

## SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	5
<i>Magdalena Franczyk</i> IX Ogólnopolska Sesja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ Polska Żywność – Stan obecny i perspektywy.....	7
<i>Joanna Bajerska-Jarzębowska, Jan Jeszka, Magdalena Człapka-Matyasik, Małgorzata Zielke</i> Sposób żywienia, parametry antropometryczne stanu odżywienia i wydolność fizyczna wybranej grupy studentów.....	9
<i>Joanna Bryś, Eliza Gruczyńska, Bolesław Kowalski, Katarzyna Tarnowska</i> Przeestryfikowanie mieszanin tłuszczu mlecznego i oleju rzepakowego .....	18
<i>Katarzyna Czaczyk, Kamila Myszka</i> Biosynteza egzopolisacharydów i ich rola w adhezji <i>Bacillus Megaterium</i> do powierzchni stali nierdzewnej.....	27
<i>Krzysztof Dwiecki, Aleksander Sieger, Paweł Górnaś, Małgorzata Nogala-Kalucka, Krzysztof Polewski</i> Oddziaływania membrany lipidowej z D- $\alpha$ - tokoferolem w zależności od jego stężenia .....	37
<i>Monika Dzwonek, Małgorzata Gniewosz, Wanda Duszkiewicz-Reinhard</i> Próba uzyskania nowego szczepu winiarskiego na drodze elektrofuzji protoplastów .....	45
<i>Anna Florowska, Anna Budyta, Krzysztof Krygier</i> Powstawanie i właściwości żeli inulinowych .....	56
<i>Ilona Gałązka, Robert Klewicki, Katarzyna Grzelak</i> Hydroлиза fruktanów w warunkach symulujących działanie soku żołądkowego .....	68
<i>Agnieszka Górecka, Katarzyna Niepytalska, Krzysztof Krygier</i> Badania nad zastosowaniem skrobi modyfikowanych do produkcji niskotłuszczowych, bezcholesterolowych emulsji majonezowych.....	77
<i>Radosław Gruska, Maciej Wojtczak</i> Dyfuzja wapnia do tkanki buraków cukrowych. Komunikat naukowy.....	87
<i>Monika Jarych</i> Zmiany zawartości związków węglowodanowych w bulwach ziemniaka w zależności od odmiany i dawek nawożenia azotem .....	98
<i>Katarzyna Jurek, Józef Błażewicz, Agnieszka Petrów</i> Właściwości piw wytwarzanych z dodatkiem produktów przemiału ziarna kukurydzy w warunkach uproszczonej technologii .....	109

---

<i>Stanisław Kalisz, Michał Wolniak, Marta Mitek</i> Zmiany wybranych składników bioaktywnych w dżemach truskawkowych w trakcie ich przechowywania .....	119
<i>Magdalena Kopera, Marta Mitek, Ewa Świeca</i> Zawartość substancji pektynowych w owocach trzech odmian gruszy azjatyckiej ( <i>Pyrus Pyrifolia</i> ).....	127
<i>Marta Kostičová, Lucia Güllová, Alexander Dandár</i> Ocena metod badania aktywności mikrobiologicznej podczas ekstrakcji sacharozy z buraków cukrowych.....	137
<i>Jarosław Kowalik, Sylwia Tarczyńska, Stefan Ziajka</i> Próba zastosowania impedymetrii do szacowania wzrostu drobnoustrojów. Komunikat naukowy .....	145
<i>Katarzyna Marciniak-Lukasiak, Krzysztof Krygier</i> Analiza zmian oksydacyjnych i sensorycznych mieszanin oleju rzepakowego z koncentratem oleju rybiego lub olejem lnianym.....	153
<i>Joanna Niewczas, Marta Mitek</i> Zmiany zawartości sacharydów podczas przechowywania owoców dyni olbrzymiej ( <i>Cucurbita maxima</i> ) .....	166
<i>Michał Piegza, Regina Stempniewicz, Danuta Witkowska</i> Wpływ metabolitów <i>Geotrichum candidum</i> na wzrost <i>Fusarium</i> .....	175
<i>Bartosz Sołowiej, Waldemar Gustaw, Stanisław Mleko, Sylwia Andruszczak</i> Właściwości reologiczne mieszanin gumy ksantanowej i różnych rodzajów skrobi.....	184
<i>Iwona Ścibisz, Marta Mitek, Katarzyna Serwinowska</i> Aktywność przeciwutleniająca soków i półkoncentratów otrzymanych z owoców borówki wysokiej ( <i>Vaccinium corymbosum</i> L.).....	196
<i>Ingrid Wachowicz, Ewa Czarniecka-Skubina</i> Wpływ procesu kulinarnego na wybrane mierniki jakości marchwi i buraków.....	204
<i>Anna Żbikowska, Krzysztof Krygier</i> Wpływ składu kwasów tłuszczowych na cechy miękiszu ciast biszkoptowo-tłuszczowych.....	219

JOANNA BAJERSKA-JARZĘBOWSKA, JAN JESZKA,  
MAGDALENA CZŁAPKA-MATYASIK, MAŁGORZATA ZIELKE

**SPOSÓB ŻYWIENIA, PARAMETRY ANTROPOMETRYCZNE  
STANU ODŻYWIENIA I WYDOLNOŚĆ FIZYCZNA  
WYBRANEJ GRUPY STUDENTÓW**

**Streszczenie**

Celem badań była ocena: prawidłowości komponowania racji pokarmowych, stanu odżywienia na podstawie wybranych parametrów antropometrycznych oraz wydolności fizycznej grupy studentów poznańskich uczelni.

Badania przeprowadzono z udziałem 62 studentów w wieku od 19 do 26 lat. Średnia masa ciała mężczyzn wyniosła  $79,0 \pm 15,0$  kg, a wskaźnik BMI kształtował się na poziomie  $24,4 \pm 4,7$  kg/m<sup>2</sup>. Wszyscy badani deklarowali umiarkowaną aktywność fizyczną oraz dobry ogólny stan zdrowia. Sposób żywienia studentów określono metodą 24-godzinnego wywiadu żywieniowego, przeprowadzonego trzykrotnie. Ocena stanu odżywienia obejmowała pomiary antropometryczne (BMI, WHR, grubość fałdów tłuszczowo-skórnych) oraz analizę składu ciała (tkankę tłuszczową – FM [%] i beztłuszczową masę ciała – FFM [%]) przeprowadzoną metodą impedancji bioelektrycznej, bioanalizatorem typu BIA 101S, AKERN-RJL. Wydolność fizyczną mężczyzn określono za pomocą testu Fitness, z wykorzystaniem miernika pracy serca Polar Sport Tester S-610.

