-typowy, jogurtowy, przyjemny o*-lekko kwaśny, przyjemny, dobry
Mleko + mleko w proszku+ koncentrat GOS Milk + powdered milk+ GOS concentrate	18,27	3,63	4,84	18,6	k*-rwąca, krótka s*-lekki podciek serwatki b*-lekko kremowa z*-typowy, jogurtowy, przyjemny o*- słodko-kwaśny, bardzo dobry
Mleko + koncentrat GOS Milk + GOS concentrate	18,41	2,95	4,66	21,0	k*-krótka, ale dosyć lepka, ciągliwa s*-lekki podciek serwatki b*-lekko kremowa z*-typowy, jogurtowy, o*-słodki, lekko mdły, dobry

k*- konsystencja / consistency,

s*- skrzep / curd,

b*- barwa / colour,

z*- zapach / odour,

o*- smak / taste;

Tabela 3

Wpływ dodatku koncentratu GOS do mleka na populację bakterii fermentacji mlekowej w jogurcie.
The effect of GOS concentrate added to milk on the population of lactic acid bacteria in yogurt

Surowiec do produkcji jogurtu Raw material to produce yogurt	Czas dojrzewania Maturation time [h]	Temperatura dojrzewania Maturation temperature [°C]	Liczba drobnoustrojów Number of microorganisms [jtk/1 g jogurtu] [cfu/ 1 g of yogurt]	
			<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
Mleko+ mleko w proszku Milk+ powdered milk	3	42	$5 \cdot 10^7$	$7,8 \cdot 10^8$
	5	20	$7,2 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^9$
	9	4	$1,14 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^9$
Mleko+ mleko w proszku+ koncentrat GOS Milk + powdered milk + GOS concentrate	3	42	$6,9 \cdot 10^7$	$9,3 \cdot 10^8$
	5	20	$1,1 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^9$
	9	4	$1,5 \cdot 10^8$	$1,6 \cdot 10^9$
Mleko+ koncentrat GOS Milk + GOS concentrate	3	42	$9,7 \cdot 10^7$	$6,3 \cdot 10^9$
	5	20	$1,2 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^9$
	9	4	$1,6 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^{10}$

Wnioski

1. Sterując warunkami reakcji enzymatycznej hydrolizy laktozy takimi, jak: początkowe stężenie tego cukru, obecność białek oraz temperatura procesu można uzyskać hydrolizat o pożądanej zawartości GOS.
2. Dodatek koncentratu GOS wpływa stymulująco na rozwój bakterii z rodzajów *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* w jogurcie.
3. Proponowana technologia wydaje się być atrakcyjna. Jej upowszechnienie pozwoli na racjonalne, bezodpadowe zagospodarowanie odcieków po UF mleka lub serwatki, a jednocześnie sprzyjać będzie uatrakcyjnieniu asortymentu mleknych napojów fermentowanych.

Literatura

- [1] AOAC, Official Methods of Analysis, Lactose in Milk, 1990a, ed.15, 810.
- [2] AOAC, Official Methods of Analysis, Glucose in corn syrups and sugars, 1990b, ed. 15, 1042.
- [3] Budusławski J., Drabent Z.: Metody analizy żywności, WNT, Warszawa 1972.
- [4] Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: Mikrobiologia żywności, PZW, Warszawa 1983.
- [5] Crittenden R.G., Playne M.J.: Production, properties and application of food-grade oligosaccharides. Trends Food Sci. Technol., 1996, 7, 353-361.
- [6] Cruz R., Cruz V.A., Belote J.G., Khenayfes M.O., Dorta C., Oliveira L.H., Ardiles E., Galli A.: Production of transgalactosylated oligosaccharides (TOS) by galactosyltransferase activity from *Penicillium simplicissimum*. Bioresource Technol., 1999, 70, 165-171.

- [7] Delzenne N.M., Raberfroid M.R.: Physiological effects of non-digestible oligosaccharides. *Lebensm. – Wiss. u - Technol.* 1994, **27**, 1-6.
- [8] Foda M.I., Lopez-Leiva M.: Continuous production of oligosaccharides from whey using a membrane reactor. *Process Biochem.*, 2000, **35**, 581-587.
- [9] Iwasaki K., Nakajima M., Nakao S.: Galacto-oligosaccharide production from lactose by enzymatic batch reaction using β -galactosidase. *Process Biochem.*, 1996, **1 (1)**, 69-76.
- [10] La Ferla B., Lay L., Poletti L., Russo G., Panza L.: Easy chemo-enzymatic synthesis of human milk trisaccharides from a common selectively protected lactose building block. *J. Carbohydrate Chem.*, 2000, **19**, 331-343.
- [11] Li J., Cheng H.N., Nickol R.G., Wang P.G.: Enzymatic modification of hydroxyethylcellulose by transgalactosylation with β -galactosidase. *Carbohydrate Research*, 1999, **316**, 133-137.
- [12] Lowry O.M., Rosebrough N.J., Farr A. L., Randall R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, **193**, 265-269.
- [13] Perrin V., Fenet B., Praly J.-P., Lecroix F., Ta C.D.: Identification and synthesis of a trisaccharide produced from lactose by transgalactosylation. *Carbohydrate Research*, 2000, **325**, 202-210.
- [14] Petzelbauer I., Zeleny R., Reiter A., Kulbe K.D., Nietzky B.: Development of an ultra-high-temperature process for the enzymatic hydrolysis of lactose: II. Oligosaccharide formation by two thermostable β -glycosidases. *Biotechnol. Bioeng.*, 2000, **69, 2**, 140-149.
- [15] Praca zbiorowa: Instrukcje technologiczne do produkcji artykułów mleczarskich. Zakł. Wyd. CZSR, 180, s. 97-104.
- [16] Rustom I.Y.S., Foda M.I., Lopez-Leiva M.H.: Formation of oligosaccharides from whey UF-permeate by enzymatic hydrolysis - analysis of factors. *Food Chem.*, 1998, **62, 2**, 141-147.
- [17] Stahl E., Ashworth M.R.F.: *Thin-layer chromatography: a laboratory handbook*. 2nd Ed. Springer-Verlag, Berlin 1968, p. 9.

OLIGOSACCHARIDE-ENRICHED MILK PERMEATES AFTER ULTRAFILTRATION AND THEIR APPLICATION IN THE PRODUCTION OF YOGHURT

S u m m a r y

In this paper there are investigated conditions of the lactose hydrolysis and effective synthesis of galactooligosaccharides in permeate after the completed process of milk ultrafiltration with a β -galactosidase preparation added.

A galactooligosaccharide concentrate obtained was then used to produce yogurt. It was assessed what impact on the hydrolysis degree of lactose, as well as on the effectiveness of synthesis of galactooligosaccharides had the temperature & time of the reaction, further, the presence/absence of proteins in permeate solutions, and concentration levels of lactose in permeate at the beginning of the process. It was stated that if the process was conducted in an under-proteinized permeate with proteins containing 30% of lactose at 5°C during a period of 8 hours, the effectiveness of galactooligosaccharides synthesis was satisfactory. The concentrate of galactooligosaccharides was used to enrich dry matter contained in milk destined for the further production of yogurts.

It was stated that the addition of galactooligosaccharides stimulated the growth of bacteria belonging to the *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* species.

Key words: β -galactosidase, prebiotics, probiotics, and galactooligosaccharides. ☒

WANDA KUDEŁKA, MAŁGORZATA MARZEC

PREFERENCJE STUDENTÓW DOTYCZĄCE SPOŻYCIA MLECZNYCH NAPOJÓW FERMENTOWANYCH

Streszczenie

W pracy podjęto próbę analizy głównych czynników warunkujących konsumpcję mlecznych napojów fermentowanych oraz określenie konsumenckich preferencji uwzględniających wybrane cechy jakościowe i wyróżniki marketingowe tych napojów, na przykładzie populacji studentów Krakowa. Badania wykonano metodą ankietową wśród losowo wybranej grupy studentów.

Stwierdzono, że mleczne napoje fermentowane są powszechnie kupowane przez 87,8% badanej populacji studentów, przy czym ponad połowa respondentów nabywa te produkty częściej niż raz w tygodniu. Częstotliwość zakupu napojów zależy od płci i dochodów respondentów, nie jest natomiast determinowana wykształceniem, wiekiem ani miejscem zamieszkania.

W hierarchii czynników decydujących o zakupie mlecznych napojów fermentowanych najważniejsze okazały się: trwałość (51%) oraz wartość odżywcza (37%). Zaufanie do producenta odgrywa w tej hierarchii umiarkowane znaczenie. Aż 93% respondentów usytuowało opakowanie na najniższym miejscu w hierarchii, co wskazuje na przyzwyczajenie do dobrej jakości opakowań występujących na rynku.

Czynniki marketingowe typu: znak firmowy oraz reklama mlecznych napojów fermentowanych mogłyby wpływać na decyzję zakupu tych produktów przez studentów, o ile wystąpiłby czynnik nowości produktu, wyrób będzie się charakteryzował wysoką jakością, a w reklamie i w akcjach promocyjnych, kierowanych do tego segmentu konsumentów, zdrowotność (w tym trwałość i wartość odżywcza) będzie wyeksponowana na pierwszym miejscu.

Słowa kluczowe: mleczne napoje fermentowane, preferencje konsumenckie, struktura czynników.

Wprowadzenie

Dynamiczny rozwój polskiego rynku mlecznych napojów fermentowanych obserwuje się od początku lat 90. XX w. Z jednej strony wynika on ze zmian strukturalnych tego rynku, obejmujących przekształcenia własnościowe w polskich przedsiębiorstwach, pojawienie się dużych firm zagranicznych tej branży oraz

uaktywnienie się konkurencji między zakładami przetwórczymi. Z drugiej zaś związany jest on z postępem wiedzy na temat roli składników funkcjonalnych i układu mikroflory jelitowej w zachowaniu zdrowia człowieka.

Mleczne napoje fermentowane są wyrobami o udokumentowanej wartości odżywczej i zdrowotnej [3, 4, 8, 13, 14, 21, 25]. Produkty te zawierają bakterie kwasu mlekowego (LAB), wśród których największe zainteresowanie badaczy wzbudzają w ostatnich latach niektóre szczepy jelitowe z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, zwane bakteriami probiotycznymi. Dodane do żywności w odpowiednich ilościach korzystnie, a zarazem wielokierunkowo stymulują i poprawiają funkcjonowanie organizmu gospodarza [6, 13, 14].

Tradycyjne mleczne napoje fermentowane charakteryzują się lekko kwaśnym, orzeźwiającym smakiem i przyjemnym zapachem. Produkty fermentowane bakteriami jelitowymi mają inny smak, są mało kwaśne i o niezdecydowanym aromacie. Takie cechy sensoryczne mogą być nieakceptowane przez konsumentów. W związku z tym producenci stosują różne zabiegi, aby uatrakcyjnić walory sensoryczne napojów mlecznych nowej generacji. W tym celu do fermentacji stosowane są bakterie jelitowe łącznie z tradycyjnymi szczepami, bądź smak korygowany jest przez dosładzanie, dodatek soków owocowych, ziół, aromatów, jak również zwiększanie zawartości suchej masy mleka w napoju. W najnowszych produktach fermentowanych stosuje się dodatek tzw. sacharydów prebiotycznych, selektywnie wspomagających rozwój bifidobakterii w przewodzie pokarmowym, a także poprawiających teksturę tych mlecznych napojów [6, 14]. Obecnie, także tradycyjne mleczne napoje fermentowane, np. jogurt, kefir czy maślanekę, uatrakcyjniamy się w podobny sposób, a ponadto przez dodatek owoców, ziaren zbóż, kakao lub bakalii [6, 19].

Pomimo występowania dużej różnorodności mlecznych napojów fermentowanych na rynku, ciągle istnieją możliwości rozwoju tego segmentu branży mleczarskiej. Produkty te odpowiadają bowiem potrzebom profilaktyki zdrowotnej, stąd cieszą się dużym popytem wśród konsumentów, którzy coraz częściej chcą spożywać żywność korzystną dla zdrowia. Uczestnictwo w rynku, a tym bardziej świadome jego kształtowanie wymaga od producentów branży mleczarskiej ciągłego dostosowywania jakości mlecznych napojów fermentowanych do wymagań konsumentów. Pomoc w tym może poznanie zachowań i postaw wpływających na decyzję zakupu, czyli preferencji konsumentów.

Najogólniej preferencje można określić jako subiektywne reakcje polegające na wyborze jednego produktu spośród dwu lub wielu, w warunkach możliwości dokonania tego wyboru. Preferencje odnoszone są więc do opinii konsumenta o danym produkcie, określają relacje między postawami wobec przedmiotów tej samej kategorii, np. wobec znaków firmowych (marek) i stanowią swego rodzaju skale ocen [15].

Uwarunkowania kształtujące zachowanie konsumentów na rynku produktów mleczarskich były przedmiotem wielu badań [5, 9, 11, 15, 16, 17, 18, 20, 22, 23, 24]. Jednak decyzje podejmowane przez konsumentów nie mają charakteru stałego, dlatego badania rynkowe powinny być ponawiane. Informacje o tendencjach kierujących preferencjami konsumentkami są interesujące zarówno ze względów poznawczych, jak również mogą mieć istotne znaczenie podczas opracowywania nowych produktów oraz decydować o zastosowaniu skutecznych instrumentów marketingowych przez producentów i handlowców.

Celem podjętych badań była analiza czynników warunkujących konsumpcję mlecznych napojów fermentowanych oraz określenie konsumenckich preferencji uwzględniających wybrane cechy jakościowe i wyróżniki marketingowe tych napojów, na przykładzie populacji studentów Krakowa.

Materiał i metody badań

Badania wykonano metodą ankietową o charakterze anonimowym na terenie Krakowa w 2003 r. Wspólnym wyróżnikiem ankietowanych było kontynuowanie nauki na studiach dziennych lub zaocznych, na stopniu licencjackim lub magisterskim. Umożliwiło to rozszerzenie zakresu wiekowego badanej grupy. Wybór tego segmentu rynkowego podyktowany został informacjami, że jest to grupa w dużym stopniu kształtująca swoje preferencje pod wpływem wiedzy na temat zdrowotności napojów mlecznych [2, 20] oraz skłonna do kupowania nieznanymi produktami żywnościowymi [10, 23].

Ankieta składała się z dwóch części. Pierwsza zawierała pytania dotyczące częstości oraz czynników decydujących o zakupie mlecznych napojów fermentowanych. W tej części pytano respondentów także o preferencje dotyczące opakowań oraz o zaufanie do producenta (marki). Druga część ankiety obejmowała pytania socjoekonomiczne.

Łącznie zebrano informacje od 273 losowo wybranych respondentów (wśród których 34,8% stanowili mężczyźni, a 65,2% kobiety), mieszkających w miejscowościach o różnej liczbie mieszkańców (najwięcej – 33,6% w miastach do 100 tys. mieszkańców) i o różnym poziomie dochodów przypadających na jednego członka gospodarstwa domowego. Znaczna część ankietowanych (68,8%) to studenci mający nie więcej niż 25 lat, 31,2% to osoby w wieku powyżej 26 lat. Ponad połowę badanej populacji studentów (62,4%) stanowiły osoby, które miały wykształcenie wyższe zawodowe i kontynuowały naukę na studiach magisterskich (tab. 1).

Tabela 1

Charakterystyka badanej populacji studentów.
The profile of the student population under examination.

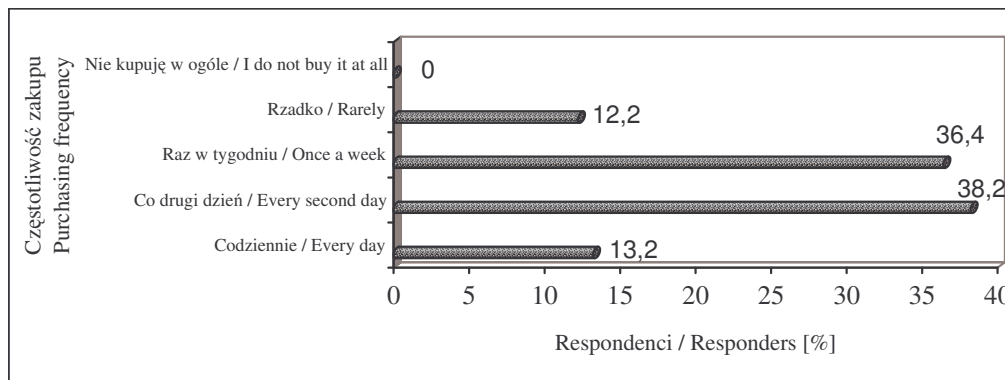
Czynnik segmentujący Factor of segmentation	Segment Segment	Respondenci Responders [%]
Płeć Sex	kobiety	65,2
	mężczyźni	34,8
Wiek Age	≤ 25 lat	68,8
	≥ 26 lat	31,2
Wykształcenie Education	średnie	37,6
	wyższe zawodowe	62,4
Miejsce zamieszkania Residence	wieś	28,9
	miasto do 100 tys. mieszkańców	33,6
	miasto 100-500 tys. mieszkańców	15,6
	miasto powyżej 500 tys. mieszkańców	21,9
Dochód na 1 osobę w gospodarstwie domowym Income per household	do 400 zł	3,7
	401-700 zł	26,0
	701-1000 zł	45,0
	powyżej 1001 zł	25,3

Źródło: badania własne.

Wyniki badań i dyskusja

Analiza postępowania konsumenta na rynku produktów żywnościowych objęła badanie częstotliwości zakupów i spożycia. Stwierdzono, że mleczne napoje fermentowane były powszechnie kupowane przez 87,8% badanej populacji studentów – 13,2% osób kupowało mleczne napoje fermentowane codziennie, 38,2% badanych co drugi dzień, a raz w tygodniu zakup deklarowało 36,4% respondentów (rys. 1). Udział respondentów w częstotliwości zakupów kształtował się odmiennie w badaniach Nieżurawskiego i Szczepańskiej [16], w których codzienny zakup deklarowało 18% respondentów, 32% kilka razy w tygodniu, a 16% raz w tygodniu. W niniejszych badaniach respondenci nie dokonywali jednak dużych zakupów. Najwięcej ankietowanych wskazywało na jednorazowy zakup dwóch opakowań jogurtu (64,5%

osób), jednego opakowania kefiru (22% osób) i jednego opakowania innych napojów mlecznych (13,5% osób).



Rys. 1. Częstotliwość zakupu mlecznych napojów fermentowanych.

Fig. 1. Purchasing frequency of fermented milk drinks.

Źródło: badania własne.

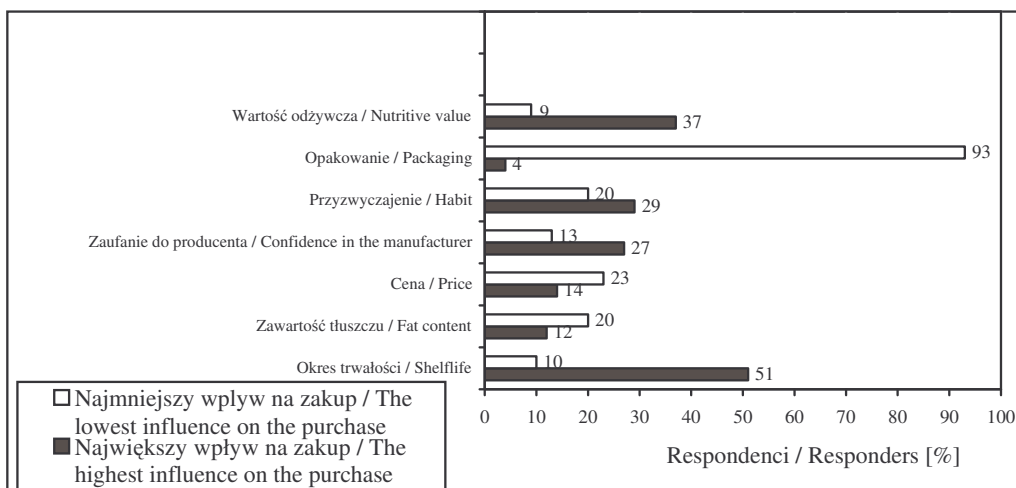
Częstotliwość zakupu mlecznych napojów fermentowanych zależała od wysokości dochodów badanych studentów. Im większym dochodem dysponowali oni, tym częściej deklarowali zakup tych produktów. Czynnikiem dochodowości miał także istotne znaczenie przy podejmowaniu decyzji o zakupie w badaniach Pieczonki i Skibińskiej-Buczek [20], dotyczących spożycia mlecznych napojów probiotycznych. Jednak w niniejszych badaniach odnotowano większą populację respondentów (12,2%) dokonujących zakupów badanych napojów rzadziej niż raz w tygodniu, podczas gdy w roku 2000 odsetek ten wynosił tylko 7,2% [20]. Może to wynikać ze spadku dochodów w gospodarstwach domowych, gdyż miejsce zamieszkania ani wiek nie miały wpływu na częstotliwość zakupu.

Wpływ płci na częstotliwość zakupów był zróżnicowany. Spośród badanej populacji studentek 21,3% kupowało mleczne napoje codziennie (a tylko 8,4% mężczyzn spośród populacji studentów), 36,5% co drugi dzień (30,5% mężczyzn), 32,0% raz w tygodniu (45,3% mężczyzn), a jeszcze rzadziej 10,1% (15,8% mężczyzn). Można więc stwierdzić, że zarówno studentki, jak i studenci dokonywali zakupów napojów mlecznych, lecz kobiety preferowały częstsze zakupy, natomiast prawie połowa mężczyzn opowiedziała się za odwiedzaniem placówek handlowych raz w tygodniu. Nieżurawski i Szczepańska [16] stwierdzili większe różnice w częstotliwości zakupu między kobietami a mężczyznami – z ich badań wynika, że codziennych zakupów dokonywało 26% kobiet, a tylko 4,2% mężczyzn. Uzyskany w badaniach duży odsetek mężczyzn (84,2%) dokonujących zakupów (w ciągu tygodnia lub raz na

tydzień) można tłumaczyć m.in. tym, że blisko 80% ankietowanej populacji (tab. 1) w czasie nauki przebywało poza miejscem stałego zamieszkania, więc samodzielnie musieli oni zadbać o swoje wyżywienie.