Na podstawie analizy rozkładu poziomów wskaźnika BMI, przeprowadzonej zgodnie z klasyfikacją podaną przez WHO, stwierdzono, że blisko 1/3 młodych mężczyzn charakteryzowała nadwaga lub otyłość. Zawartość tłuszczu w ciele (FM) studentów kształtowała się na poziomie  $19,7 \pm 8,7\%$ , natomiast beztłuszczowa masa ciała (FFM) wyniosła  $60,1 \pm 7,0$  kg. Ocena wydolności fizycznej z wykorzystaniem testu Fitness (FT) dowiodła, że mężczyźni prezentowali przeciętny poziom wydolności fizycznej (FT:  $43,0 \pm 8,7$ ), który jednocześnie korelował z zawartością FFM w ciele ( $r = 0,58$ ,  $p < 0,001$ ). Dzielne racje pokarmowe studentów były niezbilansowane w odniesieniu do podaży tłuszczu, błonnika pokarmowego, cholesterolu, białka oraz proporcji Ca : P. Podaż tłuszczu w diecie korelowała ze wskaźnikami: BMI ( $r = 0,64$ ,  $p < 0,001$ ), WHR ( $r = 0,56$ ,  $p < 0,001$ ), udziałem tłuszczu (FM) w ciele ( $r = 0,60$ ,  $p < 0,001$ ) oraz średnią grubością fałdów tłuszczowo-skórnych ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ).

**Słowa kluczowe:** studenci, skład ciała, sposób żywienia, stan odżywienia, wydolność fizyczna.

## Wprowadzenie

W Polsce studia wyższe realizowane są najczęściej między 19–25 rokiem życia. Czas ten jest szczególnie, bowiem część studiującej młodzieży spędza ten okres poza domem rodzinnym, często w zupełnie odmiennych warunkach środowiskowych. Wielu autorów dowodzi [1, 2, 4, 9, 11, 18], że tryb życia młodzieży akademickiej jest często nieregularny, pojawiają się nałogi i błędy żywieniowe. Źle zbilansowana dieta oraz niska aktywność fizyczna stanowią poważną przyczynę rozwoju w późniejszym okresie życia chorób cywilizacyjnych, tj. otyłości, niedokrwiennej choroby serca czy cukrzycy.

W niniejszej pracy podjęto badania mające na celu ocenę prawidłowości komponowania racji pokarmowych, stanu odżywienia na podstawie wybranych parametrów antropometrycznych oraz wydolności fizycznej grupy studentów poznańskich wyższych uczelni.

## Materiał i metody badań

W badaniach uczestniczyła 62-osobowa, wybrana losowo grupa studentów, w wieku od 19 do 26 lat, z trzech poznańskich uczelni wyższych.

Stan odżywienia badanych oceniano na podstawie pomiarów antropometrycznych. Dokonywano pomiarów wzrostu (za pomocą antropometru lekarskiego z dokładnością do 0,5 cm) i masy ciała (na wadze lekarskiej z dokładnością do 0,1 kg), a następnie obliczano wskaźnik masy ciała (BMI). W interpretacji wyników zastosowano klasyfikację BMI wg kryterium WHO [19]. Pomiaru grubości fałdów skórno-tłuszczowych (z wykorzystaniem cyrkla Harpendena) dokonano w trzech zdefiniowanych anatomicznie miejscach (*Triceps* – TRC, *Subscapular* – SSC, *Abdominal* – ABD) [12]. Całkowitą zawartość wody w organizmie (TBW), masę tłuszczową (FM) oraz beztłuszczową masę ciała (FFM) określano za pomocą analizatora składu ciała typu BIA 101S, AKERN-RJL, zachowując podczas pomiarów warunki zalecane przez Lukaskiego i wsp. [6].

Ocenę sposobu żywienia studentów przeprowadzono metodą 24-godzinnego wywiadu żywieniowego, polegającą na zebraniu, drogą indywidualnego wywiadu, danych dotyczących m.in. ilości spożywanych produktów i potraw w trzech wybranych dniach tygodnia, przy wykorzystaniu „Albumu fotografii porcji produktów i potraw” [15]. Wartość energetyczną i odżywczą poszczególnych dziennych racji pokarmowych (DRP) oszacowano z wykorzystaniem programu komputerowego „Dietetyk” oraz wielkości zawartych w tabelach wartości odżywczej produktów spożywczych [5]. Uwzględniono poprawki na straty technologiczne i kulinarne. W przypadku wartości energetycznej i odżywczej, pochodzących z makroskładników, składników mineralnych, witamin B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, PP oraz błonnika pokarmowego i cholesterolu, redukcja wyniosła 10%, natomiast straty witaminy B<sub>2</sub> i C oszacowano odpowiednio na 20 i 50%. Dane o spożyciu poszczególnych studentów wyrażano jako

procent pokrycia normy żywienia na poziomie zalecanego spożycia dla osób o umiarkowanej aktywności fizycznej (1,7 PPM), opracowanej przez Ziemiańskiego i wsp. [20] lub jako procent pokrycia dolnego limitu zalecanego dziennego spożycia w przypadku błonnika pokarmowego (20–40 g/dobę) lub górnego limitu spożycia cholesterolu (300 mg/dobę), przy czym za dopuszczalne odchylenie od zalecanej normy uznano  $\pm 10\%$ .

Oceny wydolności fizycznej dokonano za pomocą testu Fitness, z wykorzystaniem miernika tętna typu Polar S-610, produkcji fińskiej, zgodnie z metodyką zalecaną przez Jackson i wsp. [3] oraz Shvartza i Reibolda [13]. Przy przeprowadzaniu testu Fitness uwzględniano następujące parametry: częstość skurczów serca w spoczynku, zmienność rytmu serca, parametry somatyczne oraz poziom aktywności fizycznej. W interpretacji wyników zastosowano siedmiostopniową klasyfikację tego testu, wg kryterium podanego przez Shvartza i Reibolda [13], określając wydolność fizyczną mężczyzn w wieku od 20 do 24 lat jako: bardzo słabą (poniżej 32 pkt), słabą (32–37 pkt), dostateczną (38–43 pkt), średnią (44–50 pkt), dobrą (51–56 pkt), bardzo dobrą (57–62 pkt) i doskonałą (powyżej 62 pkt).

Ocenę zależności badanych zmiennych przeprowadzono obliczając współczynniki korelacji Pearsona oraz stosując test  $\chi^2$ .

## Wyniki i dyskusja

Charakterystykę badanej populacji studentów przedstawiono w tab. 1.

Średnia masa ciała mężczyzn, przy wzroście  $179,0 \pm 8,0$  cm wyniosła  $76,6 \pm 15,5$  kg. Wskaźnik WHR badanych kształtował się na poziomie  $0,83 \pm 0,07$ . Przeciętną grubość fałdu skórno-tłuszczowego określono na poziomie  $8,4 \pm 4,6$  mm. Tkanka tłuszczowa (FM%) studentów poznańskich uczelni kształtowała się na poziomie  $19,7 \pm 8,7\%$ , natomiast zawartość tkanki beztłuszczowej (FFM) –  $60,1 \pm 7,0$  kg, przy czym wartości te były zbliżone do wyników studentów Akademii Medycznej w Łodzi, odnotowanych przez Trafalską [17], FM:  $19,9 \pm 7,3\%$ , FFM:  $62,4 \pm 8,1$  kg. Średnia wartość wskaźnika BMI ( $23,9 \pm 4,9$  kg/m<sup>2</sup>), zawierała się w zakresie uznanym za prawidłowy, jednak analiza rozkładu wartości tego wskaźnika w ocenianej populacji ujawniła, że aż u 28% studentów BMI przekraczało wartość 25 kg/m<sup>2</sup>, wskazując na nadwagę i otyłość. Z kolei u niewielkiego odsetka badanych (9%) stwierdzono BMI < 20 kg/m<sup>2</sup>, co może świadczyć o niedożywieniu energetycznym. Uzyskane wyniki korespondują z rezultatami badań przeprowadzonych z udziałem studentów amerykańskich [2]. W badaniach tych dowiedziono, że wśród 738 mężczyzn aż 26,5% charakteryzowała nadwaga lub otyłość. Niższy odsetek studentów z nadwagą (13%) obserwowano natomiast wśród osób studiujących medycynę w Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie [4]. Różnice te mogą być uwarunkowane doborem populacji i wyższą świadomością zdrowotną osób studiujących medycynę.

Tabela 1

Charakterystyka badanej populacji studentów.

Characteristics of the examined student population.

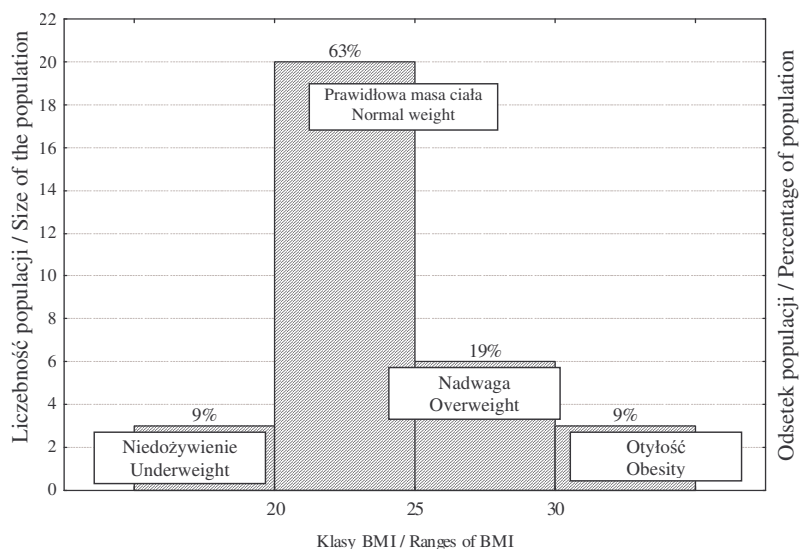
Parametry Parameters		$\bar{x} \pm SD$ n = 32;	Wartości min. – max. Min – max values
Wiek / Age	[lata] / [years]	22,0±2,0	17–26
Wzrost / Height	[cm]	179,0±8,0	164–202
Masa ciała / Body weight	[kg]	76,6±15,5	53,3–132,6
BMI	[kg/m <sup>2</sup> ]	23,9±4,5	18,0–37,3
WHR		0,83±0,07	0,69–0,99
Grubość fałdu skórno-tłuszczowego Skinfold thickness*	[mm]	8,4±4,6	4,3–24,9
FM	[%]	19,7±8,7	6,1±43,2
FFM	[kg]	60,1±7,0	45,3±77,8
Test "Fitness" / Fitness test		43,0±8,7	25,0±60,0)

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\*Wartość średnia z TRC, SSC, ABD / Mean value of TRC, SSC, ABD;

TRC – *Triceps*; SSC – *Subscapular*; ABD – *Abdominal*; BMI – wskaźnik masy ciała / body mass index;

FM – tkanka tłuszczowa / fat mass; FFM – beztłuszczowa masa ciała / fat-free mass.



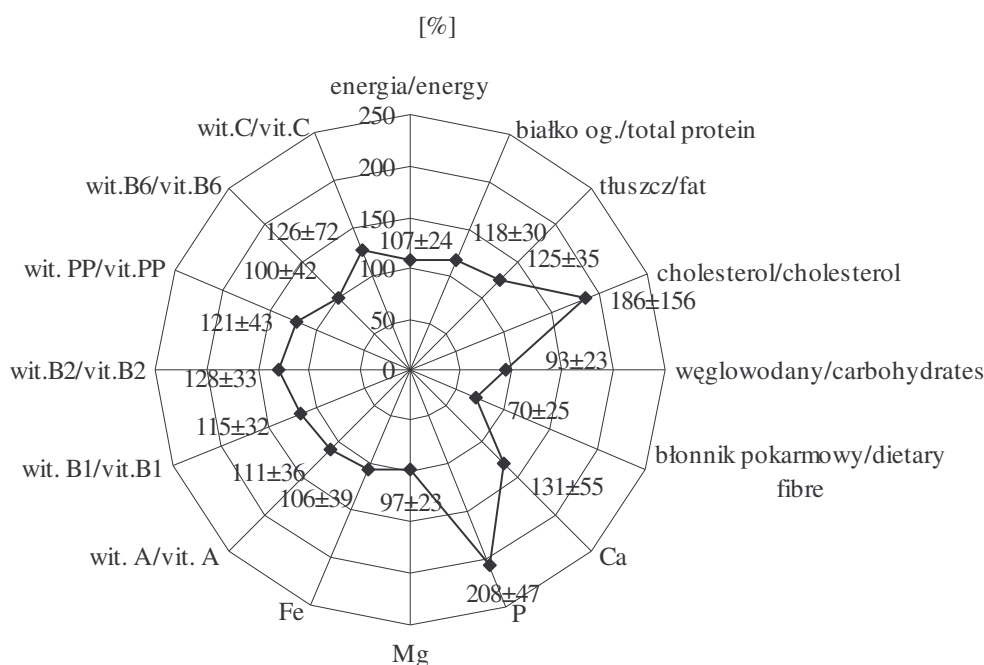
Rys. 1. Histogram rozkładu wskaźnika BMI.