Niezależnie od dochodów prawie połowa respondentów (49,8%) planowała kupno mlecznych napojów fermentowanych.

W opinii respondentów największą popularnością wśród mlecznych napojów fermentowanych cieszył się jogurt. Wskazało na niego aż 89% ankietowanych, przy czym jogurty owocowe były kupowane i spożywane częściej niż jogurty naturalne. Rzadziej kupowano kefir (26,5%) i maślanka (13,2%). Najmniejsze uznanie wśród konsumentów zdobyło mleko acidofilne (tylko 2,8% wskazań), co uzasadnione jest jego mniej atrakcyjnymi, a tym samym mniej akceptowanymi cechami sensorycznymi [14]. Niektórzy respondenci, jako najczęściej kupowane, wskazywali 2 napoje równocześnie – kefir i jogurt. Według wyników badań dotyczących struktury spożycia, uzyskanych przez Górską-Warsewicz [5], po jogurty sięgało 75% ankietowanych, a po kefiry 19,8%.



Rys. 2. Hierarchia czynników mających wpływ na decyzje zakupu mlecznych napojów fermentowanych.

Fig. 2. The hierarchy of factors influencing purchasing decisions of fermented milk drinks.

Źródło: badania własne.

Z analizy odpowiedzi na pytanie „co ma największy, a co najmniejszy wpływ przy zakupie fermentowanych produktów mlecznych?” (ankietowani mieli uszeregować wymienione czynniki według malejącego znaczenia) wynika, że połowa respondentów (51%) umieściła trwałość na pierwszym miejscu w hierarchii czynników decydujących o zakupie tych mlecznych napojów (rys. 2). Wyroby mleczarskie

charakteryzują się krótkim okresem przydatności do spożycia, stąd też ważność tej cechy dla konsumentów potwierdzona została w niniejszych badaniach, a jest niezmienna od lat [20], przy czym w niektórych badaniach jest ona ujmowana jako termin przydatności do spożycia [24], w innych zaś zastępowana świeżością produktu [10, 16, 17, 18, 22]. Tam, gdzie analizowano zarówno świeżość, jak i trwałość [23], ta pierwsza cecha była dla ankietowanych ważniejsza.

Na drugim miejscu respondenci umieścili wartość odżywczą (37% wskazań), co także potwierdza wyniki innych badań, chociaż ważność tej cechy w dużej mierze zależy od wieku i wykształcenia [20, 22]. Jeszcze w 1999 roku czynnik ten był dla konsumentów niewiele znaczącą cechą [23].

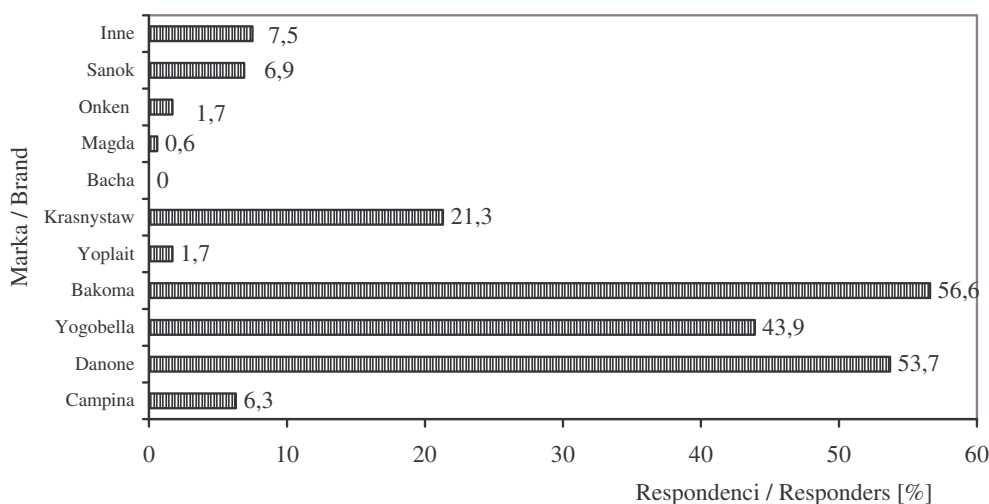
Wybór trwałości i wartości odżywczej, jako czynników w największym stopniu decydujących o zakupie mlecznych napojów fermentowanych, wydaje się zaskakujący w zestawieniu z niezbyt dużą wiedzą prawie połowy studentów (47,4%) i brakiem tej wiedzy (4,6%) na temat walorów odżywczych i zdrowotnych tych napojów. Spośród badanej populacji studentów tylko 2,9% określiło swoją wiedzę jako bardzo rozległą, a 45,1% jako dużą. Wiedza o produktach była większa wśród studentów z wyższym wykształceniem zawodowym (37,1%), a tym samym starszych (w grupie wiekowej powyżej 25 lat). Można więc stwierdzić, że duża grupa respondentów dokonała wyboru czynników krytycznych (w największym stopniu decydujących o preferencjach) na podstawie niepełnych, zasłyszanych informacji, a nie faktycznej wiedzy o produkcie. Potwierdzeniem tej tezy jest mała grupa respondentów (12%) zwracających uwagę na zawartość tłuszczu w analizowanych produktach.

Badania preferencji konsumenckich wskazują, że ważnym czynnikiem umożliwiającym różnicowanie produktów bardzo podobnych do siebie pod względem zawartości składników odżywczych są wrażenia sensoryczne, a dominującymi wrażenia smakowe [9, 10, 23]. Dla badanej populacji studentów przyzwyczajenie do rodzaju smaku mlecznych napojów fermentowanych było czynnikiem średnio ważnym (rys. 2), podczas gdy w badaniach Nieżurawskiego i Szczepańskiej [16] czynnik ten okazał się najważniejszy dla 57% respondentów. Jednak i w tym obszarze studenci mieli swoje preferencje. Spożywanie tych napojów z dodatkiem owoców zadeklarowało 70% ankietowanych. Mniejszym natomiast popytem cieszyły się napoje naturalne (25,4%), a tylko 4,6% kupowało obydwa rodzaje produktów. Zbliżone wyniki uzyskali Krajewski i wsp. [11], Górską-Warsewicz [5] oraz Szczepaniak i wsp. [22].

Nie bez znaczenia był rodzaj owoców użytych do modyfikacji smaku analizowanych napojów. Ankietowani mogli wskazać więcej niż jeden preferowany rodzaj smaku. Dominujący okazał się smak truskawkowy (51,0% wskazań), a w drugiej kolejności brzoskwiniowy (14,2% wskazań). Pozostałe rodzaje smaków cieszyły się wśród studentów mniejszym uznaniem: wiśniowy, jagodowy, malinowy, bananowy, morelowy, leśny, gruszkowy, jabłkowy, poziomkowy i wieloowocowy nie

przekroczyły 10% progę akceptacji, natomiast śliwkowy, maracuja, borówkowy, ananasowy i grapefruitowy nie uzyskały nawet 1% poziomu akceptacji. Podobnie odpowiadali respondenci w badaniach przeprowadzonych przez Szczepaniak i wsp.[22] oraz Górską-Warsewicz [5].

Zaufanie do znaku firmowego (marki) powinno być ważnym atutem przedsiębiorstwa zabiegającego o pozyskiwanie klientów w warunkach konkurencji na rynku. Marka gwarantuje bowiem, że produkt będzie miał określoną i zawsze identyczną jakość. Może ona przyczynić się do podjęcia decyzji zakupu [5, 16]. Jednak czynnik ten okazał się dla badanej grupy studentów charakterystyką średnio ważną (27% odpowiedzi) w podejmowaniu decyzji o zakupie mlecznych napojów fermentowanych (rys. 2). Z literatury przedmiotu wynika, że w 1995 r., w badaniach preferencji dotyczących szerokiej gamy produktów żywnościowych, ważność tego czynnika oscylowała wokół średniego znaczenia dla mieszkańców wsi i mało znaczącego dla mieszkańców Warszawy [10]. Średni i duży wpływ zaufania do marki na decyzje zakupu produktów mleczarskich deklarowali respondenci w roku 1999 [23], natomiast w roku 2001, przy decyzji zakupu mlecznych napojów probiotycznych ważność marki okazała się charakterystyką równie ważną jak trwałość i zdrowotność [20]. Studenci należą do grupy wiekowej, w której występuje skłonność do kupowania nieznanymi produktami żywnościowymi [10, 23], co może tłumaczyć mały stopień przyzwyczajenia do marki. Niemniej znaczna liczba ankietowanych studentów potrafiła wymienić producentów, których napoje kupuje najczęściej (rys. 3). Respondenci mogli wskazać więcej niż jednego producenta, stąd wartości nie sumują się do 100.



Rys. 3. Preferencje studentów dotyczące producentów mlecznych napojów fermentowanych.

Fig. 3. The students' preferences with regard to manufacturers of fermented milk drinks.

Źródło: badania własne.

O wyborze konkretnego producenta zdecydowała wysoka jakość jego produktów (64,7% wskazań) oraz przyzwyczajenie (32,3% wskazań). W dalszej kolejności znalazła się cena (20,2%) i dostępność w sprzedaży (16,7%). W tym przypadku respondenci mogli także zaznaczyć więcej niż jednego producenta.

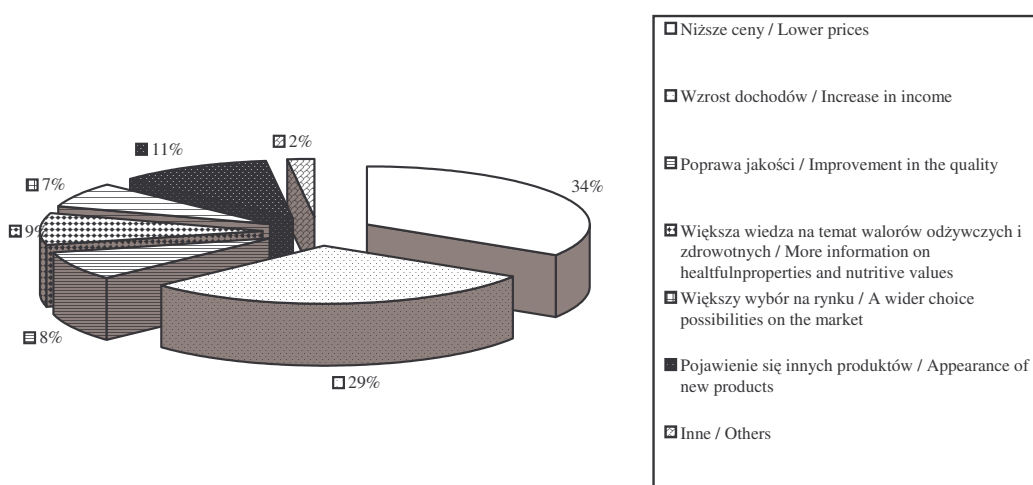
Zaufanie do producenta danego wyrobu budowane jest m.in. poprzez reklamę [12], dlatego zapytano studentów o wpływ oddziaływania tego instrumentu marketingowego na ich decyzje. Prawie 60% ankietowanych zadeklarowało, że reklama w małym stopniu wpływa na decyzję zakupu przez nich mlecznych napojów fermentowanych, natomiast dla 35,9% badanych reklama w ogóle nie ma znaczenia przy zakupie tych wyrobów. W większości były to osoby poniżej 25 roku życia, z wykształceniem wyższym zawodowym. Brak wpływu reklamy na decyzję zakupu deklarowały przede wszystkim osoby mieszkające w Krakowie. Tylko 4,6% ankietowanych wskazało na bardzo duże i duże oddziaływanie reklamy na decyzję zakupu. Uzyskane wyniki są zbieżne z rezultatami wielu badań o niewielkim wpływie reklamy na preferencje w zakresie żywności [1, 2, 10, 23]. Mleczne napoje fermentowane, jako produkty powszechnego spożycia, są kupowane niezależnie od tego, czy są reklamowane czy też nie. Potwierdza to wcześniejszą obserwację, że respondenci w swoich decyzjach zakupu kierują się przede wszystkim wysoką jakością napojów danej marki – na którą składa się m.in. trwałość i wartość odżywcza, a więc cechy wskazane jako najważniejsze dla badanej grupy studentów.

W hierarchii czynników, mających wpływ na decyzję zakupu mlecznych napojów fermentowanych, na ostatnich miejscach znalazły się: opakowanie, zawartość tłuszczu oraz cena – odsetek wskazań wyniósł odpowiednio 4, 12 i 14% (rys. 2).

Dla 93% respondentów opakowanie było czynnikiem najmniej ważnym, co potwierdza obserwacje Nieżurawskiego i Szczepańskiej [16]. Jednak w badaniach Świdy i Kulińskiego [24] respondenci zapytani o to, czy zwracają uwagę na opakowanie produktów mlecznych (odpowiedź mogła brzmieć „tak” lub „nie”), w 66,3% udzielili odpowiedzi twierdzącej. Nie można więc powiedzieć, że czynnik ten nie ma znaczenia dla konsumentów. Jednak w niniejszej pracy jego odległe miejsce w strukturze cech decydujących o wyborze napojów mlecznych przez studentów może wynikać z kontekstu wielu czynników, w jakim umieszczono to pytanie, jak również z przyzwyczajenia do wysokiego poziomu jakości obecnych opakowań. Konkurencja między producentami wymusza stosowanie opakowań z odpowiednich materiałów, o dużej funkcjonalności i estetyce wykonania. Opakowania te wydają się zaspokajać potrzeby populacji studentów, którzy w 75,7% odpowiedzi wskazali tworzywa sztuczne jako preferowany materiał opakowaniowy mlecznych napojów

fermentowanych, spełniający kryteria funkcjonalności (zabezpieczenie jakości produktu, niewielka masa materiału). Mniej popularne są natomiast opakowania kartonowe (24,2%), a tylko 8,6% chciałoby kupować te wyroby w opakowaniach szklanych. Powyższe opinie przeważają u osób mających mniej niż 25 lat i posiadających wykształcenie wyższe zawodowe.

O funkcjonalności opakowania decyduje także jego wielkość. W badaniach Świdry i Kulińskiego [24] czynnik ten miał bardzo duże i duże znaczenie dla około 70% konsumentów produktów mlecznych. W prezentowanej pracy uwzględniono opakowania o pojemnościach najczęściej występujących w handlu, a mianowicie: 150, 175, 250, 450, 1000 ml oraz inne. Studenci w 83,3% wskazań preferowali opakowania małe, o pojemności 150 - 250 ml. Na pierwsze trzy wielkości opakowań wskazało odpowiednio 39,4, 17,9 i 26% respondentów. Takich wyników można było oczekiwać, zważywszy na to, że ankietowanymi byli studenci, dla których ważne jest, aby wielkość opakowania jednostkowego była dostosowana do spożycia zawartego w nim napoju przez 1 osobę. Tylko 1,1% studentów preferowała inne, niewymienione w ankiecie wielkości opakowań. Uprawnione jest zatem stwierdzenie, że występujące na rynku wielkości opakowań mlecznych napojów fermentowanych w pełni odpowiadają preferencjom studentów.



Rys. 4. Czynniki warunkujące wzrost spożycia mlecznych napojów fermentowanych.

Fig. 4. The factors influencing increase in the consumption of fermented milk drinks.

Źródło: badania własne.

Cena wywierała największy wpływ na decyzję zakupu tylko 14% studentów, a 23% respondentów zadeklarowało jej najmniejszy udział w hierarchii czynników. Dla

pozostałych ankietowanych cena mlecznych napojów fermentowanych zdaje się mieć umiarkowane znaczenie. Znajduje to odzwierciedlenie w wynikach Pieczonki i Skibińskiej [20], że dla grupy wiekowej 19-35 lat cena produktu ma drugorzędne znaczenie w podejmowaniu decyzji o zakupie. Elementem decydującym o popycie jest w tym przypadku zdrowotność napojów mlecznych (trwałość i wartość odżywcza). Cecha ta często utożsamiana jest przez młodych ludzi ze stereotypem żywności ekologicznej, wśród której uczniowie i studenci najczęściej wymieniają jogurt i kefir [2]. Tak więc w reklamie i w akcjach promocyjnych kierowanych do tej grupy wiekowej czynnik zdrowotności mlecznych napojów fermentowanych powinien być eksponowany na pierwszym miejscu.

Kolejny ważny problem uwzględniony w ankiecie został zawarty w pytaniu „co mogłoby spowodować wzrost spożycia mlecznych napojów fermentowanych?” Mimo wcześniejszych deklaracji o niskiej pozycji ceny w hierarchii czynników warunkujących decyzję o zakupie, studenci na pierwszym miejscu postawili jednak czynnik ekonomiczny w postaci niższych cen na te wyroby (34%) lub wzrostu dochodów (29%) (rys. 4). Można więc powiedzieć, że przy obecnym poziomie spożycia mlecznych napojów fermentowanych, ceny tych produktów bilansowane są w dochodach studentów w takim stopniu, że stanowią dla nich czynnik drugorzędny przy zakupie. Równocześnie cena stanowi barierę zwiększenia popytu na te wyroby, zwłaszcza dla studentów o mniejszych dochodach. Czynnik nowości postawiono na trzecim miejscu – 11% ankietowanych kupowałoby więcej mlecznych napojów fermentowanych, gdyby w handlu pojawiły się nowe produkty tego typu. Taka postawa młodego konsumenta na rynku produktów żywnościowych została odnotowana także w innych badaniach [10, 23]. Niewielka grupa studentów (9%) przyznała, że mogłaby spożywać więcej napojów mlecznych pod warunkiem, że zwiększyłaby się ich wiedza na temat walorów zdrowotnych i odżywczych. Czynniki cenowo-dochodowe mają większe znaczenie dla osób o mniejszych dochodach, natomiast kwestie jakości, nowe produkty, większy wybór asortymentowy stanowiłyby czynniki motywujące do wzrostu spożycia osoby o wyższych dochodach.

Wnioski

1. Mleczne napoje fermentowane są powszechnie kupowane przez 87,8% studentów Krakowa, przy czym ponad połowa respondentów nabywa te napoje częściej niż raz w tygodniu, ale jednorazowy zakup danego sortymentu nie przekracza 2 opakowań. Częstotliwość zakupu tych produktów zależy od płci i dochodów respondentów, nie jest natomiast determinowana wykształceniem, wiekiem ani miejscem zamieszkania.
2. Największym popytem wśród studentów cieszy się jogurt (89% wskazań), w dalszej kolejności kefir i maślanka, a najmniejsze uznanie zdobyło mleko

- acidofilne. Znaczna część ankietowanych (70%) spożywa mleczne napoje owocowe, a najbardziej preferowanym rodzajem smaku jest truskawkowy.
3. W hierarchii czynników decydujących o zakupie mlecznych napojów fermentowanych najważniejsze okazały się: trwałość (51%) oraz wartość odżywcza (37%). Zaufanie do producenta odgrywa w tej hierarchii umiarkowane znaczenie. Aż 93% respondentów przypisało opakowaniu najniższe miejsce w utworzonej hierarchii, co wskazuje na przyzwyczajenie do dobrej jakości opakowań występujących na rynku.
 4. Czynniki marketingowe typu: znak firmowy (marka) oraz reklama mlecznych napojów fermentowanych mogłyby wpływać na decyzję zakupu tych produktów przez studentów, o ile wystąpiłby czynnik nowości produktu, wyrób będzie się charakteryzował wysoką jakością, a w reklamie i w akcjach promocyjnych kierowanych do tego segmentu konsumentów zdrowotność (w tym trwałość i wartość odżywcza) będzie wyeksponowana na pierwszym miejscu.
 5. Wobec niewielkiej wiedzy ponad połowy badanej populacji studentów nt. walorów zdrowotnych mlecznych napojów fermentowanych działalność marketingowa skierowana do tej grupy powinna mieć charakter zdecydowanie edukacyjny, a nie hasłowy (sloganowy).
 6. Przy obecnym poziomie spożycia mlecznych napojów fermentowanych, ceny tych produktów bilansowane są w dochodach studentów w takim stopniu, że stanowią dla nich czynnik drugorzędny przy zakupie. Równocześnie cena stanowi barierę zwiększenia popytu na te wyroby, zwłaszcza dla studentów o mniejszych dochodach.

Literatura

- [1] Babicz-Zielińska E., Przybyłowski P., Wilczyńska A.: Badania preferencji żywności wygodnej w środowisku młodzieży akademickiej. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1998, **2** (15), 5.
- [2] Cichocka I., Pieczonka W.: Ekokonsumpcja i niektóre jej uwarunkowania wśród młodzieży szkolnej i akademickiej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **3** (28), 108-125.
- [3] Defecińska A., Libudzisz Z.: Bakterie fermentacji mlekowej – wpływ na funkcje życiowe człowieka. *Przegl. Mlecz.*, 2000, **8**, 247-251.
- [4] De Vuyst L.: Hamujące działanie probiotycznych bakterii kwasu mlekowego. W: *Probiotyki*. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2002, s. 23-27.
- [5] Górska-Warsewicz H.: Konsument na rynku napojów mlecznych bio. *Przem. Spoż.* 2000, **5**, 32.
- [6] Jędrzejczak H., Hoffmann M.: Mleko na zdrowie. *Przegl. Gastr.*, 1999, **5**, 4-5.
- [7] Kneifel W.: Opracowywanie nowych produktów a kryteria jakościowe pre-, pro-, i synbiotyków. W: *Probiotyki*. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2002, s. 55-56.
- [8] Kornacki K., Maciejka A., Kłębukowska L.: Oddziaływanie bakterii fermentacji mlekowej na funkcje życiowe i zdrowie człowieka. *Przem. Spoż.*, 1997, **5**, 45-46.