Fig. 1. Distribution Histogram of a BMI index.

Odsetek pokrycia dziennego zapotrzebowania na składniki odżywcze w dziennych racjach pokarmowych (DRP) badanych mężczyzn przedstawiono na rys. 2. Racje pokarmowe studentów były prawidłowo zbilansowane pod względem podaży węglowodanów ogółem, magnezu, żelaza, witamin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, PP, B<sub>6</sub>, C. Natomiast oszacowana podaż białka, tłuszczu oraz cholesterolu ogółem przekraczała poziomy

zalecane odpowiednio o: 18, 25 oraz 86%. Odstępstwa od zaleceń stwierdzono w odniesieniu do spożycia błonnika pokarmowego (ok. 70% minimalnej ilości podawanej w zaleceniach profilaktyki żywieniowej). Ponadto należy podkreślić zadowalającą podaż wapnia ( $1045,0 \pm 445,0$  mg), ale równocześnie dwukrotnie wyższą od zalecanej podaż fosforu ( $1666,0 \pm 377,3$  mg), co wpłynęło na niewłaściwe wzajemne proporcje tych dwóch składników w diecie (1:1,5).

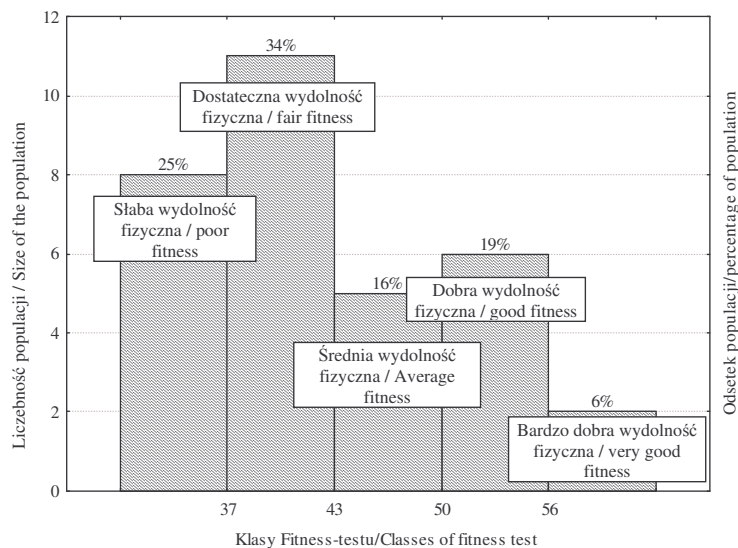
Uzyskane rezultaty są w dużym stopniu zbieżne z wynikami prac prowadzonych zarówno wśród polskich studentów [10, 11, 16], jak i młodzieży akademickiej z innych krajów [1, 2], w których przeciętna DRP wyróżniała się wyższą od zalecanej podażą tłuszczu, cholesterolu, natomiast niższą błonnika pokarmowego.



Rys. 2. Pokrycie dziennego zapotrzebowania na składniki odżywcze przez DRP badanych studentów (wartość średnia  $\pm$  SD), [%].

Fig. 2. Daily diets of examined male students, which satisfy their daily nutritional demand (mean value  $\pm$  SD), [%].

Ocena średnich wartości testu Fitness dowiodła (tab. 1), że studenci prezentowali średnio „dostateczny” poziom wydolności fizycznej ( $43,0 \pm 8,7$ ), przy czym aż 25% badanej grupy uzyskało wyniki świadczące o słabej wydolności (rys. 3). Dobrą lub bardzo dobrą wydolnością fizyczną charakteryzowało się odpowiednio 19 i 6% badanych studentów.



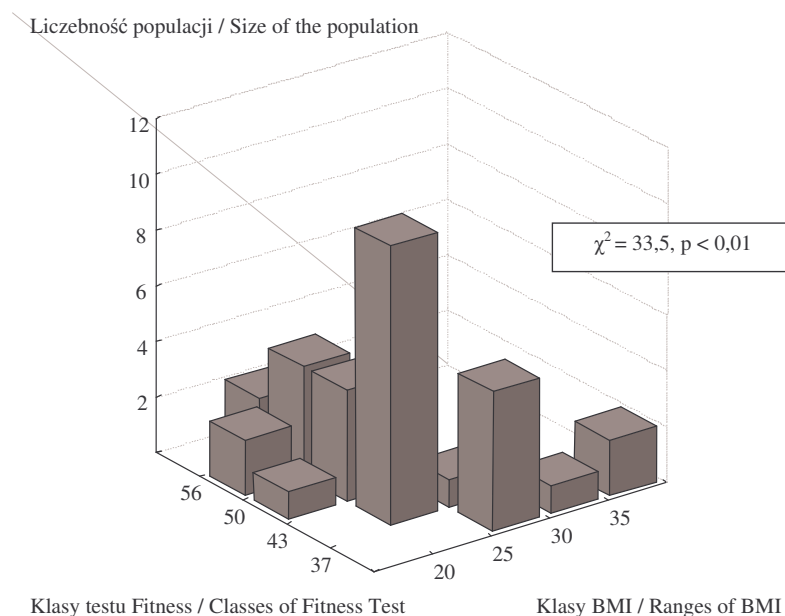
Rys. 3. Histogram rozkładu średnich wartości testu Fitness.

Fig. 3. Distribution Histogram of mean Fitness Test values.

Wydolność fizyczna badanych korelowała ze wskaźnikiem BMI ( $\chi^2 = 33,5$ ,  $p < 0,01$ ) (rys. 4), co dowodzi, że już u młodych osób nieprawidłowa masa ciała wpływa na obniżenie zdolności do wysiłku fizycznego. Nieco inne, niż uzyskane w niniejszych badaniach, wyniki wydolności fizycznej młodzieży akademickiej przedstawili Steptoe i wsp. [14]. Wspomniani autorzy dowiedli, że wydolność fizyczna 800 polskich studentów, reprezentujących uczelnie wyższe, niemających w swym programie nauczania przedmiotów związanych z promocją zdrowia, na tle młodzieży akademickiej z innych krajów europejskich w ostatniej dekadzie uległa istotnej poprawie – o 11% ( $p < 0,05$ ).