- [9] Kowrygo B., Zbrzeźna I.: Ocena preferencji konsumenckich w zakresie spożycia mleka i przetworów mlecznych. *Przegl. Mlecz.* 1994, **3**, 73-76.
- [10] Kowrygo B., Górską-Warsewicz H., Ługowska K.: Ocena preferencji konsumenckich w zakresie żywności i żywienia. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1997, **2 (11)**, 51-60.
- [11] Krajewski K., Świątkowska M., Górską-Warsewicz H.: Czynniki kształtujące zachowania konsumentów na rynku jogurtów w Polsce. *Przegl. Mlecz.*, 1999, **5**, 154.
- [12] Kwarciak B.: Co trzeba wiedzieć o reklamie. Wyd. Profesjonalnej Szkoły Biznesu, Kraków 1997.
- [13] Libudzisz Z.: Mikroflora jelitowa a nowe generacje mlecznych napojów fermentowanych. *Żyw. Człow. Metab.*, 1999, **Supl.**, 26.
- [14] Libudzisz Z.: Mikrobiologiczne i technologiczne aspekty probiotyków. W: *Probiotyki*. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2002, s. 11-22.
- [15] Nieżurawska M.: Jakość żywności a preferencje konsumentów. *Przem. Spoż.*, 2001, **12**, 32-34.
- [16] Nieżurawski L., Szczepańska E.: Preferencje klientów na rynku wybranych produktów mleczarskich. *Przegl. Mlecz.*, 2001, **4**, 10.
- [17] Pieczonka W., Świda J.: Czynniki kształtujące popyt mieszkańców miast Polski południowo-wschodniej na mleko i przetwory mleczne. *Handel Wew.* 1995, **5-6**, 52-54.
- [18] Pieczonka W., Świda J.: Wpływ czynników socjo-ekonomicznych na preferencje konsumentów Polski południowo-wschodniej w zakresie produktów mlecznych. *Przegl. Mlecz.* 1996, **3**, 69.
- [19] Pieczonka W.: *Towaroznawstwo mleka*. Wyd. AR. Rzeszów 1999.
- [20] Pieczonka W., Skibińska-Buczek J.: Próba segmentacji rynku pod względem popytu i struktury cech jakościowych mlecznych napojów probiotycznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **1(26)**, 117-126.
- [21] Strus M., Heczko P.: Zdrowotne oddziaływanie probiotyków. W: *Probiotyki*. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2002, s. 33-42.
- [22] Szczepaniak B., Górecka D., Kaliska E.: Czynniki kształtujące zachowania konsumenckie w zakresie spożycia jogurtów. *Przegl. Mlecz.*, 2001, **7**, 287.
- [23] Świda J., Sikora T.: Model zachowania konsumenta na rynku produktów mleczarskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **4 (21)**, 152-162.
- [24] Świda J., Kuliński A.: Opakowania produktów mleczarskich w opinii konsumentów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **3 (32)**, 112-122.
- [25] Ziajka S.: *Mleczarstwo. Zagadnienia wybrane*, Wyd. ART, Olsztyn 1997.

THE STUDENTS' PREFERENCES FOR CONSUMING FERMENTED MILK DRINKS

S u m m a r y

In this study, it was attempted to analyze main factors determining consumption of fermented milk drinks and to identify consumers' preferences for some selected quality properties and marketing characteristics of those drinks. The study was based on a population of the students in Cracow; their representatives were randomly selected, and, then, polled using standard questionnaires.

It was stated that fermented milk drinks were commonly purchased by 87,8% of the students polled, and over a half of them bought those drinks more often than once a week. The purchasing frequency of fermented milk drinks depends on the sex and income of the respondents, and it is not determined by education, age, nor by place of residence..

As for the hierarchy of factors deciding on the fermented drink purchasing, the shelf life (51%) and nutritional value (37%) appear to be the most important. Confidence in the manufacturer plays only a moderate role if compared with other factors. As much as 93% respondents place packaging at the lowest place of the factors' hierarchy, and it is the evidence that consumers are used to a good quality of drinks packaging present on the market.

Marketing factors such as trademark and adverts promoting fermented milk drinks could impact the student's decision to purchase them, provided the following requirements are met: a product is regarded a novelty on the market, it shows a really high quality, and its healthful properties (including its enhancing shelf life and nutritive value) are stressed in the first place in adverts and promotional actions addressed to this particular consumers' segment.

Key words: fermented milk drinks, consumers' preferences, structure of factors. ☒

AGNIESZKA WOJTYŚ, TOMASZ JANKOWSKI

**WPŁYW TEMPERATURY NA SZYBKOŚĆ PRZENIKANIA
WYBRANYCH OLEJKÓW ETERYCZNYCH DO KOMÓREK
DROŻDŻY PIEKARSKICH**

Streszczenie

Zbadano wpływ temperatury na zjawisko przenikania olejków eterycznych, pomarańczowego i miętowego, do komórek drożdży piekarskich. Olejki mieszano z zawiesiną wodną świeżych drożdży i wytrząsano w temp. 25, 40, 50 i 70°C w różnym czasie. Po odwirowaniu i przemyciu osadu komórkowego wodą destylowaną preparat suszono metodą liofilizacji. Ilość zakapsułkowanego olejku oznaczano za pomocą chromatografii gazowej po uwodnieniu drożdży i ekstrakcji olejku etanolem. Hydrofobowe olejki eteryczne przenikały do komórek na zasadzie biernej dyfuzji w błonie komórkowej i pozostawały w komórkach po ich wysuszeniu. Szybkość dyfuzji olejków do komórek wzrastała ze wzrostem temperatury i była większa w przypadku olejku miętowego. Maksymalna zawartość olejku pomarańczowego w suchych komórkach drożdży wynosiła 24% s.s. natomiast olejku miętowego 43% s.s. i nie zależała od temperatury procesu kapsułkowania.

Słowa kluczowe: olejek pomarańczowy, olejek miętowy, kapsułkowanie aromatów, *Saccharomyces cerevisiae*.

Wstęp

Zainteresowanie przemysłu spożywczego aromatami w postaci mikrokapsułkowanej wynika z ich zwiększonej trwałości i ułatwionego stosowania w produktach sproszkowanych. Po procesie kapsułkowania ciekłe aromaty spożywcze są bardziej odporne na utlenianie i chronione przed dostępem światła. Sproszkowana forma aromatów umożliwia ich równomierne i łatwe rozproszenie w suchych mieszankach ciast cukierniczych, napojów instant, zbożowych przetworów śniadaniowych i różnych przekąskach [10].

Aromaty spożywcze w postaci olejków eterycznych są na skalę przemysłową najczęściej mikrokapsułkowane metodami suszenia rozpyłowego i ekstruzji [1, 8]. W pierwszej metodzie olejek zapachowy jest emulgowany w roztworze wodnym materiałów tworzących ściankę mikrokapsułek (maltodekstryny, guma akacjowa, syropy glukozowe i niektóre skrobie modyfikowane), a powstała emulsja suszona rozpyłowo. Zawartość olejku zapachowego w mikrokapsułkach suszonych rozpyłowo zwykle nie przekracza 20–25% ich suchej masy, a wadą jest naturalna obecność olejku na powierzchni [1, 19]. Mikrokapsułkowanie metodą ekstruzji polega na rozproszeniu olejku zapachowego w gorącej mieszaninie sacharozy, maltodekstryn i syropu glukozowego i wtłaczaniu powstałej emulsji do zimnego izopropanolu przez zespół dysz o niewielkiej średnicy. Zawartość olejku zapachowego w powstałych granulkach wynosi 8–20% zaś trwałość preparatu jest znacznie większa i wynosi ok. 2 lata [8, 21]. Inne techniki stosowane jak dotąd w małej skali, ale mające potencjalne zastosowanie przemysłowe w mikrokapsułkowaniu aromatów, to koacerwacja, inkluzja molekularna w β -cyklodekstrynach, otoczkowanie tłuszczem i współkryształizacja [12] oraz kapsułkowanie w preparowanych ziarenkach skrobi [13].

W ostatnich latach zainteresowanie nauki i przemysłu jest skierowane na możliwość wykorzystania materiałów biologicznych o strukturach komórkowych, jako naturalnych pojemników różnych substancji o charakterze związków zapachowych, barwników, środków farmakologicznych i insektycydów [17]. Wykazano na przykład, że w ludzkich erytrocytach można, po odpowiedniej obróbce, skutecznie zakapsułkować aktywne związki farmakologiczne w celu ich kontrolowanego uwalniania w organizmie człowieka [15]. Funkcję mikropojemników substancji niskocząsteczkowych mogą także spełniać pyłki roślinne dostępne w dużych ilościach, np. brzozy i sosny [9]. Wykazano także, że olejki aromatyczne mogą w znaczących ilościach wnikać do komórek drożdży [2]. Zjawisko to umożliwia, jak się wydaje, łatwe i wydajne mikrokapsułkowanie aromatów spożywczych w postaci olejków eterycznych w komórkach drożdży piekarskich lub browarniczych, tanich i dostępnych w dużej ilości. Po utrwaleniu, olejki zapachowe zakapsułkowane w komórkach drożdży mogą stanowić dodatek do ciast, nadzień cukierniczych, deserów i innych artykułów żywnościowych, a także znaleźć zastosowanie w innych branżach przemysłu, np. w produktach chemii gospodarczej.

Celem niniejszej pracy było zbadanie zjawiska dyfuzji wybranych olejków zapachowych do komórek drożdży piekarskich. Zakres badań obejmował analizę wpływu temperatury na szybkość przenikania olejków przez ściany komórek i określenie wydajności kapsułkowania.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły handlowe drożdże piekarskie (30% s.s., ZPD Wołczyn) oraz dwa terpenowe olejki eteryczne: pomarańczowy (gęstość $d_4^{15} = 0,849$ g/ml; skręcalność optyczna $\alpha_D^{15} = +99,35^\circ$; indeks refrakcji $n_{20} = 1,474$) i miętowy (gęstość $d_4^{15} = 0,900$ g/ml; skręcalność optyczna $\alpha_D^{15} = -17,18^\circ$; indeks refrakcji $n_{20} = 1,461$), produkcji firmy Misitano & Stracuzzi (Messyna, Włochy). Inne użyte odczynniki o czystości analitycznej pochodziły z firmy Sigma Chemicals Ltd.

Badania procesu transportu olejków eterycznych do komórek drożdży wykonano w temp. 25, 40, 50 i 70°C. W kolbach Erlenmeyera o pojemności 100 ml umieszczano 50 ml wody destylowanej i 10 g świeżych drożdży, mieszano do uzyskania jednolitej zawiesiny, a następnie dodawano 10 ml olejku. Zawiesinę wytrząsano w łaźni wodnej w odpowiedniej temperaturze przy liczbie skoków 120. min⁻¹.

W celu zbadania szybkości przenikania olejku do komórek drożdży, po ustalonych odstępach czasu pobierano próby (5 ml), wirowano (2000 × g, 10 min) i oddzielano osad komórek drożdży od supernatantu (mieszanina niewchłoniętego olejku i wody). Osad przemywano wodą destylowaną powtarzając procedurę płukania i wirowania trzykrotnie, a następnie suszono sublimacyjnie (zamrażanie -30°C, 4 h; suszenie 20°C, 65 Pa) w ciągu 24 h.

Zawartość olejku w komórkach drożdży określano metodą chromatografii gazowej. W tym celu naważkę suchych drożdży (0,15 g) ponownie mieszano z wodą destylowaną (1 ml), a następnie ekstrahowano 96% etanolem połączonym ze standardem wewnętrznym (2-nonanon, 4 mg/ml), mieszano (vortex, 30 s) i filtrowano (0,45 μm); 1 μl filtratu wprowadzano do kolumny chromatografu gazowego HP 5890 (Hewlett Packard, Avondale, USA), (kolumna HP1 ze związaną metylovaną gumą silikonową – 0,25 μm, 30 m × 0,53 mm; FID 260°C; gaz nośny hel – 5 ml/min; split 1:25; temp. inżektora 240°C; temp. kolumny 35–200°C, przyrost temp. 5°C/min w przypadku olejku miętowego i 8°C/min w przypadku olejku pomarańczowego). Procentową zawartość olejku obliczano na podstawie powierzchni pików jego podstawowych składników z poniższego równania [22], odnosząc otrzymane wartości liczbowe do suchej masy drożdży.

$$C[\%mas_i] = \frac{G_w \times A_i \times f_i}{G_p \times A_w} \times 100$$

G_w – masa wzorca dodanego do próbki,

G_p – masa próbki,

A_i – powierzchnia pików oznaczanego składnika,

A_w – powierzchnia pików wzorca,

f_i – współczynnik korekcyjny oznaczanego składnika.

Analizę wykonano w trzech powtórzeniach. Wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji, a wnioskowanie statystyczne przeprowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Olejki eteryczne ekstrahowane z różnych roślin wykazują zróżnicowane działanie przeciwdrobnoustrojowe względem wielu szczepów bakterii i drożdży przy stężeniu mniejszym niż 0,5% (v/v) [5, 11]. Uważa się, że terpenowe składniki olejków wnikają do błony komórkowej powodując jej modyfikację prowadzącą do zaniku zdolności transportowych białek, a w konsekwencji do zakłócenia bilansu osmotycznego komórki i utratę jej żywotności [6].

W niniejszej pracy komórki drożdży umieszczano w 20% (v/v) wodnej zawiesinie olejku eterycznego i po 2 h inkubacji nie stwierdzono obecności żywych komórek. Zanik żywotności komórek nie wstrzymywał jednak procesu wnikania olejków do ich wnętrza i w rezultacie wydajność kapsułkowania była większa od średniej wydajności uzyskiwanej innymi metodami. Na rys. 1. przedstawiono zmiany zawartości olejku pomarańczowego, a na rys. 2. olejku miętowego w komórkach drożdży piekarskich w czasie, w różnej temperaturze. Wnikanie olejków do drożdży charakteryzowały dwie fazy procesu. Pierwsza, w której zawartość olejku w czasie rosła prostoliniowo oraz druga, związana z ustalaniem się stanu równowagi. W doświadczeniach stwierdzono także, że równowagowa (maksymalna) zawartość tego samego olejku w drożdżach była podobna w każdej temperaturze procesu, a jednocześnie istotnie wyższa w przypadku olejku miętowego (tab. 1). Porównanie średnich zawartości olejku w poszczególnej temperaturze procesu wykazało brak różnic na poziomie istotności $p = 0,05$ w obrębie jednego rodzaju olejku oraz istotną różnicę pomiędzy zawartością olejku pomarańczowego i miętowego.

W celu zbadania wpływu temperatury na proces przenikania olejków do komórek drożdży, prostoliniowe odcinki wykresów opisano równaniami kinetyki reakcji rzędu zerowego typu [23]:

$$-dC/dt = k$$

gdzie: C – zawartość olejku w drożdżach, k – stała szybkości reakcji.

Stałe szybkości reakcji wykreślono względem odwrotności bezwzględnej temperatury zgodnie z równaniem Arrheniusa na rys. 3. i obliczono energię aktywacji procesu. Wartości liczbowe tej wielkości były zbliżone w przypadku obu badanych olejków (tab. 1), co wskazuje na ten sam mechanizm transportu w procesie przenikania olejków do komórek.

BARBARA BARANIAK, MAŁGORZATA NIEZABITOWSKA,
HELENA PORZUCEK

ZAWARTOŚĆ BIAŁKA OGÓŁEM, INHIBITORÓW TRYPSYNY I STACHIOZY W PREPARATACH BIAŁKOWYCH UZYSKIWANYCH Z MĄKI GROCHU ZA POMOCĄ RÓŻNYCH METOD KOAGULACJI

Streszczenie

Porównano zawartość wybranych składników (białko, kwasy tłuszczowe, stachioza, aktywność inhibitora tripsyny) w preparatach otrzymanych z różnych odmian grochu (Koral, Poa, Ramir i Piast) w wyniku wytrącenia białek w ich punkcie izoelektrycznym. Badano przydatność polielektrolitów Magnafloc M-22S o charakterze kationowym i Superfloc A-150 o charakterze anionowym w procesie koagulacji preparatów z grochu odmiany Piast. Preparaty białkowe otrzymywano również z mąki, w której białka poddano wcześniej chemicznej modyfikacji: acetylowaniu i sukcynyłowaniu. Zawartość analizowanych składników w preparatach zależała w znacznym stopniu od odmiany grochu. Preparaty wytrącone w obecności polielektrolitów miały więcej kwasów tłuszczowych od preparatu otrzymanego za pomocą kwasu. Zastosowanie wielkocząsteczkowych polielektrolitów znacznie zwiększyło zawartość białka w preparatach otrzymanych po chemicznej modyfikacji w porównaniu z preparatami flokulowanymi bez modyfikacji białek.

Słowa kluczowe: groch, preparaty białkowe, metody koagulacji, białko, inhibitory tripsyny, stachioza.

Wstęp

Preparaty białkowe z soi produkowane są w Stanach Zjednoczonych i krajach Europy Zachodniej od wielu lat na skalę przemysłową. Od kilkunastu lat prowadzone są również prace związane z wykorzystaniem do tego celu, jako surowca, nasion fasoli, grochu i łubinu. W krajach azjatyckich i na południu Europy badana jest przydatność nasion roślin paszowych, takich jak ciecierzycza czy groch polny. Otrzymywane

Prof. dr hab. B. Baraniak, Katedra Biochemii i Chemii Żywności, dr M. Niezabitowska, Katedra Chemii, Akademia Rolnicza, ul. Akademicka 15, 20-934 Lublin; dr hab. H. Porzucek, prof. SGGW, Katedra Technologii i Oceny Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa

koncentraty i izolaty często dorównują, a w niektórych przypadkach nawet przewyższają właściwościami preparaty sojowe.

W Polsce warunki klimatyczne sprzyjają uprawie grochu, fasoli i łubinu. Nasiona tych roślin rozważane są jako surowiec do wytwarzania preparatów białkowych. Najczęściej stosowana metoda otrzymywania koncentratów i izolatów polega na alkalicznej ekstrakcji białek ze zmielonego surowca i ich koagulacji w punkcie izoelektrycznym. Proces otrzymywania preparatów białkowych z zielonych części roślin polega na koagulacji (termicznej lub kwasowej) białek zawartych w soku wyłoczonym z biomasy roślinnej. W procesie precypitacji białek mogą być również wykorzystane polielektrolity. Polielektrolity stosowane w praktyce jako flokulanty, to rozpuszczalne w wodzie poliakryloamidy, polifosforany i chemicznie modyfikowane polimery pochodzenia naturalnego, takie jak: żelatyny, alginiany, karageniany, chitosan, jak również pochodne skrobi i celulozy. Można je podzielić na kationowe, anionowe i niejonowe w zależności od charakteru chemicznego grup funkcyjnych, rozmieszczonych wzdłuż łańcucha. Spośród syntetycznych polimerów najczęściej stosowane są poliakryloamidy, uzyskiwane przez kopolimeryzację akryloamidu i akrylanu lub monomerów mających grupy anionowe. Flokulanty ulegają adsorpcji na powierzchni zdyspergowanych cząsteczek i powodują zmiany stabilności układów koloidalnych. Wzajemne oddziaływania najobszerniej tłumaczy teoria „mostkowania”, która zakłada dwu- lub kilkupunktową adsorpcję długich cząsteczek flokulanta, przez co powstają pętle bądź łańcuchy zlokalizowane już poza warstwą hydratacyjną koloidu [5]. Flokulacja następuje poprzez oddziaływania hydrofobowe, wiązania wodorowe lub przypadkowe szczipienie pętli łańcuchów flokulanta. Na powierzchniach obdarzonych przeciwnymi ładunkami proces adsorpcji flokulanta jest bardziej intensywny, przy czym przyjmują one płaską konfigurację. Zjawisko flokulacji w takim układzie można powodować zmianą kwasowości roztworu czy jego siły jonowej.

Praktyczne wykorzystanie procesu flokulacji znalazło najszersze zastosowanie w procesie oczyszczania wód odpadowych, pochodzących z wielu gałęzi przemysłowych i w technologii cukrownictwa. W procesach biotechnologicznych flokulanty znalazły zastosowanie do wydzielania szczątkowych komórek z homogenatów drożdży [27], w procesie zagęszczania komórek *Escherichia coli* [8], do kondensowania w roztworach wodnych molekuł DNA [26].

Najefektywniejsze w działaniu są flokulanty na bazie poliakryloamidu, które w krajach o zaostrożonych przepisach (również w Polsce) budziły zastrzeżenia z uwagi na zbyt wysoki poziom monomerów wolnego akryloamidu w gotowym produkcie. Produkowane obecnie flokulanty nowej generacji charakteryzuje bardzo niska zawartość szkodliwych monomerów [14, 21]. Należy nadmienić, że prowadzone są też intensywne badania nad uzyskaniem bioflokulantów. Szczepy bakterii *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. są zdolne produkować polimery kwasowych polisacharydów

zawierające neutralne cukry (glukozę, galaktozę, ksylozę) i kwas uronowy [9, 28]. Aktywność flokulacyjną *Kluyveromyces* sp. wzmacniają drożdże *Schizosaccharomyces pombe* 972h(-) [10], natomiast szczepy grzybów *Aspergillus* sp. JS-42 są zdolne produkować polimery kwasu uronowego, heksozoamin i neutralnych cukrów [20]. Polisacharydy wytwarzane przez *Klebsiella pneumoniae* H12 zostały wykorzystane w procesie flokulacji bakterii produkujących antybiotyki (*Pseudomonas fluorescens*) - wyizolowanych z gleby, a otrzymany preparat przejawiał bardzo korzystne działanie po zastosowaniu w uprawie roślin [19].

Celem podjętej pracy było określenie przydatności polielektrolitów Magnafloc M-22S o charakterze kationowym i Superfloc A-150 o charakterze anionowym w procesie koagulowania koncentratów białkowych z mąki grochu. Zakresem analiz objęto zawartość białka, stachiozy, kwasów tłuszczowych i aktywności inhibitora trypsyny w preparatach otrzymanych z mąki czterech odmian grochu i w preparatach otrzymanych z mąki po wcześniejszej chemicznej modyfikacji białek grochu.

Materiał i metody badań

Surowcem wyjściowym do badań były nasiona czterech odmian grochu: Koral, Poa, Ramir i Piast. Suche nasiona zmielono, a z otrzymanej mąki uzyskiwano preparaty białkowe.

Otrzymywanie preparatów białkowych niemodyfikowanych

Z mąki (500 g) prowadzono ekstrakcję białek 0,1M buforem Tris-HCl o pH = 9,2 w stosunku surowiec-bufor 1:10 (m/v) w ciągu 1 godz., przy użyciu mieszadła magnetycznego, w temp. 20°C. Po odwirowaniu (5500 x g; 15 min) z uzyskanego przesączu koagulowano białka kwasem solnym do osiągnięcia minimum rozpuszczalności (pH = 4,2). Z mąki grochu odmiany Piast dodatkowo aglomerowano koncentraty poprzez zastosowanie polielektrolitów. W tym przypadku do roztworu wyekstrahowanych białek dodawano flokulanta (o charakterze kationowym – Magnafloc M-22S lub anionowym – Superfloc A-150) w ilości 150 mg/dm³, a następnie obniżano pH kwasem solnym do wartości 4,2.

Roztwory flokulantów przygotowano zgodnie z zaleceniami producenta: naważki zwilżano 1-2 cm³ alkoholu etylowego i rozpuszczano w wodzie destylowanej.

Osady odwirowywano (5500 x g; 15 min), przemywano dwukrotnie wodą destylowaną, suszono poprzez wymrażanie, a zmielone preparaty przechowywano w temp. ok. 6°C.

Otrzymywanie preparatów białkowych modyfikowanych chemicznie

Białka mąki grochu modyfikowano bezwodnikiem kwasu octowego (acetylowanie) i bezwodnikiem kwasu bursztynowego (sukcynylowanie) w ilości po 0,2 cm³ każdego związku w przeliczeniu na 1g białka zawartego w mące. Proces prowadzono w trakcie ekstrakcji białek 0,1M buforem Tris-HCl o pH = 7,5 w stosunku 1:10. Modyfikacja trwała 1 godz. w temp. 20°C, przy pH = 7,5, którego wartość utrzymywano 30% roztworem NaOH.

Ekstrakty wirowano (5500 x g; 15 min), a z przesączu koagulowano preparaty 2M kwasem solnym, doprowadzając pH do wartości 3,6 lub flokulantem Magnafloc M-22S (150 mg/ dm³), obniżając kwasowość 2M HCl do pH = 3,6 oraz flokulantem Superfloc A-150 (150 mg/ dm³), obniżając kwasowość 2M HCl do pH = 3,6

Osady wirowano (5500 x g; 15 min), przemywano dwukrotnie wodą destylowaną, suszono przez wymrażanie, a zmielone preparaty przechowywano w temp. ok. 6°C.

Otrzymywanie preparatów powtórzono dwukrotnie. Zarówno preparaty, jak i mąkę grochu poddano dalszym badaniom.

Posługując się automatycznym zestawem „Kjel-Tec” oznaczano w preparatach białko ogółem (N x 6,25) oraz w preparatach otrzymanych z grochu odmiany Piast oznaczano białko nierozpuszczalne w 10% kwasie trichloooctowym (białko właściwe). Tłuszcz ekstrahowano heksanem w aparacie Soxtec HT-6, a skład kwasów tłuszczowych oznaczano metodą chromatografii gazowej (chromatograf firmy Unicam). Aktywność inhibitora trypsyny oznaczano wg Hamerstranda i wsp. [13]. Aktywność resztkową obliczano jako procentową pozostałość aktywności inhibitora w koncentracji białkowym, przyjmując aktywność w wyjściowej mące za 100%. W celu oznaczenia stachiozy naważkę preparatu (0,2 g) zawieszano w 1 cm³ wody destylowanej i wytrząsano przez 10 min w mikrowstrząsarce. Następnie dodawano 1 cm³ 100% acetonitrylu, mieszano i wirowano (10 000 obr./min; 20 min). Klarowny roztwór używano do oznaczeń. Identyfikację jakościową stachiozy określano metodą wzorca wewnętrznego (firmy Sigma). Rozdziały prowadzono w warunkach izokratycznych, stosując chromatograf cieczowy LC-5A firmy Laboratorni Pristroje Praha, w kolumnie SUPELCOSIL LC-NH₂ firmy SUPELCO (250 mm x 4,6 nm) z rejestratorem YT, typ TZ 4620. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina acetonitrylu i wody redestylowanej i dejonizowanej w stosunku 75:25 (v/v). Szybkość przepływu fazy ruchomej przez kolumnę wynosiła 1 ml/min. Zawartość stachiozy określano metodą wzorca zewnętrznego. Skład aminokwasowy białek oznaczano metodą chromatografii jonowymiennej w automatycznym analizatorze aminokwasów T339M, Mikrotechna Praha. Hydrolizę preparatów prowadzono 6M HCl po uprzednim utlenieniu aminokwasów siarkowych kwasem nadmanganowym.

Oznaczenia analityczne każdej próbki wykonano w dwóch powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Otrzymane preparaty różniły się zawartością białka, a decydowała o tym zarówno odmiana grochu, jak i metoda zastosowana do koagulacji białek (tab. 1).

Tabela 1

Zawartość białka ogółem, inhibitorów trypsyny i stachiozy w preparatach białkowych i w mące różnych odmian grochu.

The total content of protein, trypsin inhibitor, and stachyose in protein preparations and a flour of various pea varieties

Wyszczególnienie Specification		Białko (N x 6,25) [% s.m.] Total protein [% d.m.]	Inhibitor trypsyny [mg/100g białka] Trypsin inhibitor [mg/100g of protein]	Stachioza [mg/100g preparatu] Stachyose [mg/100g of preparation]
Koral	PK	84,7	9,9	0,35
	Mąka Flour	26,8	307,9	0,44
Poa	PK	85,6	11,0	0,20
	Mąka Flour	26,4	358,7	0,44
Ramir	PK	84,8	9,3	0,29
	Mąka Flour	24,9	400,4	0,44
Piast	PK	88,5	38,7	0,39
	PM	80,4	44,5	0,39
	PS	80,9	46,5	0,48
	Mąka Flour	21,0	388,4	0,63

Objaśnienia / Abbreviations:

PK – preparat wytrącony kwasem / a preparation coagulated using acid,

PM – preparat wytrącony polielektrolitem Magnafloc M-22S / a preparation coagulated using a 'Magnafloc M-22S' polyelectrolyte.

PS – preparat wytrącony polielektrolitem Superfloc A-150 / a preparation coagulated using a 'Superfloc A-150' polyelectrolyte.

Poziom białka w preparatach warunkowany jest wieloma czynnikami. Decyduje o tym zawartość białka w surowcu, która uzależniona jest przede wszystkim od gatunku rośliny [6, 11, 15, 23], obróbka wstępna surowca [17, 23, 25], jak i metoda zastosowana do wytrącania białek [2, 3, 18, 24]. Zastosowanie polielektrolitów, jako czynników współstrącających, nie wpłynęło dodatnio na zawartość białka w uzyskanych preparatach. Zanotowano nawet zmniejszenie zawartości o ok. 8%. Wartość ta była znacznie mniejsza od tej, którą stwierdzono w pracy Alamanou i wsp.

[2]. Cytowani autorzy wytrącając białka wyekstrahowane z nasion łubinu polimerem N-izopropylu akryloamidu z biakrylamidem metylu otrzymali preparat z ponad dwukrotnie niższym poziomem białka w stosunku do izolatu wytrąconego w punkcie izoelektrycznym, natomiast w preparacie uzyskanym poprzez ultrafiltrację i dializę spadek zawartości białka wyniósł odpowiednio 16 i ok. 9%.

Tabela 2

Zawartość białka i chemiczne wskaźniki preparatów białkowych otrzymanych kwasem i polielektrolitem Magnafloc M-22S z mąki grochu odmiany Piast.

The protein content in and chemical indexes of the protein preparations obtained from a 'Piast' pea flour variety using an acid and a 'Magnafloc M-22S' polyelectrolyte.

Metoda wytrącania białek Method of protein precipitation	Składnik Component					
	Białko ogółem [% s.m] Total protein [% d.m.]	Białko właściwe [% s.m.] True protein [% d.m.]	Białko właściwe [% ogółem] True protein [% of total]	EAAI	Aminokwas ograniczający Limiting amino-acid	CS
Kwas Acid	88,5	85,5	97	81	Met	42
M-22S	80,4	75,6	94	76	Met	41

Zastosowanie polielektrolitu Magnafloc M-22S w procesie otrzymywania preparatów białkowych z soku zielonych części roślin również zmniejsza poziom białka ogólnego i właściwego w otrzymanych koncentraty [4]. Wielkość tych zmian uzależniona jest od gatunku rośliny. Zastosowanie tego czynnika różnicuje także skład aminokwasowy białka. Jak wynika z danych w tab. 2., użycie flokulanta Magnafloc M-22S w procesie otrzymywania koncentratu z grochu odmiany Piast wpłynęło na obniżenie wartości wskaźnika aminokwasów egzogennych w porównaniu z preparatem otrzymanym za pomocą kwasu. Podobne zależności występują w przypadku preparatów otrzymanych z soku lucerny, natomiast koncentraty flokulowane z soku liści tytoniu i gryki charakteryzowały się wyższym poziomem aminokwasów egzogennych od preparatów wytrąconych kwasem. Tylko w przypadku tytoniu czynnik wytrącający białka spowodował zmianę aminokwasu ograniczającego [4]. Fakt, że skład aminokwasowy białka koncentratów uzależniony jest od gatunku rośliny i metod stosowanych zarówno w procesie ekstrakcji, jak i koagulacji preparatów znajduje potwierdzenie w badaniach innych autorów [3, 7, 11, 17, 23, 24].

Dużo lepsze efekty uzyskano stosując polielektrolity do wytrącania preparatów z mąki, której białka poddano procesowi chemicznej modyfikacji. Zablokowanie grup aktywnych aminokwasów poprzez acylowanie spotęgowało adsorpcję polielektrolitu na molekułach białkowych i zwiększyło efekt mostkowania. Tylko w przypadku

użycia bezwodnika kwasu bursztynowego łącznie z polielektrolitem Superfloc A-150 nie zwiększyła się zawartość białka w otrzymanym preparacie. Podobny efekt uzyskano stosując wytrącanie zmodyfikowanych chemicznie białek – z grochu odmiany Piast – w punkcie izoelektrycznym. W przypadku trzech pozostałych odmian grochu, po chemicznej modyfikacji białek (zarówno po acetylacji, jak i sukcylnylacji) zanotowano zmniejszenie zawartości białka ogółem w preparatach wytrączanych w punkcie izoelektrycznym (tab. 3).

Tabela 3

Zawartość białka ogółem, inhibitorów trypsyny i stachiozy w preparatach otrzymanych z mąki różnych odmian grochu po chemicznej modyfikacji białek.

The total content of protein, trypsin inhibitor, and stachyose in protein preparations obtained from flour of various pea variety after the protein chemical modification.

Wyszczególnienie Specification		Białko N x 6,25 [% s.m.] Total protein [% d.m.]	Inhibitor trypsyny [mg/100 g białka] Trypsin inhibitor [mg/100 g of protein]	Stachioza [mg/100 g preparatu] Stachyose [mg/100 g of preparation]
Koral	PKS	77,8	n.w	Nw
	PKA	82,4	n.w	Nw
Poa	PKS	75,3	n.w	Nw
	PKA	78,9	n.w	Nw
Ramir	PKS	76,1	n.w	Nw
	PKA	71,8	n.w	Ślady / Trace
Piast	PKS	81,1	10,4	0,72
	PKA	88,6	5,0	0,97
	PMS	88,6	54,6	0,72
	PMA	86,6	59,6	1,35
	PSS	80,1	70,3	0,72
	PSA	88,5	69,0	0,82

Objaśnienia / Abbreviations:

PKS – preparat wytrącony kwasem po procesie sukcylnylowania białek/an acid-coagulated preparation from a succinylated pea protein;

PKA – preparat wytrącony kwasem po procesie acetylowania białek/an acid-coagulated preparation from an acetylated pea protein;

PMS – preparat wytrącony polielektrolitem Magnafloc M-22S po procesie sukcylnylowania białek/a 'Magnafloc M 22S' polyelectrolyte-coagulated preparation from a succinylated pea protein;

PKA – preparat wytrącony polielektrolitem Magnafloc M-22S po procesie acetylowania białek/a 'Magnafloc M 22S' polyelectrolyte-coagulated preparation from an acetylated pea protein;

PSS – preparat wytrącony polielektrolitem Superfloc A-150 po procesie sukcylnylowania białek/a 'Superfloc A-150' polyelectrolyte-coagulated preparation from a succinylated pea protein;

PSA – preparat wytrącony polielektrolitem Superfloc A-150 po procesie acetylowania białek/a 'Superfloc A-150' polyelectrolyte-coagulated preparation from an acetylated pea protein.

W preparatach otrzymanych z tych odmian grochu po chemicznej modyfikacji białek nie stwierdzono również aktywności inhibitora trypsyny i obecności stachiozy (tab. 3). W preparatach wytrąconych kwasem z mąki grochu odmian Koral, Poa i Ramir, bez chemicznej modyfikacji białek, aktywność inhibitora trypsyny była również niższa niż w preparatach otrzymanych z grochu odmiany Piast (tab. 1). Natomiast w preparatach wytrączanych w obecności flokulantów, po chemicznej modyfikacji białek grochu Piast, aktywność inhibitorów trypsyny była wyższa od oznaczonej w preparatach flokulowanych z mąki bez wcześniejszej modyfikacji białek. Inhibitory trypsyny są związane z frakcją albumin, a ich aktywność wzrasta po oddzieleniu frakcji globulinowej, co potwierdzają badania Genovese i Lajolo [12]. Polielektrolity mogą wykazywać wobec chemicznie modyfikowanych albumin efekt ochronny – adsorbując się na molekułach białkowych zwiększają ich udział w otrzymanych preparatach.

Tabela 4

Zawartość kwasów tłuszczowych w tłuszczu preparatów białkowych otrzymanych z różnych odmian grochu.

The fatty acids content of the protein preparations fat concentrates obtained from various pea varieties.

Wyszczególnienie Specification		Zawartość kwasów tłuszczowych Fatty acids content					
		Suma Total		Nasycone Saturated		Nienasycone Unsaturated	
		[% s.m.] [% d.m.]	[g/100g] białka [g/100g] of protein	[% s.m.] [% d.m.]	[g/100g] białka [g/100g] of protein	[% s.m.] [% d.m.]	[g/100g] białka [g/100g] of protein
Koral	PK	7,84	9,26	1,29	1,52	6,55	7,73
	Mąka Flour	2,08	7,76	0,34	1,27	1,74	6,49
Poa	PK	6,05	7,07	1,05	1,23	5,00	5,84
	Mąka Flour	2,10	7,96	0,35	1,33	1,75	6,63
Ramir	PK	6,59	7,77	1,24	1,46	5,35	6,31
	Mąka Flour	2,02	8,11	0,37	1,48	1,65	6,62
Piast	PK	2,55	2,88	0,43	0,49	2,12	2,39
	PM	5,13	6,39	0,76	0,94	4,37	5,45
	PS	4,56	5,64	0,73	0,90	3,83	4,74
	Mąka Flour	0,82	3,90	0,14	0,68	0,68	3,22

Objaśnienia jak w tab. 1/

Footnotes see Tab. 1.

Stwierdzone wartości nie są uzależnione od aktywności inhibitora trypsyny w wyjściowych mąkach. Uzyskane w pracy zmniejszenie aktywności inhibitora trypsyny w preparatach białkowych w stosunku do wyjściowej mąki potwierdzają wyniki otrzymane przez innych badaczy [1, 11, 16].

Zawartość kwasów tłuszczowych w preparatach białkowych otrzymanych kwasem z grochu odmiany Poa, Ramir i Piast była mniejsza niż w wyjściowej mące (tab. 4), natomiast większa w preparatach z grochu odmiany Koral. Zastosowanie w procesie precypitacji flokulantów znacznie podwyższyło poziom kwasów tłuszczowych, a w szczególności nienasyconych. Pomimo, że kwasy nienasycone są substratem działalności lipooksygenazy, ich zawartość w tłuszczu preparatów białkowych należy uznać za pożądaną, z uwagi na ich hipolipidemiczne oddziaływanie. W badaniach prowadzonych przez Sánchez-Vioque i wsp., [22] metoda ekstrakcji białek z mąki ciecierzycy miała zasadniczy wpływ na zawartość kwasów tłuszczowych polarnych lipidów. Wyniki niniejszej pracy wskazują, że obok gatunku i odmiany stosowanych nasion, skład tłuszczu preparatów determinują również warunki ekstrakcji substancji białkowych i ich następnej precypitacji.

Wnioski

1. Skład chemiczny preparatów białkowych uzależniony jest od metody zastosowanej w procesie koagulowania białek i od ich modyfikacji chemicznej.
2. Wykorzystanie wielkocząsteczkowych polimerów w procesie otrzymywania preparatów białkowych z grochu powoduje zmiany składu chemicznego otrzymanych preparatów w porównaniu z metodą standardową.
3. Preparaty flokulowane z mąki po modyfikacji chemicznej białek charakteryzuje wyższa zawartość białka w porównaniu z preparatami flokulowanymi z mąki z pominięciem modyfikacji.

Literatura

- [1] Abu-Tarboush H.M., Ahmed S.A.B.: Studies on karkade (*Hibiscus sabdariffa*): protease inhibitors, phytate, *in vitro* protein digestibility and gossypol content. Food Chem., 1996, **56** (1), 15-19.
- [2] Alamanou S., Doxastakis G.: Thermoreversible size selective swelling polymers as a means of purification and concentration of lupin seed proteins (*Lupinus albus ssp Graecus*) Food Hydrocolloids, 1995, **9** (2), 103-109.
- [3] Alamanou S., Doxastakis G.: Physico-chemical properties of lupin seed proteins (*Lupinus albus, ssp. Graecus*). Lebensm.Wiss.u.Technol., 1995, **28**, 641-643.
- [4] Baraniak B.: Studia nad optymalizacją procesu wyodrębniania frakcji białkowych chloroplastycznych i cytoplazmatycznych z zielonych części roślin uprawnych. Wyd. AR w Lublinie, ser. Rozprawy naukowe, 1994.

- [5] Baraniak B., Waleriańczyk E.: "Flocculation" Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition, Academic Press, London 1993, **3**, 1913-1917.
- [6] Bejosano F.P., Corke H.: Properties of protein concentrates and hydrolysates from Amaranthus and Buckwheat. Industrial Crops and Products, 1999, **10**, 175-183.
- [7] Chiang W.D., Shih C.J., Chu Y.H.: Functional properties of soy protein hydrolysate produced from a continuous membrane reactor system. Food Chem., 1999, **65**, 189-194.
- [8] Cumming R.H., Robinson P.M., Martin G.E.: Flocculation of *Esch. coli* with cationic polymers: a model for the dose curve based on charge. Biseperation, 1996, **6** (1), 17-23.
- [9] Derlmin W., Prasertsan P., Doelle H.: Screening and characterization of bioflocculant produced by isolated *Klebsiella* sp. App. Microbiol. Biotechnol., 1999, **52** (5), 698-703.
- [10] El-Behhari M., Gehin G., Coulon J., Bonaly R.: Evidence for a lectin in *Kluyveromyces* sp. that is involved in co-flocculation with *Schizosaccharomyces pombe*. FEMS Microbiol. Lett., 2000, **184** (1), 41-46.
- [11] Fernández-Quintela A., Macarulla M.T., Del Barrio A.S., Martínez J.A.: Composition and functional properties of protein isolates obtained from commercial legumes grown in northern Spain. Plants Foods Human Nutr., 1997, **51**, 331-342.
- [12] Genovese M.I., Lajolo F.M.: Influence of naturally acid-soluble proteins from beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on *in vitro* digestibility determination. Food Chem., 1998, **62** (3), 315-323.
- [13] Hamerstrand G.E., Black L.T., Glover J.D.: Trypsin inhibitors in soy products: modification of the standard analytical procedure. Cereal Chem., 1981, **58** (1), 42-45.
- [14] Haszczyńska J.: Preparaty do aglomeracji osadów w soku po saturacji I. Gazeta Cukrownicza, 1992, **11**, 213-214.
- [15] Klepacka M., Porzucek H., Kluczyńska M.: Effect of heat treatment on chemically modified proteins of legume seeds. Food Chem., 1997, **58** (3), 219-222.
- [16] Le Guen M.P., Huisman J., Guéguen J., Beelen G., Verstegen M.W.A.: Effects of a concentrate of pea antinutritional factors on pea protein digestibility in piglets. Livest. Prod. Sci., 1995, **44**, 157-167.
- [17] Mwasaru M.A., Muhammad K., Bakar J., Che Man Y.B. : Effects of isolation technique and conditions on the extractability, physicochemical and functional properties of pigeonpea (*Cajanus cajan*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) protein isolates. I. Physicochemical properties. Food Chem., 1999, **67**, 435-443.
- [18] Mwasaru M.A., Muhammad K., Bakar J., Che Man Y.B.: Effects of isolation technique and conditions on the extractability, physicochemical and functional properties of pigeonpea (*Cajanus cajan*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) protein isolates. II. Functional properties. Food Chem., 1999, **67**, 445-452.
- [19] Nakata K., Harada N., Sumitomo K., Yoneda K.: Enhancement of plant stem growth by flocculation of the antibiotic-producing bacterium, *Pseudomonas fluorescens* S272, on the roots. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2000, **64** (3), 459-465.
- [20] Nam J.S., Kwon S.G., Lee S.O., Hwang J.S., Lee J.D., Yoon B.D., Lee T.H.: Bioflocculant produced by *Aspergillus* sp. JS-42. Biosci. Biotechnol. Biochem., 1996, **60**, 325-327.
- [21] Prokpov V.A., Nekrasova L.S., Mudryi I.V.: The toxic and hygienic characteristics of new synthetic organic flocculants AES-5, AES-7 and AES-10. Likaska Sprava, 2000, **2**, 15-19.
- [22] Sánchez-Vioque R., Clemente A., Viogue J., Bautista J., Millán F.: Polar lipids of defatted chickpea (*Cicer arietinum* L.) flour and protein isolates. Food Chem., 1998, **63**, 357-361.
- [23] Sánchez-Vioque R., Clemente A., Viogue J., Bautista J., Millán F.: Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): chemical composition, functional properties and protein characterization. Food Chem., 1999, **64**, 237-243.