Należy również podkreślić, że badane parametry stanu odżywienia były wprost proporcjonalne do podaży tłuszczu w racjach pokarmowych studentów: BMI ( $r = 0,64$ ,  $p < 0,001$ ), WHR ( $r = 0,56$ ,  $p < 0,001$ ), FM ( $r = 0,60$ ,  $p < 0,001$ ) oraz średnia grubość fałdów tłuszczowo-skórnych ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ) (tab. 2). Natomiast wartość wskaźnika testu Fitness pozostawała w statystycznie istotnym związku z odsetkiem FFM studentów ( $r = 0,58$ ,  $p < 0,001$ ).





Rys. 4. Rozkład wartości testu Fitness oraz wskaźnika BMI w populacji studentów.

Fig. 4. Distribution of Fitness Test Values and BMI index in the male student population.

T a b e l a 2

Zależność korelacyjna pomiędzy podażą tłuszczu w diecie, wartością testu Fitness a parametrami stanu odżywienia badanych studentów.

Correlation coefficients between the dietary fat intake, fitness values and parameters of male student nutritional status.

Parametr Parameter	Podaż tłuszczu w diecie [g] Dietary fat intake [g]
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	r = 0,63, p < 0,001
WHR	r = 0,56, p < 0,001
Średni fałd skórno-tłuszczowy [mm] Mean skinfold thickness	r = 0,52, p < 0,05
FM [%]	r = 0,60, p < 0,001
Parametr Parameter	Test Fitness Fitness test
FM [%]	r = - 0,58, p < 0,001

Wydaje się, że czynnikami sprzyjającymi obserwowanym w niniejszych badaniach nieprawidłowym zachowaniom żywieniowym, znajdującym odzwierciedlenie w niekorzystnych wartościach parametrów stanu odżywienia i obniżonej zdolności do wysiłku fizycznego, mogły być zmiany środowiska i stylu

życia na charakterystyczny dla młodzieży akademickiej (np. nieregularne spożywanie posiłków, niedoceniające zdrowotnych aspektów żywienia).

### Wnioski

1. Z rozkładu wartości wskaźnika BMI wynika, że blisko 1/3 studentów uczelni poznańskich charakteryzowała nadwaga lub otyłość.
2. Dowiedziono nieprawidłowości w komponowaniu dziennej racji pokarmowej (DRP) badanych studentów, co dotyczy głównie zbyt wysokiej podaży tłuszczu, cholesterolu oraz niskiego spożycia błonnika pokarmowego i nieprawidłowego stosunku Ca : P.
3. Deklarowana przez studentów mała aktywność fizyczna znajduje odzwierciedlenie w ich niskiej wydolności fizycznej i niezbędne jest podjęcie działań zmierzających do aktywizacji ruchowej młodzieży akademickiej.
4. Wskaźniki BMI, WHR, średni fałd skórno-tłuszczowy oraz odsetek tkanki tłuszczowej w ciele pozostaje w istotnym związku z podażą tłuszczu w racjach pokarmowych badanych studentów, a udział masy tłuszczowej (FM) w ogólnej masie ciała jest ujemnie skorelowany ze wskaźnikami ich wydolności fizycznej.

### Literatura

- [1] Al-Othman A.A., Hewedy F.M.: Dietary assessment of male students: a study of what they wasted while in residence. *Nutr. Health.*, 1997, **11(3)**, 197-206.
- [2] Huang T.T., Harris K.J., Lee R.E., Nazir N., Born W., Kaur H.: Assessing overweight, obesity, diet, and physical activity in college students. *J. Am. Coll. Health.*, 2003, **52 (2)**, 83-6.
- [3] Jackson A.S., Blair S.N., Mahar M.T., Wier L.T., Ross R.M., Stuteville J.E.: Prediction of functional aerobic capacity without exercise testing. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 1990, **22(6)**, 863-70.
- [4] Kolarczyk E., Kwiatkowski J., Lang-Młynarska D.: Nutritional model and nutritional behaviors depending on BMI value among students of the Collegium Medicum of Jagiellonian University in Cracow. *Przegl Lek.*, 2003; **60 (6)**, 43-7.
- [5] Kunachowicz H, Nadolna I.: Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych. *IŻŻ*, Warszawa 1998.
- [6] Lukaski H.C, Johnson P.C.: Assessment of fat-free mass using bio-electrical impedance measurement of the human body. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1985, **41**, 810.
- [7] Lukaski H.C., Bolonchuk W.W., Hall C.B. et al.: Validation of tetrapolar bioelectrical impedance method to assess human body composition., *J. Appl. Physiol.*, 1986, **60, 4**, 1327.
- [8] Lukaski H.C., Johnson P.C., Bolonchuk W.W.: Assessment of fat-free mass using bio-electrical impedance measurement of the human body. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1985, **41**, 810.
- [9] Maaros J., Landor A.: Anthropometric indices and physical fitness in university undergraduates with different physical activity. *Anthropol. Anz.*, 2001, **59 (2)**, 157-63.
- [10] Ostrowska D., Czapska J., Karczewski J.: Wartość odżywcza żywności a stan zdrowia kohorty studentów AM w Białymstoku (badania wstępne). *Żyw. Człow. Met.*, 2001, **28 (1)** Supl., 707-713.
- [11] Ostrowska L., Czapska D., Karczewski J.: Evaluation of protein, fat and carbohydrate contents in daily dietary allowance of overweight and obese students from the Medical Academy in Białystok. *Rocz. Państw. Zakł. Hig.*, 2001, **52 (3)**, 247-56.

- [12] Raily J.J., Wilson J., Durnin J.U.G.A.: Determination of body composition from skin fold thickness: a validation study., *Arch. Dis. Child.*, 1995, **73**, 305-310.
- [13] Shvartz E., Reibold R.C.: Aerobic fitness norms for males and females aged 6 to 75 years: a review. *Aviat Space Environ Med.*, 1990, **61** (1), 3-11.
- [14] Steptoe A., Wardle J., Cui W., Bellisle F., Zotti A.M., Baranyai R., Sanderman R.: Trends in smoking, diet, physical exercise, and attitudes toward health in European university students from 13 countries, 1990-2000. *Prev Med.*, 2002, **35** (2), 97-104.
- [15] Szponar L., Wolnicka K., Rychlik E.: Album fotografii produktów i potraw. IŻŻ, Warszawa 2000.
- [16] Szymelfejnik E.J., Wądołowska L., Cichon R., Przysławski J., Bolesławska I.: Wartość odżywcza tygodniowych racji pokarmowych młodzieży akademickiej. *Żyw. Człow. Met.*, 2003, **30** (1) Supl., 120-123.
- [17] Trafalska E., Grzybowski A.: Ocena składu ciała studentów, *Żyw. Człow. Met.* 2001, **28** (1) Supl., 158-163.
- [18] Wądołowska L.: Ocena stanu odżywienia młodzieży podejmującej studia w ART w latach 1984-1990; część I. Wskaźniki antropometryczne. *Żyw. Człow. Met.*, **24**, 1-14.
- [19] WHO Raport on Consultation on the Epidemiology of Obesity. Measuring Obesity – Classification and Description of Anthropometric Data, Eur/CP/Nut 125, Warsaw 1988.
- [20] Ziemiański Ś., Bułhak-Jahymczyk B., Budzyńska-Topolowska J.: Normy żywienia dla ludności w Polsce. *Nowa Medycyna*, 5, 1995.