- [24] Soetrisno U.S.S., Holmes Z.A.: Protein yields and characteristics from acid and salt coagulations of yellow pea (*Pisum sativum* L. Miranda) flour extractions. J. Agric. Food Chem., 1992, **40**, 970-974.
- [25] Tolman G.H.: Effect of hot aqueous ethanol treatment on anti-nutritional factors, protein denaturation and functional properties in raw pea protein isolate. Anim. Feed Sci. Technol., 1995, **56**, 159-168.
- [26] Trubetskoy V.S., Loomis A., Hagstrom J.E., Budker V.G., Wolff J.A.: Layer-by-layer deposition of oppositely charged polyelectrolytes on the surface of condensed DNA particles. Nuc. Acids Res., 1999, **27** (15), 3090-3095.
- [27] Tsoka S., Cinawskij O.C., Thomas O.R., Titchener-Hooker N.J., Hoare M.: Selective flocculation and precipitation for the improvement of virus-like particle recovery from yeast homogenate. Biotechnol. Prog., 2000, **16** (4), 661-667.
- [28] Yokoi H., Yoshida T., Mori S., Hirose J., Hyashi S., Takasaki Y.: Bio-polymer flocculant produced by an *Enterobacter* sp. Biotechnol. Lett., 1997, **19** (6), 569-573.

THE CONTENT OF TOTAL PROTEIN, TRYPSIN INHIBITOR, AND STACHYOSE IN PROTEIN PREPARATIONS COAGULATED FROM PEA FLOUR BY VARIOUS METHODS

S u m m a r y

In the study, there were compared contents of various components (protein, fatty acids, stachyose level, and activity of trypsin inhibitor) in preparations precipitated from several different varieties of pea (Koral, Poa, Ramir, and Piast) at an iso-electric point of proteins. The usefulness of two polyelectrolytes (a cationic 'Magnafloc M-22S' and an anionic 'Superfloc A-150') for obtaining protein preparations from a 'Piast' pea variety was also tested. Additionally, the preparations were precipitated from flour the proteins of which were chemically modified using with an acetic and succinic anhydride.

The study showed that the content of individual components in the preparations investigated highly depended on the pea variety. The preparations precipitated using polyelectrolytes contained higher amounts of fatty acids if compared with the preparation obtained using an acid. When high-molecular polyelectrolytes were applied, the protein content was significantly higher in preparations after the chemical modification than in preparations flocculated without prior chemical modification.

Key words: pea, protein preparations, methods of coagulation, protein, trypsin inhibitor, stachyose ☒

MIROSŁAW FIK, AGNIESZKA ZAWIŚLAK

PORÓWNANIE WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCYCH WYBRANYCH HERBAT

Streszczenie

Herbaty charakteryzują się odmiennym składem związków polifenolowych, co wpływa na zróżnicowanie ich właściwości przeciwutleniających. Dlatego celem pracy była analiza i porównanie aktywności przeciwutleniającej wybranych herbat, dostępnych w sprzedaży detalicznej. Aktywność przeciwutleniającą alkoholowych ekstraktów analizowanych produktów oznaczano spektrofotometrycznie na podstawie ich zdolności do eliminowania wolnych rodników DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl).

Stwierdzono, że badane herbaty charakteryzowały się na ogół dobrymi właściwościami przeciwutleniającymi, ale aktywność ich ekstraktów była bardziej zróżnicowana w grupie herbat fermentowanych niż niefermentowanych i półfermentowanych. W badaniach wykazano również, że istotny wpływ na właściwości przeciwutleniające herbat ma proces fermentacji. Największymi właściwościami przeciwutleniającymi spośród badanych produktów charakteryzowały się półfermentowane herbaty oolong i pu-erh, których średnie aktywności wynosiły odpowiednio około 70% i 67%. Niefermentowane herbaty zielone i fermentowane czarne miały na ogół aktywności niższe, zawarte w przedziałach odpowiednio 53,7-61% i 39,6-68%, chociaż jedna z herbat czarnych (Yunnan Top) wykazywała aktywność 68%, a więc podobną jak herbaty półfermentowane. Analiza statystyczna potwierdziła, iż zdecydowana większość badanych produktów istotnie różni się ($p \leq 0,05$) zdolnością do redukcji rodników DPPH.

Słowa kluczowe: aktywność przeciwutleniająca, ekstrakty herbaciane, katechiny, DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl).

Wprowadzenie

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie składnikami pokarmowymi pochodzenia roślinnego o działaniu przeciwutleniającym. Substancje te odgrywają istotną rolę w walce z wolnymi rodnikami, które reagując z cząsteczkami białek, lipidów i sacharydów powodują ich utlenianie, a w konsekwencji niszczenie struktur

komórkowych i tkankowych, czym przyczyniają się do rozwoju wielu schorzeń. Do naturalnych przeciwutleniaczy należą m.in. witaminy C i E, karotenoidy, niektóre pierwiastki śladowe oraz polifenole [2, 10]. Aktywne przeciwutleniacze występują w owocach, warzywach, produktach zbożowych oraz roślinach strączkowych, a także w licznych ziołach, przyprawach i przede wszystkim w herbatach. W badaniach epidemiologicznych wykazano, że spożywanie produktów bogatych w związki polifenolowe może znacznie zmniejszyć ryzyko wystąpienia chorób serca poprzez działanie przeciwutleniające na niskocząsteczkowe frakcje lipoprotein (LDL), a tym samym przyczynić się do spowalniania procesu arteriosklerozy [2, 5, 10]. Substancje te stanowią najliczniejszą grupę związków wchodzących w skład liści herbaty i ich zawartość w suchej masie świeżych liści waha się w granicach od 25 do 35%. Głównymi przedstawicielami polifenoli w herbatach są katechiny, które mają największy udział we właściwościach przeciwutleniających [1, 7, 8]. Objawiają się one przede wszystkim zdolnością do hamowania generacji wolnych rodników, ich wychwytywania oraz chelatowania jonów metali ciężkich, będących katalizatorami reakcji wolnorodnikowych [2, 4, 5, 8]. Zawartość i wzajemne proporcje katechin w herbacie są ściśle powiązane ze stopniem fermentacji oraz wiekiem liści tej rośliny. W zależności od sposobu otrzymywania wyróżnia się dwa zasadnicze rodzaje herbat – czarną, fermentowaną o ciemnym naparze oraz niefermentowaną herbatę zieloną o jasnym naparze i ziołowym aromacie. Znane są również herbaty częściowo fermentowane, mające pośredni skład oraz właściwości herbat czarnych i zielonych [1, 7, 8]. Podczas procesu produkcyjnego herbaty czarnej proste polifenole zawarte w liściach ulegają oksydacyjnej polimeryzacji, w wyniku której powstają bardziej złożone związki chemiczne, tj. teoflawiny, teorubiginy oraz składniki o wyższych masach cząsteczkowych [1, 6, 7, 8]. Herbatę zieloną otrzymuje się poprzez suszenie świeżych liści lub wstępne działanie na nie parą wodną o podwyższonej temperaturze i następnie ich wysuszenie. W takich warunkach ulega inaktywacji oksydaza polifenolowa, co zapobiega utlenianiu i przemianom związków polifenolowych oraz degradacji obecnych w liściach witamin. Dzięki temu otrzymany produkt jest bogaty we flawonole, takie jak: katechiny, epikatechiny oraz epigalokatechiny i flawondiole, a także proste kwasy fenolowe [7, 8].

Jakość herbat jest często bardzo zróżnicowana. Różne herbaty charakteryzują się odmiennym składem związków polifenolowych i mogą wykazywać większe lub mniejsze właściwości przeciwutleniające [1, 6, 7, 8].

Dlatego celem pracy było oznaczenie i porównanie aktywności przeciwutleniających wybranych rodzajów herbat, to jest fermentowanych (czarnych), półfermentowanych (czerwonych) i niefermentowanych (zielonych).

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły herbaty liściaste oraz herbaty czarne CTC firm Lipton, Tetley i Dilmah. Przebadano 18 herbat zakupionych w lokalnych sklepach na terenie Krakowa, w tym 8 zielonych, 6 czarnych i 4 czerwone. Ekstrakty do badań przygotowywano według metody Yen i Chen [13] z pewnymi zmianami. Zmiany te dotyczyły dokładnego rozdrabniania analizowanych produktów oraz zastosowania do ich ekstrakcji, zamiast wody, 96% etanolu. Wszystkie badane produkty, zarówno liściaste, jak i CTC, mielono wstępnie w młynku firmy Moulinex. Rozdrobniony materiał odważano po 2 g do gilz ekstrakcyjnych i ekstrahowano w aparacie Soxhleta 100 ml 96% alkoholu etylowego. Tak otrzymany ekstrakt herbaciany sączono i do analiz dodatkowo rozcieńczano etanolem w stosunku 1:8. Analizy przeprowadzono bezpośrednio po przygotowaniu roztworów.

Właściwości przeciwutleniające badanych herbat oznaczano metodą Brand-Wiliams i wsp. [3] z zastosowaniem trwałego wolnego rodnika 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu (DPPH). Metoda ta polega na określeniu stopnia redukcji (zmiatania) rodników DPPH przez zawarte w ekstraktach herbacianych przeciwutleniacze. Do próbki pobierano 3 ml alkoholowego ekstraktu herbacianego, dodawano 1 ml 0,1 mM alkoholowego roztworu DPPH i dokładnie mieszano, a po 10 min mierzono absorbancję mieszaniny w spektrofotometrze Cecil CE 9500 przy długości fali 517 nm względem 96% alkoholu etylowego. Jednocześnie w ten sam sposób dokonywano pomiaru absorbancji próby kontrolnej, tj. mieszaniny 1 ml 0,1 mM roztworu DPPH z 3 ml 96% etanolu. Aktywność przeciwutleniającą RSA (ang. radical scavenging activity) wyrażoną stopniem eliminacji wolnych rodników obliczano z równania [9]:

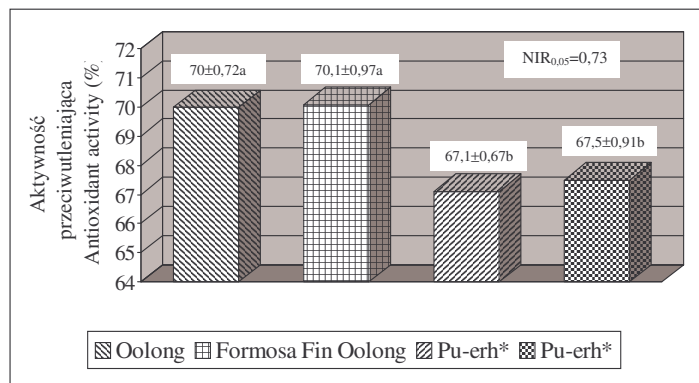
$$\text{RSA}(\%) = \left(1 - \frac{\text{Absorbancja } A_{517} \text{ próby badanej}}{\text{Absorbancja } A_{517} \text{ próby kontrolnej}} \right) \times 100$$

Uzyskane wyniki doświadczeń poddano analizie statystycznej przy wykorzystaniu programu Excel 97, obliczając średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe i NIR na poziomie $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

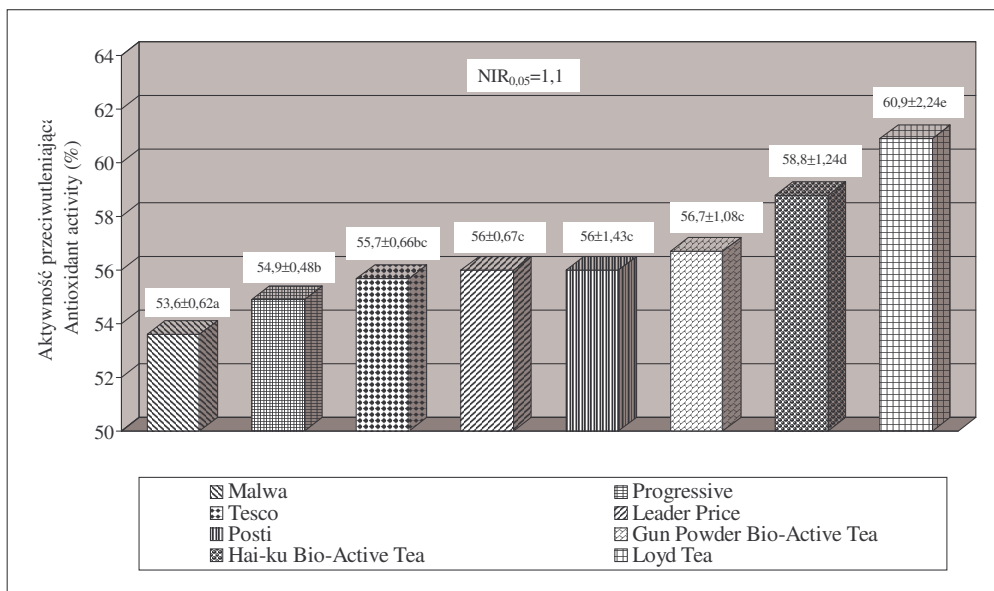
Wyniki aktywności przeciwutleniającej różnych rodzajów herbat przedstawiono na rys. 1–3 jako wartości średnie z trzech powtórzeń. Stwierdzono, że spośród badanych produktów najefektywniejszymi zmiataczami stabilnych rodników DPPH charakteryzowały się półfermentowane herbaty oolong i pu-erh, których uśrednione wartości RSA wynosiły odpowiednio 70% i 67,1–67,5% (rys. 1).

Niższymi właściwościami przeciwutleniającymi cechowało się 8 analizowanych herbat zielonych, których oznaczone aktywności zawierały się w przedziale od 53,7 do 61% (rys. 2).



Rys. 1. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów herbat oolong i puerh. Wyniki podano jako wartości średnie ± odchylenie standardowe - oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$). *Herbaty pochodzące z różnych firm.

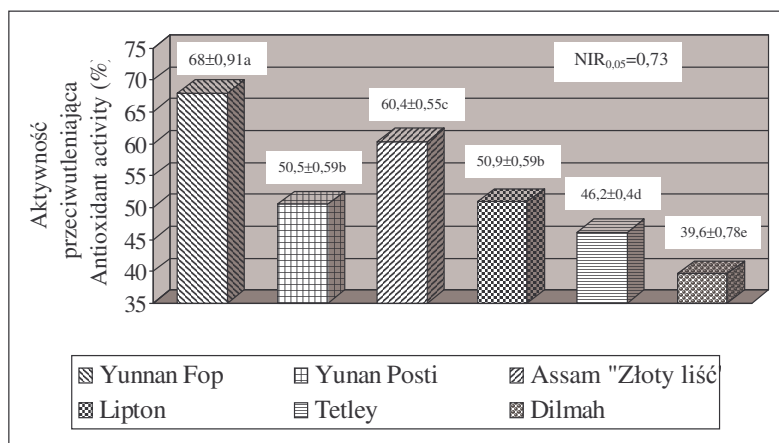
Fig. 1. Antioxidant activity of the oolong and pu-erh tea extracts. The results are expressed as the means ±SD; The means designated by the same letters do not differ statistically significant ($p \leq 0.05$). *Teas from various firms.



Rys. 2. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów herbat zielonych. Wyniki podano jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe – oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$).

Fig. 2. Antioxidant activity of the green tea extracts. The results are expressed as the means \pm SD; The means designated by the same letters do not differ statistically significant ($p \leq 0.05$).

Natomiast najmniejszą aktywnością charakteryzowały się na ogół herbaty czarne (rys. 3), chociaż dwa rodzaje wśród nich miały średnią aktywność zbliżoną do aktywności herbat zielonych i czerwonych.



Rys. 3. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów herbat czarnych. Wyniki podano jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe - oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$).

Fig. 3. Antioxidant activity of the black tea extracts. The results are expressed as the means \pm SD; The means designated by the same letters do not differ statistically significant ($P \leq 0.05$).

Otrzymane w tej pracy wyniki różnią się jednak od niektórych opublikowanych danych przez innych autorów [1, 7, 11], którzy wykazali najwyższą aktywność przeciwutleniającą ekstraktów niefermentowanej herbaty zielonej, nieco niższą półfermentowanej czerwonej, a następnie fermentowanej czarnej. Według Benzie i Szeto [1], właściwości przeciwutleniające herbat zielonych są zdecydowanie większe aniżeli herbat oolong i czarnej, chociaż w obrębie każdej z tych grup produktów występowały od dwu- do trzykrotne różnice w aktywności przeciwutleniającej. Prawdopodobnie zróżnicowanie to jest spowodowane między innymi różnymi regionami geograficznymi ich upraw, okresem zbioru oraz różnymi warunkami przechowywania. Znane są jednak prace badawcze, w których stwierdzono, podobne jak w niniejszej pracy, uszeregowanie herbat według ich właściwości przeciwutleniających [6, 13]. Między innymi Yen i Chen [13], badając cztery rodzaje tych produktów o różnym stopniu fermentacji, wykazali, że herbata fermentowana w

ok. 10% ma większą zdolność do eliminacji wolnych rodników DPPH niż herbata zielona, która przecież zawiera w swoim składzie większą ilość katechin. Uważa się bowiem, że największy wpływ na aktywność przeciwutleniającą naparów herbacianych mają katechiny, których jest najwięcej w herbatach zielonych (30–42% suchej masy liści), podczas gdy ich zawartość w herbacie oolong wynosi od 8 do 20%, a w czarnej od 3 do 10%. W trakcie procesu fermentacji herbat katechiny ulegając przemianom tworzą nowe związki chemiczne, takie jak teoflawiny i teorubiginy odpowiedzialne za charakterystyczny smak i barwę herbaty czarnej [1, 6, 7, 8]. W jednym z nowszych doniesień [6] stwierdzono jednak, że teoflawiny występujące w herbacie półfermentowanej i czarnej charakteryzują się przynajmniej tym samym potencjałem przeciwutleniającym jak katechiny obecne w herbacie zielonej. Powstają one w wyniku utleniania oraz dimeryzacji katechin i są przypuszczalnie tak samo skuteczne w ochronie frakcji LDL człowieka przed oksydacją jak ich prekursorzy [6]. Konwersja katechin do teoflawin podczas procesu produkcyjnego nie powinna więc mieć wpływu na ich zdolności do eliminacji wolnych rodników i dlatego też niektórzy autorzy [6, 12] sugerują, że picie herbat fermentowanych przynosi te same korzyści zdrowotne, wynikające z ich właściwości przeciwutleniających, jak spożywanie herbat zielonych. Ponadto pewien wpływ na właściwości przeciwutleniające tego rodzaju produktów ma również uwalniający się w procesie ich fermentacji z galusanu katechiny kwas galusowy[7].

Otrzymane w niniejszej pracy wyniki charakteryzowały się dużą powtarzalnością, a o ich małym rozproszeniu świadczą stosunkowo niskie współczynniki zmienności, których wartości średnie wszystkich analizowanych produktów nie przekraczały 0,86%. Jednakże w przypadku badanych herbat, zwłaszcza zielonych i czarnych, wykazano znaczne różnice w uzyskanych wartościach aktywności przeciwutleniającej RSA. Otrzymane wyniki RSA analizowanych ośmiu herbat zielonych zawierały się w zakresie od 53,6 do około 61,0%, a sześciu czarnych w szerokim przedziale od 39,6 do 68,0%. Do określenia wielkości różnic w obrębie poszczególnych grup produktów zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. W przypadku herbat czarnych i czerwonych obliczona wartość NIR przy $p \leq 0,05$ wynosiła 0,73, a zielonych 1,1. Na podstawie porównania wartości średnich z NIR stwierdzono, że występują istotne różnice w aktywności przeciwutleniającej większości badanych herbat (rys. 1-3). Z przeprowadzonych badań może więc wynikać, że prawdopodobnie pomiędzy marką herbaty i jej jakością, a co za tym idzie i zawartością związków przeciwutleniających, istnieje pewna zależność polegająca na tym, że lepszym gatunkom produktu z reguły odpowiada większa jego aktywność przeciwutleniająca. Mogą na to mieć wpływ zarówno jakość herbat stosowanych do mieszanek, jak również zachowanie optymalnych warunków procesu technologicznego.

Wnioski

1. Wszystkie badane herbaty charakteryzowały się na ogół dobrymi właściwościami przeciwutleniającymi, ale aktywność ich ekstraktów była bardziej zróżnicowana w grupie herbat fermentowanych (herbaty czarne) niż niefermentowanych (herbaty zielone) i półfermentowanych (herbaty czerwone).
2. Na aktywność przeciwutleniającą alkoholowych ekstraktów herbacianych miał znaczny wpływ stopień fermentacji herbat podczas procesu produkcyjnego, przy czym wyższą aktywnością związaną z eliminacją rodników DPPH charakteryzowały się herbaty półfermentowane niż fermentowane i niefermentowane.

Literatura

- [1] Benzie I. F. F., Szeto Y. T.: Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing / antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 633-636.
- [2] Borkowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy (1). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **5**, 11-12.
- [3] Brand-Wiliams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1995, **28**, 25-30.
- [4] Kalt W., Forney C. F., Martin A., Prior R. L.: Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 4638-4644.
- [5] Kurppa L.: Background information for evaluating the use and possibilities of flavonoids in food technology. *Innov. in Food Technol.*, 2003, **2**, 76-78.
- [6] Leung L. K., Su Y., Chen R., Zhang Z., Huang Y., Chen Z. Y.: Theaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants. *J. Food Nutr.*, 2001, **131**, 2248-2251.
- [7] Lin J. K., Lin Ch. L., Liang Y. Ch., Lin-Shiau S. Y., Juan I. M.: Survey of catechins, gallic acid, and methylxanthines in green, oolong, pu-erh, and black teas. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 3635-3642.
- [8] Ostrowska J., Stankiewicz A., Skrzydlewska E.: Antyoksydacyjne właściwości zielonej herbaty. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2001, **34** (2), 131-140.
- [9] Tang S. Z., Kerry J. P., Sheehan D., Buckley D. J.: Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems. *Food Chem.*, 2002, **76**, 45-51.
- [10] Vinson J. A., Hao Y., Su X., Zubik L.: Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 3630-3634.
- [11] Von Gadow A., Joubert E., Hansmann C. F.: Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. *Food Chem.*, 1997, **60** (1), 73-77.
- [12] Wang H., Provan G. J., Helliwell K.: Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends Food Sci. Technol.*, 2000, **11**, 152-160.
- [13] Yen G. Ch., Chen H. Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME SELECTED TEAS – A COMPARISON

S u m m a r y

Teas are characterized by diverse compositions of polyphenolic compounds and owing to this fact their antioxidant properties are also different. Thus, the main objective of this paper was to analyse and compare antioxidant activity of some selected teas available on the local market. For the products investigated, the antioxidant activity of their alcoholic extracts was spectrophotometrically measured on the basis of their scavenging effects on the DPPH radicals (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

It was stated that the antioxidant activity of all teas investigated was generally good, however, the stronger differences were found in the group of fermented teas if compared with non-fermented or semi-fermented ones. Moreover, the investigation results proved that the fermentation process had a significant impact on the antioxidant activity of teas. Among all the products analyzed, the semi-fermented oolong and pu-erh teas showed the highest antioxidant activity and the mean values determined were about 70% and 67,3%, respectively. Except for the Yunnan Top (black) tea, the non-fermented (green) and fermented (black) teas generally showed a lower antioxidant activity within a range between 53.7% and 61%, and 39.6 - 68%, respectively. Although one of the black teas, the Yunnan Top, had 68% of the antioxidant activity, i.e. this value was similar to the corresponding value of the semi-fermented teas. On the basis of the statistical analysis, it was confirmed that the majority of products examined significantly ($P \leq 0,05$) differed in their scavenging effect on the DPPH radicals.

Key words: antioxidant activity, tea extracts, catechins, and DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). ☒

ANNA PĘKSA, AGNIESZKA KITA, TOMASZ ZIĘBA

WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI SMAŻONYCH CHRUPEK ZIEMNIACZANYCH Z RÓŻNYM DODATKIEM BŁONNIKA

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu dodatku błonnika i wilgotności półproduktów ekstrudowanych typu pelety (ang. pellets) na absorpcję tłuszczu i konsystencję otrzymanych z nich chrupiek. W doświadczeniu zastosowano 5 i 10% dodatek błonnika do otrzymywanych w procesie niskotemperaturowej ekstruzji półproduktów (peletów), których wilgotność doprowadzano następnie do poziomu: 8, 10, 12, 14 i 16%. W usmażonych, w gorącym oleju, chrupkach oznaczono zawartość tłuszczu oraz określono ich teksturę zarówno metodą sensoryczną, jak i instrumentalną z użyciem teksturometru Instron.

Zawartość tłuszczu w chrupkach i ich tekstura zależały jednocześnie od wilgotności peletów i od ilości dodanego błonnika. Wraz ze zwiększaniem dodatku błonnika zmniejszała się zawartość tłuszczu i zwiększała się twardość chrupiek, szczególnie otrzymanych z peletów o wilgotności 8–12%. Wielkość dodatku błonnika nie miała istotnego wpływu na zawartość tłuszczu w chrupkach otrzymanych z peletów o dużej wilgotności, tj. 16%. Dodatek błonnika w ilościach 5 i 10% nie powodował istotnych zmian tekstury chrupiek, jeśli otrzymano je z peletów o wilgotności 12 i 14%. Chrupki o najlepszej, kruchej teksturze uzyskano z peletów o wilgotności 12% bez względu na zawartość błonnika oraz z półproduktów o wilgotności 14% bez dodatku i z 5% dodatkiem błonnika.

Słowa kluczowe: pelety, chrupki ziemniaczane, błonnik, zawartość tłuszczu, tekstura.

Wstęp

Chrupki (ang. snacks) stanowią szeroką gamę produktów spożywczych odznaczających się różnymi kształtami, smakami i charakterystyczną konsystencją. Znaczące miejsce w tej grupie produktów zajmują chrupki otrzymywane z ekstrudowanych półproduktów typu pelety (ang. pellets), po usmażeniu w gorącym oleju. Podstawowymi surowcami do produkcji tych wyrobów są suszone przetwory ziemniaczane oraz mąka pszenna. Ponadto, w zależności od upodobań klientów, w

różnych krajach wykorzystywane są również: mąka ryżowa, mąka z tapioki, mąka owsiana, grochowa czy też mączki rybne [1, 8, 15, 19].

Charakterystyczna tekstura chrupiek jest wynikiem procesu ekspansji zachodzącego w warunkach gwałtownego odparowania wody z półproduktów w trakcie krótkotrwałego wysmażania w oleju. Wyrobom nadawany jest wówczas kształt i porowata struktura [2, 4, 8, 10, 14, 17, 16]. Na właściwości chrupiek otrzymanych z półproduktów typu pelety ma wpływ, oprócz parametrów procesu ekstruzji oraz smażenia, ich skład surowcowy, w tym ilość skleikowanej skrobi oraz wilgotność peletów. Zgodnie z wynikami badań wielu autorów [4, 14, 16, 19], odpowiednia ilość (około 12%) równomiernie rozprowadzonej w półprodukcie wody zapewnia otrzymanie wyrobów dobrze wyekspandowanych (stopień ekspansji 3-5), o zawartości tłuszczu około 30%. Istotny wpływ na konsystencję tego typu wyrobów mają również dodatki takie, jak: białka, emulgatory oraz błonnik [4, 5, 10, 11, 19].

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu dodatku błonnika i wilgotności półproduktów ekstrudowanych typu pelety na absorpcję tłuszczu i konsystencję otrzymanych z nich chrupiek.

Materiał i metody badań

W doświadczeniu użyto następujących surowców: grysik ziemniaczany i skrobia ziemniaczana, pochodzące z Zakładu Ziemniaczanego w Kątach Wrocławskich, modyfikowana skrobia pszenna (Pszenżel), produkowana przez Zakład Ziemniaczany w Niechlowie, preparat błonnika o nazwie Vitacel WF 600 – zawierający 98% czystego błonnika [18] oraz jako dodatki mąkę kukurydzianą, sól i olej, dostępne na rynku.

Półprodukty ekstrudowane typu pelety otrzymywano stosując następujące proporcje składników: skrobia ziemniaczana – 65%, grysik ziemniaczany – 25%, mąka kukurydziana – 5%, modyfikowana skrobia pszenna – 2,0%, sól – 2,5% i olej 0,5%. Błonnik dodawano do mieszaniny surowców w ilościach 5 i 10%. Próbkę odniesienia stanowiła mieszanina, do której nie dodano błonnika. Wilgotność otrzymanych mieszanin doprowadzano do 40–45%. Przygotowane do ekstruzji ciasta pakowano do woreczków polietylenowych i przetrzymywano w temp. $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ przez 24 godz.. Po tym czasie próby przesiewano celem uzyskania jednolitej granulacji. Proces ekstruzji prowadzono w ekstruderze laboratoryjnym Brabender, typ 20 DN, stosując ślimak o stopniu sprężania 1:1, prędkość obrotu ślimaka 120 obr./min, głowicę o wymiarach otworu 80 x 0,5 mm oraz temp. procesu w trzech kolejnych sekcjach 60–65–80°C.

Otrzymany w wyniku ekstruzji produkt w postaci taśmy cięto na kawałki o wymiarach 30 x 15 mm i suszono w temp. 20–22°C do uzyskania przez nie wilgotności około 10%, tj. przez około 14 godz.. Wilgotność otrzymanych peletów doprowadzano do 8, 10, 12, 14 i 16% w komorze klimatyzacyjnej Feutron GmbH, w temp. 20°C oraz

wilgotności względnej powietrza 95%. Gotowe półprodukty przechowywano przez jedną dobę w szczelnie zamkniętych woreczkach polietylenowych do momentu otrzymywania z nich chrupkek.

Chrupki otrzymywano smażąc uzyskane półprodukty w oleju podgrzany do temp. 180°C przez około 4 s od momentu ich wypłynięcia na powierzchnię oleju.

W otrzymanych chrupkach oznaczano: wilgotność metodą suszarkową, zawartość tłuszczu metodą Soxhleta oraz konsystencję metodą sensoryczną wg 5-punktowej skali ocen [12, 13] i obiektywnie teksturę z użyciem teksturometru Instron Model 5544, mierząc siłę (N) potrzebną do przełamania chrupki. Stosowano następujące parametry pomiaru: przystawkę nożową „share blade” o grubości 3 mm, prędkość przesuwu przystawki – 250 mm/min Wykonano po 20 pomiarów siły przecięcia każdej próby chrupkek.

Uzyskane w trakcie badań wyniki poddano analizie statystycznej, stosując jedno- i dwuczynnikową analizę wariancji oraz test LSD porównania średnich. Obliczeń dokonano przy użyciu programu Statgraphic 6.0 [3].

Wyniki i dyskusja

Dodatek błonnika wpłynął na teksturę, wilgotność chrupkek i zawartość tłuszczu w gotowym produkcie (tab. 1). Wilgotność peletów miała przede wszystkim wpływ na zawartość tłuszczu w chrupkach (rys. 1), nie miała zaś bezpośredniego wpływu na wilgotność (rys. 2) i teksturę (rys. 3) gotowego wyrobu.

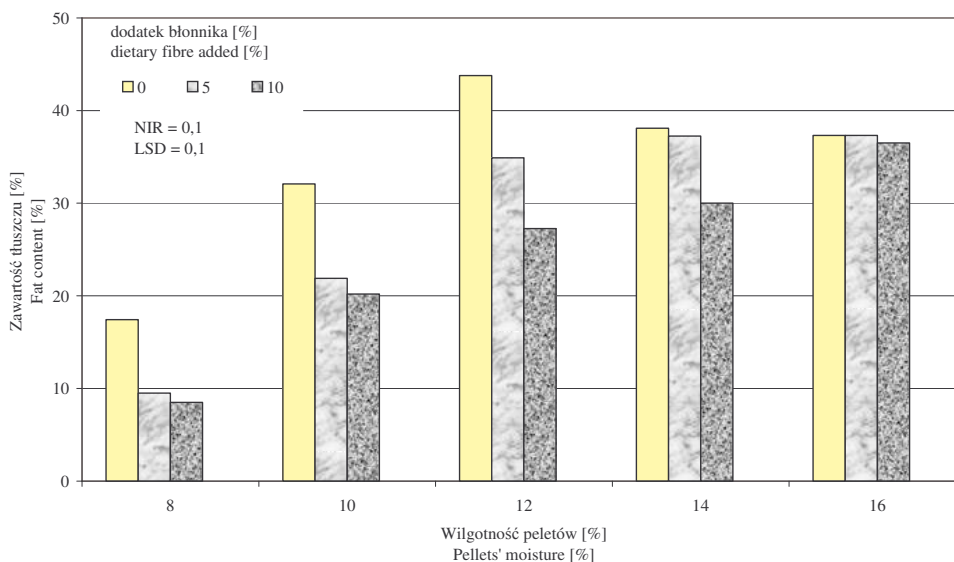
Tabela 1

Wilgotność, tekstura i zawartość tłuszczu w chrupkach w zależności od ilości dodanego błonnika.
Moisture, texture and fat content of snacks depending on the quantity of dietary fibre added.

Dodatek błonnika Dietary fibre added [%]	Wilgotność Moisture [%]	Tekstura Texture [N]	Zawartość tłuszczu Fat content [%]
0	3,08	16,9	33,74
5	3,62	21,2	28,01
10	3,48	24,5	24,49
NIR / LSD	0,12	3,49	0,06

Jak wynika z rys. 1., średnia zawartość tłuszczu w chrupkach zwiększała się z około 11 do 37% wraz ze zwiększaniem się wilgotności peletów, szczególnie w zakresie od 8 do 12% wilgotności. Dalsze zwiększanie ich wilgotności nie wpływało istotnie na zmiany zawartości tłuszczu w chrupkach. Jednocześnie stwierdzono, że

Dodatek błonnika w ilościach 5 i 10% powodował obniżanie się zawartości tłuszczu w chrupkach w granicach 20–50%, ale głównie w otrzymanych z peletów o wilgotności w zakresie 8–12%.

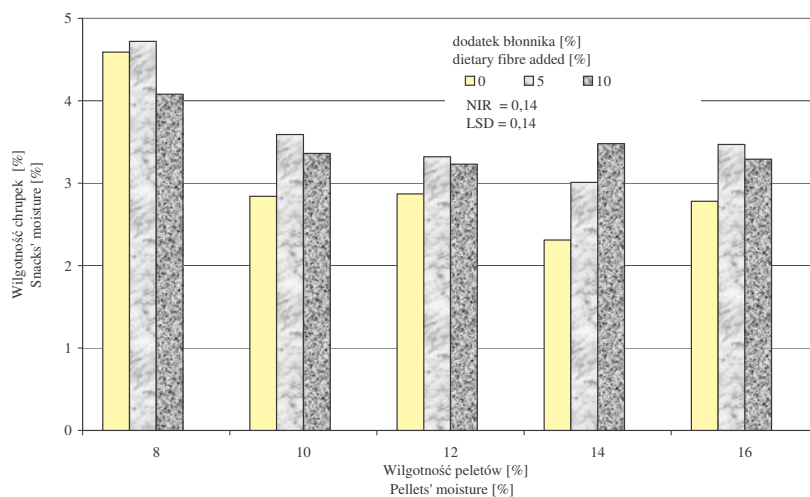


Rys. 1. Zawartość tłuszczu w chrupkach w zależności od ilości dodanego błonnika i wilgotności peletów.

Fig. 1. Fat content in snacks depending on the quantity of dietary fibre added and pellet moisture.

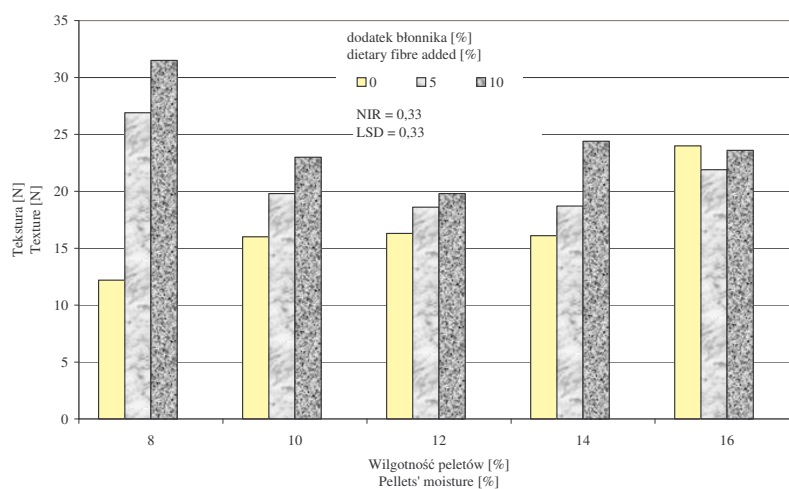
Dodatek błonnika nie wpływał istotnie na zmiany zawartości tłuszczu w chrupkach otrzymanych z peletów o dużej wilgotności, tj. 14–16%. Wyjątek stanowiły chrupki z 10% dodatkiem błonnika otrzymane z półproduktu o wilgotności 14%. Chrupki, zgodnie z Polską Normą [12], powinny zawierać nie więcej niż 45% tłuszczu. Zawartość tłuszczu w chrupkach otrzymanych w wyniku smażenia półproduktów typu pelety w rozgrzanym oleju zależy od właściwości surowca, z którego otrzymano te półprodukty i ich wilgotności, która powinna zawierać się w przedziale 11–12% [11, 14, 16, 19]. Miejsce odparowującej z wnętrza półproduktów wody zajmuje tłuszcz. Zbyt duża zawartość wody w peletach prawdopodobnie nie ma możliwości odparowania w trakcie krótkiego czasu smażenia i pozostaje w produkcie, zmniejszając jednocześnie ilość tłuszczu wchłoniętego w trakcie smażenia. Dodatek błonnika, substancji wiążącej wodę [18], może utrudnić proces odparowania wody z peletów w trakcie smażenia i również przyczynić się do zmniejszenia zawartości tłuszczu w chrupkach, jednocześnie wpływając na nieznacznie większą wilgotność gotowych wyrobów (tab. 1, rys. 2). Wilgotność prawidłowo wysmażonych chrupiek nie powinna

być większa niż 5% [12]. Wszystkie otrzymane w trakcie badań chrupki charakteryzowały się prawidłową wilgotnością (rys. 2).



Rys. 2. Wilgotność chrupkek w zależności od ilości dodanego błonnika i wilgotności peletów.

Fig. 2. Moisture of snacks depending on the quantity of dietary fibre added and pellet moisture.



Rys. 3. Tekstura chrupkek w zależności od ilości dodanego błonnika i wilgotności peletów.

Fig. 3. Texture of snacks depending on the quantity of dietary fibre added and pellet moisture.

Dodatek błonnika powodował zwiększenie twardości chrupkek, szczególnie znaczne w produktach otrzymanych z peletów o małej wilgotności (8%). Duża zawartość błonnika (10%) w peletach o dużej wilgotności (16%) powodowała, że chrupki charakteryzowały się twardą i gumowatą konsystencją (tab. 2, rys. 3). Zgodnie

z wynikami oceny sensorycznej chrupki z 5 i 10% dodatkiem błonnika otrzymane z peletów o wilgotności 10–14% charakteryzowały się chrupką lub lekko twardą konsystencją (tab. 2). Chrupki o najlepszej konsystencji uzyskano z peletów o wilgotności 12% bez względu na zawartość błonnika oraz z półproduktów o wilgotności 14% bez dodatku i z 5% dodatkiem błonnika. Według niektórych autorów [4, 5, 6, 7, 9], dodatek błonnika do wyrobów ekstrudowanych znacznie zmienia retencję wody w produkcie, zmniejsza rozpuszczalność wyrobu, wpływając jednocześnie na stopień jego ekspansji.

Tabela 2

Konsystencja chrupki otrzymanych z peletów z różnym dodatkiem błonnika i o różnej wilgotności, oceniana sensorycznie.
Consistency of snacks obtained from pellets with different quantity of dietary fibre added and of different moisture content.

Dodatek błonnika Dietary fibre added [%]	Wilgotność peletów Pellet moisture [%]				
	8	10	12	14	16
0	twarda hard	chrupka, wyczuwalne miejsca twarde crispy, slightly hard	delikatna, chrupka fragile, crispy	delikatna, chrupka fragile, crispy	delikatna, chrupka fragile, crispy
5	bardzo twarda, sucha very hard, dry	twarda, sucha hard, dry	chrupka crispy	chrupka crispy	chrupka, wyczuwalne miejsca twarde, niejednorodna crispy, slightly hard, non- uniform
10	bardzo twarda, ziarnista, sucha very hard, granular, dry	twarda, ziarnista, hard, granular	twarda, lekko chrupka hard, slightly crispy	lekko twarda, niejednorodna a slightly hard, non- uniform	chrupka, lekko gumowata crispy, slightly rubbery

Obecność błonnika może zmniejszać elastyczność i plastyczność ciasta w trakcie ekstruzji, zmniejszając jego ekspansję i zwiększając twardość wyrobu gotowego. Z przeprowadzonych przez Pękę [11] badań wynika, że większy stopień ekspansji chrupki nie zawsze odpowiada ich lepszej konsystencji - chrupki dobrze

wyekspandowane mogą posiadać twardą, rogową lub gumowatą konsystencję. Znajduje to potwierdzenie w badaniach innych autorów [1, 4, 10, 14], którzy podkreślają istotny wpływ dodatków takich, jak białka, emulgatory czy błonnik na konsystencję chrupek.

Wnioski

1. Zawartość tłuszczu w chrupkach i ich tekstura zależały jednocześnie od wilgotności peletów i ilości dodanego błonnika.
2. Zwiększanie dodatku błonnika powodowało zwiększanie twardości chrupek i zmniejszenie zawartości tłuszczu, szczególnie w chrupkach otrzymanych z peletów o wilgotności 8–12%.
3. Dodatek błonnika nie wpływał w znaczącym stopniu na zawartość tłuszczu w chrupkach otrzymanych z peletów o wilgotności 16%.
4. Dodatek błonnika w ilościach 5 i 10% nie powodował istotnych zmian tekstury chrupek, jeśli otrzymano je z peletów o wilgotności 12 i 14%.
5. Dodatek błonnika w ilościach 5–10% przy wilgotności peletów 12–14% umożliwia wytworzenie chrupek o dobrej jakości.

Praca wykonana w ramach projektu badawczego KBN nr 3 P06T 04423.

Literatura

- [1] Brice A.: Extrusion. The shapes of the future. *Potato Business World* 1994, Oct., **2** (4), 26-32.
- [2] Chinnaswamy R., Hanna M. A.: Optimum extrusion-cooking conditions for maximum expansion of corn starch. *J. Food Sci.*, 1988, **53** (3), 834-840.
- [3] Dąbrowski A., Gnot S., Michalski A., Szrednicka J.: *Statystyka – 15 godzin z pakietem Statgraphics*. Wyd. AR, Wrocław 1993.
- [4] Guy R.: Creating texture and flavor in extruded products. *Food Technol. Intern.*, 1992, **7**, 57-60.
- [5] Hsieh F., Mulvaney S.J., Huff H.E., Lue S., Brent J., Jr.: Effect of dietary fiber and screw speed on some extrusion processing and product variables. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 1989, **22**, 204-207.
- [6] Lue S., Hsieh F., Huff H.E.: Extrusion cooking of corn meal and sugar beet fiber: effect of expansion properties, starch gelatinization, and dietary fiber content. *Cereal Chem.*, 1991, **68** (3), 227-234.
- [7] Maga J.A., Lorenz K.: Sensory and functional properties of extruded corn-soy blends. *Lebensm. – Wiss. u.-Technol.*, 1978, **11**, 185-187.
- [8] Mapimpianti S.A., via Europa, 25 Galliera Veneta Padova, Italy: Good-and bad-markets for extruded snacks. *Food Eng. Int'l.*, August 1988, pp. 27-30.
- [9] Onwulata C.I., Konstance R.P., Smith P.W., Holsinger V.H.: Co- extrusion of dietary fiber and milk proteins in expanded corn products. *Lebensm. –Wiss. u.-Technol.* 2001, **34**, 424-429.
- [10] Park J., Rhee K. S., Kim B. K., Rhee K. C.: Single-screw extrusion of defatted soy flour, corn starch, and raw beef blends. *J. Food Sci.*, 1993, **58** (1), 9-20.
- [11] Pęksa A.: Wpływ wybranych parametrów ekstruzji na jakość chrupek ziemniaczanych. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Technol. Żywn.* XIV 2001, **407**, 137-151.