#### NUTRITIONAL HABITS, ANTHROPOMETRIC PARAMETERS OF NUTRITIONAL STATUS, AND PHYSICAL PERFORMANCE OF A SELECTED GROUP OF MALE STUDENTS

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

The objective of this study was to evaluate the correctness of composing dietary rations, as well as the nutritional status and physical performance parameters of a group of male students from universities in the city of Poznań. There were surveyed 62 male students aged 19 to 26 years. The average values of the body weight and BMI were  $79.0 \pm 15.0$  kg;  $24.4 \pm 4.7$  kg/m<sup>2</sup>, respectively. All the students polled declared to have good health and to be moderately physically active. The nutritional value of their diets was evaluated on the basis of a 24h dietary history, surveyed three times a week. The nutritional status (NS) was evaluated using anthropometrical parameters (BMI, WHR and skinfolds thickness) and body composition analysis (fat mass – FM% and fat-free mass – FFM% – was evaluated by bioelectric impedance technique using BIA 101S, AKERN – RJL bioanalyser). The physical performance parameter was determined by a Fitness Test (FT) and a heart rate monitor, type Polar Sport Tester S-610. The analysis of individual distribution of BMI, made according to the WHO classification, indicated that the 1/3 of the students were overweight or obese. Their FM percentage ranged from 19.7 to 8.7% and their FFM was from 60.1 to 7.0 kg. The assessment of the students' physical performance using a Fitness Test proved that the students presented an average level of physical performance (FT:  $43.0 \pm 8.7$ ), which was correlated with the FFM parameter (expressed by kg) ( $r=0.58$ ,  $p < 0.001$ ). The daily dietary rations of the students polled were unbalanced with regard to the intake of fat, dietary fiber, cholesterol, protein, and the Ca : P rate. The dietary fat intake was correlated with the indices: BMI ( $r=0.64$ ,  $p < 0.001$ ), WHR ( $r=0.56$ ,  $p < 0.001$ ), FM% ( $r = 0.60$ ,  $p < 0.001$ ), and the mean skinfold thickness ( $r=0.52$ ,  $p < 0.05$ ).

**Key words:** students, physical performance, nutritional status, nutritional habits, and body composition ☒

JOANNA BRYŚ, ELIZA GRUCZYŃSKA, BOLESŁAW KOWALSKI,  
KATARZYNA TARNOWSKA

## **PRZEESTRYFIKOWANIE MIESZANIN TŁUSZCZU MLECZNEGO I OLEJU RZEPAKOWEGO**

### Streszczenie

W pracy badano zmiany właściwości fizycznych i chemicznych mieszanin tłuszczu mlecznego z olejem rzepakowym zachodzące w wyniku przeestryfikowania. Przeestryfikowanie prowadzono w obecności preparatu enzymatycznego Novozym 435 przez 2 i 8 h w temp. 60°C. Mieszaniny fizyczne przeestryfikowywano również chemicznie w obecności metanolanu sodu, jako katalizatora, w temp. 60°C przez 0,5 i 1,5 h. W mieszaninach przed i po przeestryfikowaniu oznaczano liczbę kwasową, zawartość frakcji polarnej, temperaturę mięknięcia, zawartość fazy stałej oraz skład kwasów tłuszczowych.

W wyniku przeestryfikowania stwierdzono wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej – wyższy w mieszaninach przeestryfikowanych chemicznie. Produkty przeestryfikowania mieszaniny zawierającej 25% tłuszczu mlecznego charakteryzowały się niższą temperaturą mięknięcia oraz zawartością fazy stałej, natomiast produkty przeestryfikowania mieszaniny zawierającej 75% tłuszczu mlecznego charakteryzowały się wyższą temperaturą mięknięcia w odniesieniu do mieszanin fizycznych. Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych pomiędzy poszczególne pozycje w triacyloglicerolach było, tak jak oczekiwano, bliskie statystycznemu. Dobierając odpowiednio warunki prowadzenia procesu można uzyskać tłuszcze o różnych zastosowaniach technologicznych.

**Słowa kluczowe:** przeestryfikowanie, tłuszcz mleczny, olej rzepakowy.

### **Wprowadzenie**

Tłuszcze to jedno z najbardziej skoncentrowanych źródeł energii w naszym pożywieniu. Obok funkcji energetycznych pełnią one w organizmie ważną rolę strukturalną i ochronną. Oprócz tego są źródłem i nośnikiem wielu substancji biologicznie czynnych, w tym witamin A, D, E, K oraz niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych [3]. Zastosowanie tłuszczów naturalnych, ze względu na ich właściwości i powszechną dostępność, jest różnorodne. Tłuszcze pozyskiwane wprost z surowców roślinnych bądź zwierzęcych nie zawsze spełniają oczekiwania konsumentów, toteż często konieczna jest ich modyfikacja, mająca na celu poprawę ich jakości i funkcjonalności.

Jednym ze sposobów modyfikacji właściwości fizycznych i chemicznych tłuszczów jest przeestryfikowanie [17, 18]. Przeestryfikowanie powoduje zmianę rozkładu kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach, w wyniku czego powstają tłuszcze zmodyfikowane o pożądanym zakresie temperatury topnienia, zawartości fazy stałej oraz właściwościach krystalizacyjnych [7, 9]. W wyniku przeestryfikowania zmienia się struktura i skład triacylogliceroli, ale nie zmienia się naturalna budowa występujących w nich kwasów tłuszczowych, co powoduje, że cenne biologicznie aktywne kwasy tłuszczowe pozostają nienaruszone [5, 9].