- [12] PN-A-74780: 1996. Smażone przekąski ziemniaczane.
- [13] PN-78/A-74702. Spożywcze przetwory ziemniaczane. Metody badań.
- [14] Rampala T.: Improving food products quality. Patent nr 1525631, 20.09.1978.
- [15] Russel M.: Extruders – fast & furious. Food Eng. Int'l., 1988, **10**, 46-48.
- [16] Showcase. Extrusion processing of shear-sensitive food products. Food Marketing Technol., 1988, **3**, 19-21.
- [17] Schuler E.W.: Twin-Screw extrusion cooking systems for food processing. Cereal Foods World, 1986, **31** (6), 413-417.
- [18] Świderki F. (red.): Żywność wygodna i żywność funkcjonalna. WNT, Warszawa 2003, wyd. III, s. 390.
- [19] Virtucio L.: Uwarunkowania procesu ekstruzji przy produkcji pelletów do wyrobu snacków. Pavan S.p.A. Italy. Przegl. Zboż.-Młyn. 1999, **7**, 18-20.

SELECTED PROPERTIES OF FRIED POTATO SNACKS WITH VARIOUS CONTENTS OF DIETARY FIBER ADDED TO SEMI-PRODUCTS

S u m m a r y

The objective of the investigations performed was to determine in what way two factors: dietary fibre added to extruded 'pellets', i.e. semi-products of snacks, and moisture content in those pellets influenced fat absorption and texture of snacks manufactured. For the investigation purposes, while manufacturing pellets at low temperatures, the amounts equaling 5% and 10% of dietary fibre were added to them. During the extrusion of the semi-products (pellets), their moisture content was successively raised to the following levels: 8%, 10%, 12%, 14%, and 16%. In ready snacks that were fried in hot oil, their fat content and texture were determined by a sensory method and using an 'Instron' texture meter. It was stated that both the fat content in snacks and their texture depended, concurrently, on the pellet moisture and the quantity of dietary fibre added to them. The more quantities of dietary fibre were added, the higher the fat content in snacks was reduced, contrary to the snack hardness, which increased along with the raising amounts of the fibre added; in particular in snacks manufactured from pellets with an 8% to 12% moisture content. The quantity of dietary fibre added didn't significantly affect the fat content in snacks made from pellets having a high 16% moisture content. The addition of 5% and 10% of dietary fibre to extruded products did not significantly affect changes in the texture of snacks obtained from pellets of 12% and 14% moisture contents. Snacks of the best crispy texture were manufactured from pellets containing 12% of moisture irrespectively of the dietary fibre content, as well as from pellets showing a moisture level of 14% and containing 5% of dietary fibre or no fibre at all.

Key words: pellets, potato snacks, fibre, fat content, texture. ☒

AGNIESZKA WIKIERA

**WPLYW WYBRANYCH PREPARATÓW PEKTYNAZ I FOSFATAZ NA
DEGRADACJĘ FITYNIANÓW PASZY TRAWIONEJ METODĄ *IN VITRO***

Streszczenie

Badano wpływ siedmiu handlowych preparatów pektynolitycznych na proces uwalniania endogennego fosforu z mieszanki pszenno-sojowej dla kurcząt brojlerów. Analizy prowadzono z wykorzystaniem metody *in vitro*, symulującej warunki panujące w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego ptaków. W obecności pektynaz stwierdzono istotny statystycznie wzrost ilości fosforu uwalnianego z paszy, korelujący z ogólną aktywnością pektynolityczną badanych preparatów, oznaczaną wiskozymetrycznie. Współczynnik determinacji, modelu liniowego, opisującego tę zależność, wynosił 58,62%. Analiza efektów współdziałania preparatów pektynolitycznych z wprowadzanym jednocześnie do paszy preparatem fitazy A ujawniła dodatni wpływ pektynaz na efektywność akcji katalitycznej wysycającej dawki fitazy. Zdolność pektynaz do intensyfikacji procesu defosforylacji fitynianów, wywołanego obecnością egzogennej fitazy, korelowała z towarzyszącą pektynazom aktywnością fosfatazy kwaśnej ($R^2 = 93\%$). Intensyfikujący wpływ preparatów pektynolitycznych na proces defosforylacji fitynianów utrzymywał się nawet wtedy, gdy do paszy wraz z fitazą dodano wysycającą dawkę fosfatazy kwaśnej, ale wówczas był on skorelowany ujemnie ($R = - 0,949$) z aktywnością pektynoesterazową badanych preparatów. Ujemną zależność pomiędzy aktywnością pektynoesterazy i ilością fosforu uwalnianego z paszy przy wysycających dawkach fitazy i fosfatazy kwaśnej najlepiej opisywał model funkcji $y = 3,831 + 0,059x^{-1}$. Prawdopodobnie wysoka aktywność pektynoesterazy w preparatach pektynolitycznych była przyczyną eliminacji jonów Ca^{2+} ze środowiska reakcji i tworzenia pektynianów selektywnie obniżających efektywność działania enzymów fosfolitycznych.

Słowa kluczowe: pektynazy, fosfatazy, defosforylacja paszy.

Wstęp

Fityniany to związki o charakterze antyodżywczym, występujące licznie w podstawowych składnikach pasz. Tworząc złożone kompleksy, fityniany obniżają strawność białka, skrobi i tłuszczu [17, 18] oraz ograniczają wykorzystanie Ca, Mg, Zn i Fe z przewodu pokarmowego [13]. Zawarty w nich fosfor stanowi około 70% fosforu całkowitego mieszanek paszowych i jest trudno dostępny dla zwierząt

monogastrycznych. Antyodżywcze działanie fitynianów paszowych próbuje się znosić wprowadzając do diet fitazę i fosfatazę kwaśną, wykazujące egzogenne aktywności defosforylujące [12]. Ciągłe jednak nie udaje się osiągnąć pełnej defosforylacji mieszanek pszenno-sojowych. Badania nad optymalizacją tego procesu wskazują na możliwość jego intensyfikacji poprzez wprowadzanie do pasz oprócz fitazy i fosfatazy kwaśnej także preparatów pektynolitycznych [26]. W ostatnim dziesięcioleciu pojawiło się kilka prac opisujących zarówno wielokierunkowość działania katalitycznego handlowych pektynaz [3], jak i zasadność ich użycia w żywieniu zwierząt monogastrycznych [1, 4, 5]. Żyła [28] podaje, że eksperymentalny preparat pektynazy dodany do mieszanki kukurydziano-sojowej w badaniach *in vitro* wykazuje właściwości zbliżone do fosfatazy kwaśnej, tzn. powoduje wzrost stężenia fosforu i cukrów redukujących uwalnianych z paszy do dializatu. Intensyfikuje też defosforylację fitynianów przez fitazę. Zastosowanie w paszach dla rosnących brojlerów zestawu enzymatycznego, w skład którego oprócz wysycających dawek fitazy i fosfatazy kwaśnej wchodzi pektynaza, pozwala osiągnąć większe, niż w grupach karmionych paszą z dodatkiem fitazy i fosfatazy kwaśnej, przyrosty masy ciała, lepsze wykorzystanie karmy i poprawę mineralizacji kośćca [27]. Kuchta i wsp. [15] zaobserwowali, że dodatek pektynazy do mieszanki o wysokim udziale żyta poprawia nieśność kur oraz zwiększa retencję azotu i strawność białka.

Celem przedstawionych badań była analiza udziału preparatów pektynolitycznych w znoszeniu antyżywniowego charakteru fitynianów paszowych oraz poznanie ewentualnych mechanizmów kooperacji aktywności fosfolitycznych i pektynolitycznych w procesie defosforylacji.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiła mieszanka pszenno-sojowa dla drobiu. Jeden kilogram paszy zawierał 0,6% wapnia i 0,45% fosforu, w tym 0,17% fosforu przyswajalnego. W doświadczeniach wykorzystano 7 handlowych preparatów pektynolitycznych pochodzenia mikrobiologicznego oraz dwa preparaty fosforolityczne: fitazę – Finase P i fosfatazę kwaśną – Finase AP firmy AB Enzymes OY (Finlandia).

W każdym z preparatów pektynolitycznych oznaczano następujące aktywności enzymatyczne: aktywność poligalakturonazy (EC 3.2.1.15) wyrażoną w jednostkach PGU [16], aktywność pektynoesterazy (EC 3.1.1.11) – PEU [9], ogólną aktywność pektynolityczną w °PM [22], aktywność fitazy (EC 3.1.3.8) – FTU [8], aktywność fosfatazy kwaśnej (EC 3.1.3.2) – AcPU [26], aktywność proteazy kwaśnej (EC 3.4.23.6) – AcPRU [22], aktywność ksylanazy (EC 3.2.1.8) – XU [16], aktywność celulazy (EC 3.2.1.4) – CU [23], oraz aktywność β -glukanazy (EC 3.2.1.6) wyrażoną w jednostkach GIU [22].

Proces defosforylacji paszy badano stosując metodę *in vitro*, symulującą układ pokarmowy ptaków, opisaną przez Żyłę i wsp. [25]. Preparaty pektynolityczne stosowano w dawce optymalnej, wynoszącej 95 PGU na 1 g paszy [28]. Fitazę i fosfatazę kwaśną stosowano w dawkach wysycających proces defosforylacji mieszanki pszenno-sojowej, równych 0,750 FTU i 3,156 AcPU na 1 g paszy [27]. Ilość fosforu uwalnianego z paszy oznaczano metodą Fiske i Subbarowa [6]. Analizy wykonano w 24 powtórzeniach. Wyniki opracowano stosując analizę regresji i wieloczynnikową analizę wariancji.

Wyniki i dyskusja

Wielkości głównych i ubocznych aktywności enzymatycznych oznaczone w 7 badanych preparatach pektynolitycznych przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Profil aktywności enzymatycznych w badanych preparatach pektynolitycznych.
The enzymatic activity profile of the pectinase preparations under investigation.

Nazwa preparatu i miejsce produkcji Trade name of the Pectinase and country of its manufacturing	Aktywności główne Main activities			Aktywności towarzyszące pektynazom Activities accompanying Pectinases					
	PGU/mg	PEU/mg	°PM/mg	FTU/g	AcPU/g	AcPRU/mg	XU/mg	GIU/mg	CU/mg
Energex L Denmark	24,28	0,48	2399,14	6,78	1388,77	3,10	0,41	2,76	0,35
Pectinex Ultra SPL Denmark	16,02	0,37	1492,56	2,95	20,43	1,20	0,23	2,17	0,15
Pektopol PT 400 Poland	15,43	0,04	2052,21	55,71	103,86	1,34	1,75	4,49	0,35
Rapidase Liq + The Netherlands	6,63	0,52	653,91	10,71	13,91	0,14	1,14	5,31	0,44
Rapidase Pomaliq 2F The Netherlands	5,86	0,48	545,60	0,69	1,71	0,10	1,76	3,64	0,39
Rohapect D5S Germany	82,24	4,95	1241,61	0,00	6,35	0,25	0,93	0,02	0,03
Ultrazym AFP-L Denmark	14,23	0,44	724,21	2,41	8,13	0,45	0,42	2,19	0,13

Podano wartości średnie z 12 powtórzeń / The given data represent mean values of twelve determinations.

Stwierdzono, że każda z handlowych pektynaz, obok deklarowanych przez producenta wysokich aktywności enzymów rozkładających substancje pektynowe, wykazywała zróżnicowany poziom aktywności ubocznych, istotnych w zastosowaniach paszowych. W związku z wieloaktywnościowym charakterem preparatów pektynolitycznych ich dawkę do badań nad procesami defosforylacji paszy standaryzowano według aktywności poligalakturonazy, stosując 95 PGU/g paszy. Aktywności enzymatyczne towarzyszące tej dawce poligalakturonazy w każdej z pektynaz przedstawiono w tab. 2.

Tabela 2

Aktywności enzymatyczne towarzyszące 95 PGU w badanych pektynazach.
Enzymatic activities accompanying a standardized level of 95 PGU in pectinase preparations

Nazwa preparatu Trade name of the preparation	Rzeczywista dawka [μl/g paszy] Actual dosage	Aktywności wprowadzane na 1 g paszy z dawką 95 PGU Enzymatic activities in the standardized dosage of 95 PGU applied for 1 g of feeds							
		PEU	°PM	FTU	AcPU	AcPRU	XU	GIU	CU
Energex L	3,38	1,89	9387,8	0,026	5,434	12,14	1,61	10,79	1,39
Pectinex Ultra SPL	5,08	2,21	8852,4	0,017	0,121	7,12	1,34	12,84	0,89
Pektopol PT 400	5,07	0,27	12635,5	0,343	0,639	8,24	10,79	27,67	2,13
Rapidase Liq +	13,14	7,74	9368,6	0,153	0,199	2,03	16,30	76,11	6,36
Rapidase Pomaliq 2F	15,25	7,85	8837,7	0,011	0,027	1,68	28,49	58,94	6,43
Rohapect D5S	1,16	5,72	1434,1	0,000	0,007	0,29	1,08	0,03	0,04
Ultrazym AFP-L	5,85	2,91	4834,1	0,014	0,054	3,04	2,82	14,62	0,88

Ilości fosforu uwalniane z paszy trawionej metodą *in vitro* z dodatkiem preparatów pektynolitycznych (seria I), preparatów pektynolitycznych i fitazy (seria II) oraz preparatów pektynolitycznych, fitazy i fosfatasy kwaśnej (seria III) przedstawiono w tab. 3.

Zaobserwowano, że po wprowadzeniu do paszy każda z pektynaz powodowała statystycznie istotny wzrost ilości fosforu w dializacie (seria I). Stopień defosforylacji mieszanki paszowej wzrastał względem próby kontrolnej od 4,2% do 9,3%. Zgodnie z oczekiwaniami efektywność preparatów pektynolitycznych w procesie uwalniania fosforu zawartego w paszy zależała od aktywności fitazy i fosfatasy kwaśnej w stosowanej dawce pektynaz. Siłę interakcji tych zmiennych wyrażał współczynnik wielorakiej korelacji liniowej Pearsona $R_p = + 0,952$ ($p = 0,001$; test F). Różna

aktywność fosfataz we wprowadzanych do paszy preparatach pektynolitycznych tłumaczyła ponad 90% obserwowanej zmienności stopnia defosforylacji mieszanki paszowej. Istniała także rosnąca liniowa współzależność pomiędzy stopniem defosforylacji mieszanki pszenno-sojowej a ogólną aktywnością pektynolityczną badanych preparatów oznaczaną wiskozymetrycznie. Zależność tę przedstawiono na rys. 1.

Tabela 3

Ilości P uwalniane z paszy pszenno-sojowej po wprowadzeniu pektynaz (seria I), pektynaz i fitazy (seria II) oraz pektynaz, fitazy i fosfatazy kwaśnej (seria III).

The phosphorus amounts released from a wheat-based feed by pectinases (run I), pectinases and phytase (run II), pectinases, phytase and acid phosphatase (run III).

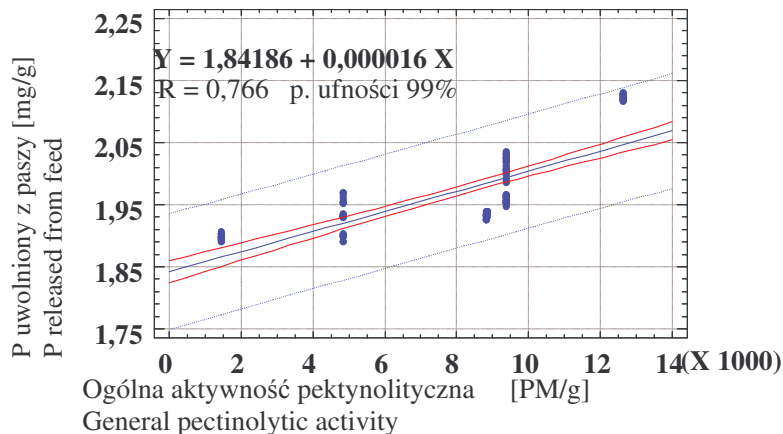
Nazwa preparatu Name of the preparation	Ilości fosforu uwalniane z paszy [mg/g] P amounts released from the feed [mg/g]		
	Seria I (run I)	Seria II (run II)	Seria III (run III)
Kontrola (control preparations – no name)	1,70 ^a	3,16 ^a	3,71 ^a
Energex L	2,01 ^e	3,69 ^h	3,88 ^e
Pectinex Ultra SPL	1,94 ^c	3,27 ^d	3,87 ^e
Pektopol PT 400	2,12 ^f	3,34 ^g	4,05 ^f
Rapidase Liq +	1,96 ^d	3,32 ^f	3,83 ^c
Rapidase Pomaliq 2F	1,93 ^c	3,31 ^e	3,81 ^b
Rohapect D5S	1,89 ^b	3,18 ^b	3,83 ^c
Ultrazym AFP-L	1,93 ^c	3,19 ^c	3,86 ^d
SEM*	0,0064	0,0059	0,1020
p	0,0000	0,0000	0,0000

Podano wartości średnie z 24 powtórzeń. / The given data represent mean values of twenty four determinations.

Różne litery superskryptu oznaczają różnice statystycznie istotne w obrębie serii (test LSD). / Different superscript letters express mean values that differ statistically significant within one run ('LSD' test).

Korelacja ogólnej aktywności pektynolitycznej badanych preparatów z ilością fosforu uwalnianego z paszy ($R_p = +0,766$) była istotna na poziomie $p = 0,001$ w teście F. Współczynnik determinacji R^2 modelu liniowego, opisującego tę zależność, wynosił 58,62%. Z literatury wiadomo, że obecność pektyny w środowisku reakcji może ograniczać aktywność katalityczną wielu enzymów. Według Ikeda i Kuzano [10], chymotrypsyna traci w tych warunkach 27,2% swojej aktywności, trypsyna i α -amylaza prawie po 50%, a pepsyna nawet 57,4%. Najprawdopodobniej więc zaobserwowana dodatnia korelacja pomiędzy ogólną aktywnością pektynolityczną preparatów i ich efektywnością defosforylującą była skutkiem intensywnej degradacji substancji pektynowych. Eliminacja pektyny ze środowiska reakcji enzymatycznej

mogła bezpośrednio lub pośrednio, przez zwiększenie aktywności katalitycznej enzymów trawiennych, ułatwiać dostęp do magazynujących fosfor fitynianów endogennym i egzogennym enzymom fosfolitycznym.



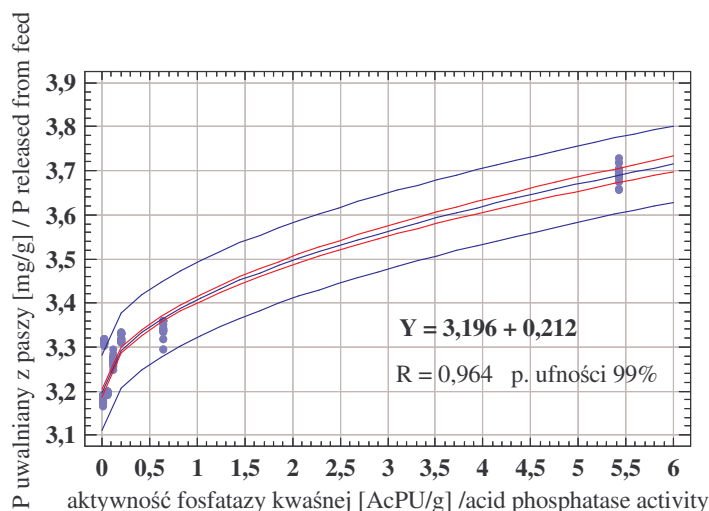
Rys. 1. Zależność pomiędzy ogólną aktywnością pektynolityczną ($^{\circ}$ PM) preparatów i ich zdolnością do uwalniania fosforu z paszy. Współczynnik korelacji liniowej zmiennych ($R_p = +0,766$) był istotny na poziomie $p = 0,001$ w teście F.

Fig. 1. The relationship between general pectinolytic activity ($^{\circ}$ PM) of the preparations and their ability to release phosphorus from a feed. The linear correlation coefficient of variables ($R_p = +0,766$) was significant at a level of $p = 0,001$ in the 'F' test.

Analiza efektów współdziałania preparatów pektynolitycznych z wprowadzanym równocześnie do paszy handlowym preparatem fitazy A (seria II) potwierdziła opisywany wcześniej przez zespół Żyły [26, 28] intensyfikujący wpływ pektynaz na efektywność akcji katalitycznej wysycającej dawki fitazy. Ilości fosforu uwalnianego z paszy przez fitazę działającą w kooperacji z preparatami pektynolitycznymi były nawet o 16,77% wyższe od tych, jakie obserwowano podczas indywidualnej akcji katalitycznej fitazy. Jednocześnie stwierdzono, że w obecności wysycającej dawki fitazy A przestała być istotna, występująca w pierwszej serii doświadczeń, dodatnia korelacja pomiędzy ogólną aktywnością pektynolityczną preparatów i ich zdolnością do defosforylacji paszy. Zaobserwowano natomiast, że zdolność pektynaz do intensyfikacji procesu defosforylacji fitynianów, wywołanego obecnością egzogennej fitazy, korelowała z towarzyszącą pektynazom aktywnością fosfatazy kwaśnej. Zależność tę najlepiej ($R^2 = 93\%$, $p = 0,001$) opisywał przedstawiony na rys. 2 model pierwiastkowy $y = 3,196 + 0,212 \sqrt{x}$.

Wprowadzając do mieszanki pszenno-sojowej wraz z pektynazami i fitazą A wysycającą dawkę fosfatazy kwaśnej (seria III) obserwowano dalszy wzrost ilości fosforu w dializacie, a stopień defosforylacji paszy był ujemnie zależny ($R = -0,949$)

od obciążenia dawki pektynaz pektynoesterazą. Zależność tę najlepiej opisywał model funkcji $y = 3,831 + 0,05 \cdot x^{-1}$, którego współczynnik determinacji R^2 wynosił 90,23% (rys. 3).

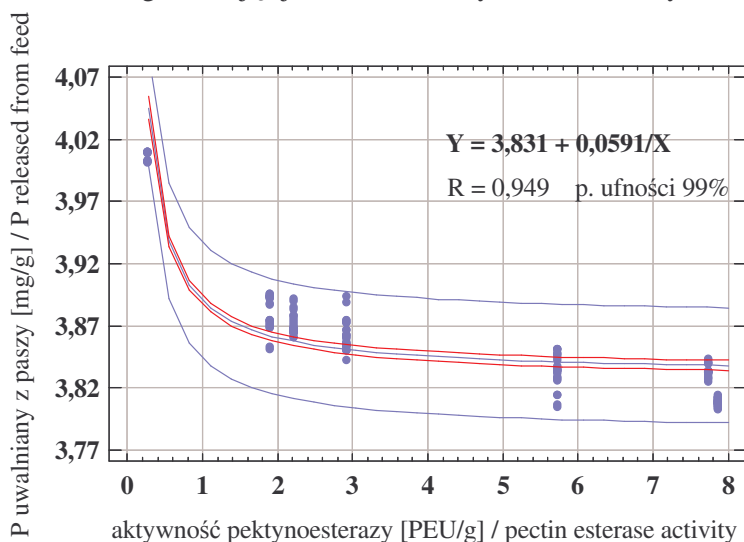


Rys. 2. Zależność ilości fosforu uwalnianego z paszy w obecności preparatów pektynolitycznych i fitazy od obciążenia stosowanej dawki pektynaz aktywnością fosfatazy kwaśnej. Korelacja zmiennych ($R_p = +0,964$) była istotna na poziomie $p = 0,001$ (test F).

Fig. 2. The relationship between the phosphorus amount released from a feed in the presence of pectinolytic preparations and phytase, and the acid phosphatase activity load of the pectinase dosage applied. The correlation of variables ($R_p = +0,964$) was significant at a level of $p = 0,001$ (F test).

Pektynazy mające w dawce 95 PGU największą aktywność pektynoesterazy w kooperacji z wprowadzanymi do paszy jednocześnie fosfatazami wykazywały najniższą zdolność intensyfikacji procesu uwalniania fosforu. W ich obecności stopień defosforylacji paszy wzrastał jedynie o 2,69%, podczas gdy w obecności pektynaz o niskiej aktywności pektynoesterazy wzrost ilości fosforu w dializacie osiągał wartość 7,44%. Wiadomo, że pektynoesteraza, poprzez odszczepianie reszt metylowych od łańcucha kwasu α -poligalakturonowego, umożliwia łączenie się reszt karboksylowych z jonami niektórych pierwiastków, w tym wapnia, magnezu cynku i fosforu. Powstają wówczas trwałe pektyniany, które obniżają przyswajalność tych pierwiastków [2, 7]. Wiadomo także, że jony Ca^{2+} są ważnymi aktywatorami wielu fosfomonoesteraz [14, 20]. Prawdopodobnie obserwowana dopiero podczas wspólnej akcji katalitycznej fitazy, fosfatazy kwaśnej i pektynaz ujemna zależność pomiędzy ilością fosforu uwalnianego z paszy i aktywnością pektynoesterazy była konsekwencją nie tyle kompleksowania jonów fosforu uwolnionego wcześniej z połączeń fitynowych co

ograniczonej dostępności jonów wapnia selektywnie działających na fosfatazy. Wydaje się, że wywołana dużą aktywnością pektynoesterazy eliminacja Ca^{2+} ze środowiska reakcji mogła zmniejszać aktywność wprowadzanej do paszy fosfatazy kwaśnej, nie wpływając jednocześnie w sposób istotny na aktywność fitazy A. W literaturze znajdują się przykłady opisujące zróżnicowany wpływ jonów Ca^{2+} na aktywność fitazy. Scott i Loewus [19] dowodzili aktywującego działania Ca^{2+} na fitazę. Ullah [21] natomiast opisał brak wrażliwości fitazy z *Aspergillus ficuum* na obecność tego pierwiastka w środowisku reakcji. Fakt, że obecność czynników kompleksujących, takich jak EDTA, może stymulować aktywność fitaz pochodzenia grzybowego [24], wydaje się dodatkowo potwierdzać nieistotną rolę metalu w efektywnej akcji katalitycznej stosowanego preparatu fitazy. Co więcej, obecna w paszy pektyna, ulegając pod wpływem wprowadzanych preparatów pektynolitycznych stopniowej depolimeryzacji i demetylacji, zyskiwała w ten sposób coraz większe właściwości kompleksujące [11], które mogłyby wpływać na aktywność fitazy A w sposób podobny jak EDTA, ograniczając jednocześnie aktywność fosfatazy kwaśnej.



Rys. 3. Zależność między aktywnością pektynoesterazy a ilością fosforu uwalnianego z paszy przy wysycającej dawce fitazy i fosfatazy kwaśnej. Wartość współczynnika korelacji nieliniowej zmiennych $R_{Ss} = +0,949$ była istotna na poziomie $p = 0,001$ (test F).

Fig. 3. The relationship between pectin esterase activity of pectinases and the phosphorus amounts released from a feed containing phytase and acid phosphatase preparations. A value of the non-linear correlation coefficient of variables ($R_{Ss} = +0,949$) was significant at a level of $p = 0,001$ (F test).

Wnioski

1. Preparaty pektynolityczne są czynnikiem synergistycznym w procesie defosforylacji fitynianów paszy nawet przy wysycających dawkach enzymów fosfolitycznych.
2. Ogólna aktywność pektynolityczna, pojmowana jako zdolność preparatu do obniżania lepkości roztworu pektyny, może być wykorzystana jako czynnik intensyfikujący defosforylację fitynianów paszowych.
3. Wysoka aktywność pektynoesterazy w preparatach enzymatycznych jest czynnikiem ograniczającym wykorzystanie fosforu z paszy.
4. Pomiędzy aktywnością pektynoesterazy i ilością fosforu uwalnianego z paszy w obecności wysycających dawek fitazy i fosfatazy kwaśnej istnieje zależność którą najlepiej opisuje równanie:

$$\text{Ilość dostępnego P} = 3,831 + \frac{0,059}{\text{aktywność pektynoesterazy [PEU]}} \quad (R^2 = 90\%, p = 0,001)$$

Literatura

- [1] Annison G., Hughes R.J.: Choct M. Effects of enzyme supplementation on the nutritive value of dehulled lupins. Br. Poult. Sci., 1996, **37**, 157.
- [2] Bagheri, S. i Gueguen, L.: Effect of wheat bran and pectin on the absorption and retention of phosphorus, calcium, magnesium and zinc by the growing pig. Reprod. Nutr. Dev., 1985, **25 (4A)**, 705-716.
- [3] Barbe Ch., Dubourdiou D.: Characterisation and purification of cinnamate esterase from *Aspergillus niger* industrial pectinase preparation. J. Sci. Food Agric., 1998, **78**, 471-478.
- [4] Cowan D.W., Korsbak A., Hastrup T., Rasmussen P.B.: Influence of added microbial enzymes on energy and protein availability of selected feed ingredients. Animal Feed Sci. Technol., 1996, **60**, 311-319.
- [5] Cowan D.W., Pettersson D.R., Rasmussen P.B.: The influence of lipase, α -galactosidase or multi-component pectinase enzymes on energy and amino acid availability in feedstuffs. Poultry Feedstuffs: supply, composition and nutritive value. (eds) McNab J.M. and Boorman K.N., CAB International, 2002, pp. 337-344.
- [6] Fiske C., Subbarow Y.: The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem., 1925, **66**, 375.
- [7] Galas E., Kubik C., Turkiewicz M., Sikora B., Zielińska M.: Preparaty pektynolityczne z brzezki i grzybni po fermentacji cytrynowej w depektynizacji soków jabłkowych. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1997, **9**, 30-33.
- [8] Hajnal K.A., Polaczek-Racz M.: Determination of pectin methyl esterase, polygalacturonase and pectin substances in some fruit and vegetables. Acta Alim., 1975, **4 (3)**, 271-289.
- [9] Heinonen J.K., Lahti R.J.: A new and convenient colorimetric determination of inorganic orthophosphate and its application to the assay of inorganic pyrophosphatase. Anal. Biochem., 1981, **113**, 313-317.
- [10] Ikeda K., Kusano K.: In vitro inhibition of digestive enzymes by indigestible polysaccharides. Cereal Chem. 1983, **60**, 260-263.

- [11] Kim M., Atallah M.T.: Intestinal solubility and absorption of ferrous iron in growing rats are affected by different dietary pectins. *J. Nutr.*, 1993, **123**, 117-124.
- [12] Kornegay E.T., Yi Z., Mc Guirk A.: Replacement values of inorganic phosphorus by microbial phytase for pigs and poultry. *J. Animal Sci.*, 1994, **72**, 30-335.
- [13] Kornegay E.T.: Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. In: *Enzymes in farm animal nutrition*, 2001, pp. 237-271.
- [14] Kružel M., Morawiecka B.: Acid phosphatase of potato tubers (*Solanum tuberosum* L). Purification, properties, sugar and amino acid composition. *Acta Bioch. Polon.*, 1982, **29** (3-4), 321-329.
- [15] Kuchta M., Koreleski J., Zegarek Z.: Paszowe enzymy pektynolityczne w żywieniu kur nieśnych. *Rocz. Naukowe Zootech.*, 1991, **18** (1-2), 195-206.
- [16] Miller G.L.: Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.*, 1959, **31**, 426-428.
- [17] Ravindran V.: Protein and energy effects of microbial phytase in poultry diets. Paper presented at the BASF Technical Symposium following the southern Poultry Science meetings, Atlanta, Georgia, 19 January 1999, s. 271-272.
- [18] Ravindran V., Cabahug S., Ravindran G., Bryden W.L.: Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. *Poultry Sci.*, 1999, **78**, 699-706.
- [19] Scott J.J., Loewus F.A.: A calcium-activated phytase from pollen of *Lilium longiflorum*. *Plant Phys.*, 1986, **82**, 333-335.
- [20] Shimizu M.: Purification and characterization of phytase and acid phosphatase produced by *Aspergillus oryzae* K1. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1993, **57** (8), 1364-1365.
- [21] Ullach A.H.: *Aspergillus ficuum* phytase: partial primary structure, substrate selectivity, and kinetic characterization. *Preparative Biochem.*, 1988, **18**, 459-471.
- [22] Wikiera A.: Dostosowanie preparatu pektynolitycznego do Pektopol PT 400 do potrzeb przemysłu paszowego. Praca doktorska, 2003, Kraków.
- [23] Wood T., Bhat K.M.: Methods for measuring cellulase activities. *Methods Enzym.*, 1988, **160**, 87-112.
- [24] Wyss M., Pasamontes L., Friedlein A., Remy R., Tessier M., Kronenberger A., Middendorf A., Lehmann M., Schnoebelen L., Röthlisberger U., Kuszniir E.: Biophysical characterization of fungal phytases (myoinositol hexakisphosphate phosphohydrolases): molecular size, glycosylation pattern and engineering of proteolytic resistance. *Appl. Environmental Microbiol.*, 1999, **65** (2), 359-366.
- [25] Żyła K., Ledoux D.R., Garcia A., Veum T.L.: An *in vitro* procedure for studying enzymatic dephosphorylation of phytate in maize-soybean feeds for turkey poults. *Br. J. Nutr.*, 1995, **74**, 3-17.
- [26] Żyła K., Koreleski J., Świątkiewicz S., Wikiera A., Kujawski M., Piironen J., Ledoux D.R.: Effects of phosphorolytic and cell wall-degrading enzymes on the performance of growing broilers fed wheat-based diets containing different calcium levels. *Poultry Sci.*, 2000, **79**, 66-76.
- [27] Żyła K.: Phytase applications in poultry feeding: Selected issues. *J. Anim. Feed Sci.*, 2001, **10**, 247-258.
- [28] Żyła K., Wikiera A.: *In vitro* evaluation of commercial pectinases for possible enhancement of feed dephosphorylation by phytate - degrading enzymes. 13th European Symposium Poultry Nutrition, Oct. 2001, Blankenberge, Belgium.

THE EFFECT OF SELECTED PECTINASE AND PHOSPHATASE PREPARATIONS ON THE PHYTATE DEGRADATION IN FEEDS DIGESTED USING AN *IN VITRO* PROCEDURE

S u m m a r y

There were studied effects of seven commercial pectinase preparations on the phosphorus release from a wheat-soybean mix feed for broilers. The analyses were carried out using an *in vitro* method that simulated the digestion process and conditions in individual parts of the bird's gastrointestinal tract. In the presence of pectinases, there was a statistically significant increase in the amounts of phosphorus released from the feed that correlated well with the viscosimetrically determined overall pectinolytic activity. The determination coefficient of a linear model describing that relationship was 58.62%. The effect analysis of cooperation between the pectinolytic preparations and an 'A' phytase, which was simultaneously added to the feed, stated a favourable impact of pectinases on the efficiency of catalytic action of saturating dosages of phytase added. The ability of pectinases to enhance phytate dephosphorylation by exogenous phytase was correlated with the acid phosphatase activity ($R^2 = 93\%$) accompanying the pectinases. The enhancing effect of pectinolytic preparations on the phytate dephosphorylation was stated even in the presence of a saturating level of phytase and acid phosphatase, however, under such conditions, this effect was negatively correlated ($R = -0,949$) with the pectin esterase activity of the preparations investigated. A model of the function $y = 3,831 + 0,059/x$ was the best to describe such a negative relationship between the pectin esterase activity and the amount of phosphorus being released from a feed with the phytase and acid phosphatase dosages at a saturating level. It was quite probable that the high pectin esterase activity in pectinase preparations caused the elimination of Ca^{2+} ions from the reaction environment and stimulated the formation of pectates. The latter ones selectively decreased the efficiency of the phosphorolytic enzymes.

Key words: pectinase, phytate degrading enzymes, and feed dephosphorylation. ☒

J. JURIKOVA, M. KALACOVA, P. GRAMETBAUER

**HEAVY METAL CONTENTS (LEAD AND CADMIUM) IN SETS OF
COURSES SERVED IN MILITARY UNIVERSITY DINNING HALL
IN THE CZECH REPUBLIC**

SCIENTIFIC ANNOUNCEMENT

S u m m a r y

The evaluation of the chosen sets of courses has been done in this research work. Chemical analysis of sets of courses involved the determination of the content of toxic elements such as lead and cadmium by polarographic analyzer. The determined quantity of lead as well as cadmium did not exceed acceptable limits.

Key words: lead, cadmium, sets of courses.

Introduction

The presence of toxic elements in the foodstuff is connected among others with environmental pollution. Lead, cadmium, mercury and arsenic belong to the most important toxic elements. To the admittance of these elements into the food chain contribute the number of antropogenic and natural origin sources [1]. The average amounts of lead and cadmium in the earth crust are $13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, and $0.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively. The content of lead and cadmium is locally changeable. In slightly polluted regions the atmosphere contains $0.005\text{--}0.3 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ of lead and $0.0001\text{--}0.002 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ of cadmium. The lead and cadmium amounts detected in the atmosphere of large cities were $0.2\text{--}5 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ and $0.007\text{--}0.05 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, respectively. In natural water sources just traces of lead and cadmium can be detected. Many water organisms powerfully store up in their bodies cadmium and other elements from water. The contents of lead and cadmium in non-contaminated soils range from $5\text{--}40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and

*J. Jurikova, M. Kalacova, P. Grametbauer Nutrition Economy and Hygiene Institute, Military University of the Ground Forces (VVŠ PV)
Central Military Health Institute Prague – branch office České Budějovice*

from 0.2–1 mg·kg⁻¹ of the dry matter, respectively. The figures can be essentially higher in contaminated areas. From a point of toxic elements appearance into the food chain is not important only their content in the soil, but also the accessibility for the plants [6].

Toxic elements quantity in the food is the important indicator of hygiene-toxicologic quality (Appendix No. 3 to ordinance No. 110/1997 Sb.). The quantity of lead and cadmium in plant origin food is dependent on the quantity of these elements in the soil. Their high concentration can be found in: spinach, lettuce, carrot, mushrooms (also high concentration of mercury) [4] and oil seeds. High concentration can be found in grapes, too. In animal origin food the high concentration of the lead can be found in intestines, and especially in kidneys. Meat, eggs, milk and milk products contain just traces of lead and cadmium. Tolerated daily dose for 70 kg man is 500 µg of lead and 67–83 µg of cadmium [6].

Material and methods

The evaluation of the 13 chosen sets of courses has been done in this research work. Sets of courses have been taken from VVŠ PV dinning room.

The tested sets of courses:

1. Roasted pork, dumpling, sauerkraut.
2. Boiled beef, boiled potatoes, mixed vegetables.
3. Meat balls, potato purée, cucumber.
4. Roasted pork, potato salad, tomato.
5. Mince, boiled potatoes, sauerkraut.
6. Beef goulash, pasta, plum compot.
7. Roasted chicken, rice, cucumber salad.
8. Roasted cheese, French fries, tartar sauce.
9. Roasted cauliflower, French fries, tartar sauce.
10. Soya meat*, rice, piquant sauce.
11. Pancakes with strawberry jam.
12. Yeast plum dumplings with poppy seeds and sugar.
13. Buns with hot vanilla cream.

Four samples have been taken from every set of courses, and all the chemical analyses have been four times repeated. The result has been presented as an arithmetic mean. Sets of courses have been divided (if possible) into the components for their weight determination. Then the components have been mixed and desiccated to the

* Term „soya meat“ not allowed be used by ordinance No 329/1997 Collection of Laws (podle vyhlášky č. 329/1997 Sb. [5]) and its substitute term „soya product“ – here is old title, that is used on menu

constant weight. The dry matter was mineralized in Apion apparatus and later the concentration of the lead and cadmium has been determined by polarographic analyzer.

The results and discussion

The results of chemical analysis of the sets of courses are shown in the Tab. 1.

Table 1

The mean contents of lead and cadmium in soldiers sets of meals.

Set of courses	Weight [g]	Content of toxical elements	
		Pb [µg]	Cd [µg]
Roasted pork, dumpling, sauerkraut	507.3	15.2	9.1
Boiled beef, boiled potatoes, mixed vegetables	554.3	10.4	9.4
Meat balls, potato purée, cucumber	485.3	31.6	7.0
Roasted pork, potato salad, tomato	523.4	40.0	10.0
Mince, boiled potatoes, sauerkraut	658.9	14.8	8.1
Beef goulash, pasta, plum compot	447.3	31.1	8.7
Roasted chicken, rice, cucumber salad	644.7	7.2	5.8
Roasted cheese, French fries, tartar sauce	384.4	22.6	11.3
Roasted cauliflower, French fries, tartar sauce	382.9	56.5	2.8
Soya meat*, rice, piquant sauce	533.7	12.8	10.8
Pancakes with strawberry jam	406.2	41.8	5.0
Yeast plum dumplings with poppy seeds and sugar	556.6	7.3	14.6
Buns with hot vanilla cream	424.6	26.0	10.4

The highest content of lead has been estimated in the set of courses: Roasted cauliflower, French fries, tartar sauce. The lunch should cover about 35% of recommended daily doses of all nutrition values [3]. Second course without soup has been examined, what is about 30% of the daily dose [2]. It means, that the second course should not contain more than 30% of toxic elements daily limit. Contents of lead and cadmium have been in all the samples under the limit. It is possible to claim, that sets of courses served in VVŠ PV dinning room are from the point of the contents of toxic elements – lead and cadmium – safety.

Conclusion

It has been determined by chemical analysis, that contents of lead and cadmium in 13 sets of courses did not exceed acceptable limits.

References

- [1] Bencko V., Cikrt M., Lener J.: Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka. Praha: Grada/Avicenum, 1995.
- [2] Dostálová, J.: personal communication, 2002.
- [3] Huňková J., Dostálová, J., Ošancová, K.: Výživové hodnocení pokrmů v menzách. In: Výživa a potraviny, 2001, **56 (4)**, 115-117.
- [4] Kalač P., Šlapetová M.: Mercury contents in fruiting bodies of wild growing edible mushrooms. Potravinářské Vědy 1997, **15 (6)**, 405-410.
- [5] Příloha Č. 3 k vyhlášce: č. 298/1997 Sb. zákona č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích
- [6] Velfíšek, J.: Chemie potravin. II. díl. Tábor: OSSIS, 1999, 328.
- [7] Vyhláška M. Zeč. 329/1977 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i) a k) Zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro škrob a výrobky ze škrobu, luštěniny a olejnatá semena.

ZAWARTOŚĆ METALI CIĘŻKICH (OŁOWIU I KADMU) W ZESTAWACH DAŃ OBIADOWYCH W STOŁÓWCE WOJSKOWEJ UCZELNI W REPUBLICIE CZESKIEJ

Streszczenie

W niniejszej pracy oceniano wybrane zestawy dań, serwowanych w stołówce uczelni wojskowej w Republice Czeskiej. Analiza chemiczna obejmowała oznaczenie zawartości metali toksycznych – ołowiu i kadmu przy użyciu analizatora polarograficznego. Oznaczone ilości ołowiu i kadmu nie przekraczały dopuszczalnych wartości.

Słowa kluczowe: ołów, kadm, dania obiadowe ☒