W zależności od użytego katalizatora wyróżnia się dwa typy przeestryfikowania: chemiczne i enzymatyczne. Najczęściej stosowanym katalizatorem przeestryfikowania chemicznego jest metanolan sodu, natomiast przeestryfikowanie enzymatyczne prowadzone jest w obecności lipaz o różnej specyficzności działania [11].

Masło to jeden z podstawowych tłuszczów konsumpcyjnych. Jednak w ostatnich dwóch dekadach jego światowa konsumpcja spadła m.in. ze względu na ograniczone właściwości plastyczne [10]. Funkcjonalność tłuszczu mlecznego, jego wartość zdrowotną można polepszyć poprzez mieszanie go z olejami roślinnymi, a następnie poddawanie mieszanin przeestryfikowaniu [10]. Dobierając odpowiednio skład mieszaniny reakcyjnej oraz warunki reakcji można uzyskać nowe tłuszcze o programowanych właściwościach fizycznych i chemicznych [9].

Celem pracy było zbadanie zmian właściwości fizycznych i chemicznych mieszanin tłuszczu mlecznego z olejem rzepakowym w wyniku przeestryfikowań: chemicznego i enzymatycznego.

### **Materiał i metody badań**

Przedmiotem badań były mieszaniny tłuszczu mlecznego i oleju rzepakowego, w których tłuszcz mleczny stanowił 25, 50 i 75% (m/m) mieszaniny. Mieszaniny przeestryfikowywano enzymatycznie w temp. 60°C przez 2 i 8 godz. w obecności preparatu enzymatycznego Novozym 435, zawierającego lipazę z *Candida antarctica*, immobilizowaną na makroporowatej żywicy akrylowej. Preparat był dozowany na poziomie 8% względem masy tłuszczu. Mieszaniny fizyczne przeestryfikowywano również chemicznie w temp. 60°C przez 0,5 i 1,5 h w obecności metanolanu sodu dozowanego w ilości 1% w odniesieniu do masy tłuszczu.

W mieszaninach przed i po przeestryfikowaniu oznaczano liczbę kwasową metodą miareczkową [13] oraz zawartość frakcji polarnej metodą chromatografii kolumnowej [12]. We frakcjach triacylogliceroli wyizolowanych z mieszanin fizycznych i produktów ich przeestryfikowania oznaczano temperaturę mięknięcia metodą kapilary otwartej [14] oraz zawartość fazy stałej metodą pulsacyjnego jądrowego rezonansu magnetycznego [15]. Określano również skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej (GLC) [16] oraz ich rozmieszczenie w pozycjach *sn*-2 i *sn*-1,3 triacylogliceroli metodą Brockerhoffa [2].

## Wyniki i dyskusja

Przeestryfikowanie tłuszczów ma na celu modyfikację ich właściwości fizycznych i chemicznych. Głównym produktem reakcji jest frakcja triacylogliceroli. Po przeestryfikowaniu obok frakcji triacylogliceroli pojawiają się również pewne ilości wolnych kwasów tłuszczowych, diacylogliceroli i monoacylogliceroli, stanowiących frakcję polarną. Zwiększona zawartość frakcji nietriacyloglicerolowej może obniżać odporność tłuszczu na utlenianie, a także jest przyczyną strat substancji tłuszczowej [8]. Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w surowcach, mieszaninach fizycznych oraz w produktach ich przeestryfikowania (tab. 1) została obliczona na podstawie liczb kwasowych oraz wyników oznaczeń GLC. Bezwzględna różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wolnych kwasów tłuszczowych nie przekraczała 3% wartości średniej tych wyników, co jest zgodne z Polską Normą [13]. W mieszaninach fizycznych zwiększenie zawartości tłuszczu mlecznego powoduje wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych. Przeestryfikowanie spowodowało dalszy wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych – największy w mieszaninach przeestryfikowanych chemicznie przez 1,5 h, a najmniejszy w mieszaninach przeestryfikowanych enzymatycznie przez 2 h. Wydłużanie czasu reakcji powoduje wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w produktach przeestryfikowania. Podobną zależność zaobserwowano w przypadku zawartości frakcji polarnej w produktach przeestryfikowania (tab. 1). Najmniej frakcji polarnej zawierały mieszaniny przeestryfikowane enzymatycznie przez 2 h, natomiast najwięcej – mieszaniny przeestryfikowane chemicznie przez 1,5 h. W przypadku oznaczeń zawartości związków polarnych bezwzględne różnice pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń nie były większe niż 1%. Na podstawie zawartości wolnych kwasów tłuszczowych oraz frakcji polarnej obliczano zawartość niepełnych acylogliceroli (tab. 1). Produkty przeestryfikowania chemicznego wykazywały większą zawartość frakcji niepełnych acylogliceroli niż produkty przeestryfikowania enzymatycznego. Prawdopodobnie jest to związane z różnicami występującymi w mechanizmie przeestryfikowań: chemicznego i enzymatycznego. W pierwszym etapie przeestryfikowania chemicznego tworzy się bowiem aktywny katalizator – diacyloglicerolan sodu. Po zakończeniu przeestryfikowania katalizator ten zostaje rozłożony pod wpływem wody, powstają diacyloglicerole, a nieorganiczne produkty uboczne są usuwane wraz z fazą wodną [4].

Jednym z parametrów określających przydatność użytkową tłuszczu jest jego konsystencja. Konsystencja tłuszczu zależy m.in. od składu triacylogliceroli występujących w tłuszczu oraz od ich formy krystalicznej [6]. Najbardziej rozpowszechnionym wskaźnikiem konsystencji tłuszczów jest temperatura mięknięcia. Wykonywano dwa równoległe oznaczenia temperatury mięknięcia. Bezwzględne różnice pomiędzy wynikami nie przekraczały 0,5°C. Analizując wartości tego parametru (rys. 1) w mieszaninach fizycznych stwierdzono, że zwiększanie zawartości tłuszczu mlecznego w mieszaninie powoduje wzrost temperatury mięknięcia.

Zawartości wolnych kwasów tłuszczowych (FFA), frakcji polarnej (PF) i frakcji niepełnych acylogliceroli (MAG+DAG) w tłuszczu mlecznym (MF), oleju rzepakowym (RSO) oraz w ich mieszaninach przed i po przeestryfikowaniu.

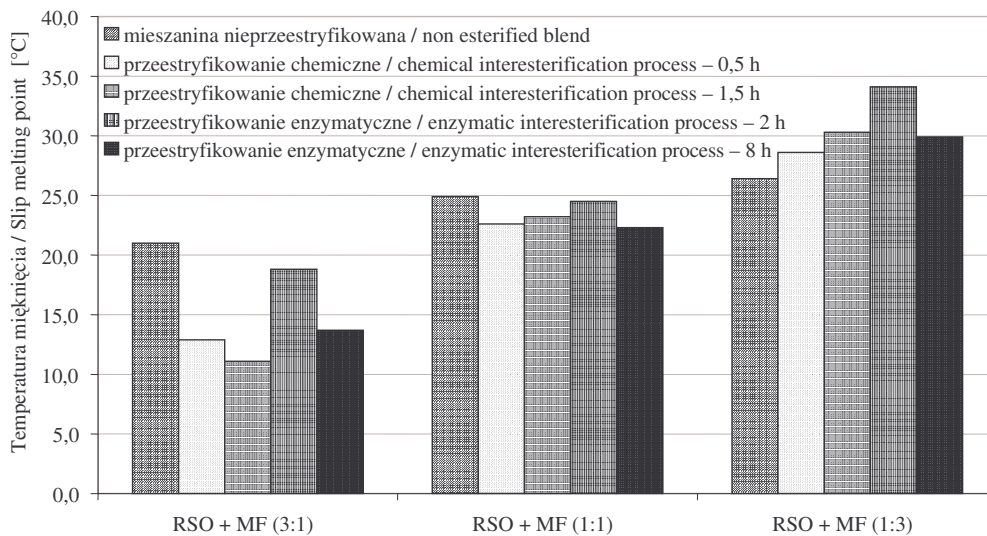
The concentration of free fatty acids (FFA) of a polar fraction (PF) and of mono- and diacylglycerols (MAG+DAG) in milkfat (MF), rapeseed oil (RSO), as well as in their mixtures prior to and after the interesterification process.

Surowce i mieszaniny nieprzeestryfikowane Raw fats and their mixtures before the interesterification process	FFA [%]	PF [%]	MAG+DAG [%]
RSO	0,1	1,6	1,5
MF	0,2	5,3	5,1
RSO + MF (3:1)	0,1	1,9	1,8
RSO + MF (1:1)	0,1	3,8	3,6
RSO + MF (1:3)	0,2	3,9	3,7
Mieszaniny przeestryfikowane chemicznie / Fat mixtures after the chemical interesterification process			
RSO + MF (3:1); Czas / Time – 0,5h	2,0	10,7	8,8
RSO + MF (1:1); Czas / Time – 0,5h	1,8	9,4	7,6
RSO + MF (1:3); Czas / Time – 0,5h	2,2	11,3	9,1
RSO + MF (3:1); Czas / Time – 1,5h	2,6	13,1	10,5
RSO + MF (1:1); Czas / Time – 1,5h	2,4	12,5	10,1
RSO + MF (1:3); Czas / Time – 1,5h	2,7	12,3	9,7
Mieszaniny przeestryfikowane enzymatycznie / Fat mixtures after the enzymatic interesterification process			
RSO + MF (3:1); Czas / Time – 2h	1,7	9,1	7,4
RSO + MF (1:1); Czas / Time – 2h	1,6	7,7	6,1
RSO + MF (1:3); Czas / Time – 2h	1,5	8,0	6,5
RSO + MF (3:1); Czas / Time – 8h	2,1	8,9	6,8
RSO + MF (1:1); Czas / Time – 8h	2,3	8,8	6,5
RSO + MF (1:3); Czas / Time – 8h	2,0	9,1	7,1

Temperatury mięknięcia produktów przeestryfikowania zależały przede wszystkim od składu mieszanin wyjściowych. W mieszaninach zawierających 25 i 50% tłuszczu mlecznego obserwowano spadek temperatur mięknięcia, natomiast w mieszaninie zawierającej 75% tłuszczu mlecznego obserwowano wzrost temperatury mięknięcia po przeestryfikowaniu. Innym wskaźnikiem konsystencji tłuszczu jest zawartość fazy stałej (rys. 2). Wykonywano dwa równoległe oznaczenia zawartości fazy stałej. Bezwzględne różnice pomiędzy wynikami nie przekraczały wartości sugerowanych przez Polską Normę [15]. Produkty przeestryfikowania mieszaniny zawierającej 25% tłuszczu mlecznego miały mniejszą zawartość fazy stałej, natomiast produkty przeestryfikowania enzymatycznego mieszaniny zawierającej 75% tłuszczu mlecznego charakteryzowały się większą zawartością fazy stałej w porównaniu z mieszaniną fizyczną. W mieszaninie zawierającej 75% tłuszczu mlecznego, po

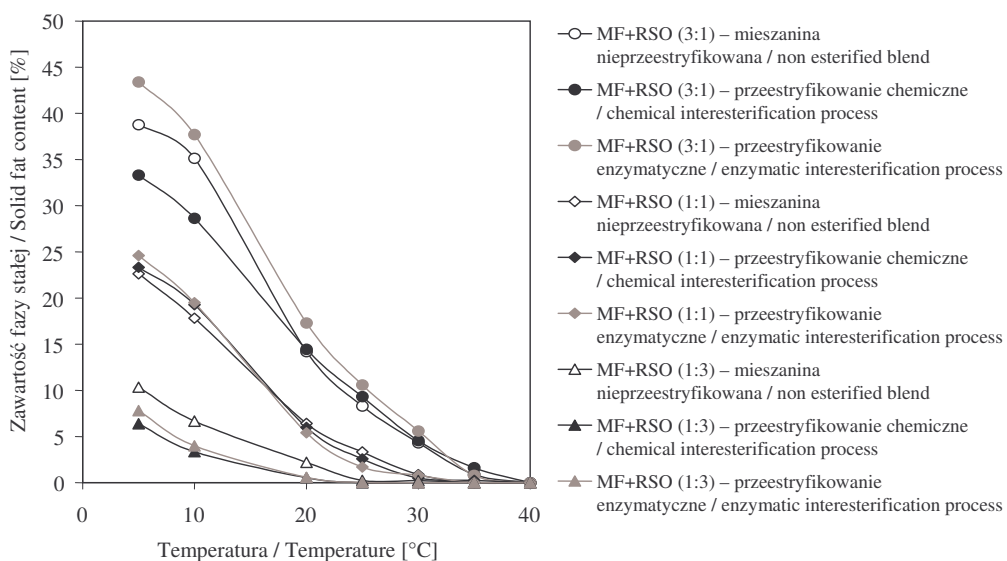


przeestryfikowaniu chemicznym obserwowano spadek zawartości fazy stałej w zakresie temp. od 5 do 20°C, natomiast w zakresie temp. od 20 do 40°C zmiany wartości tego parametru były nieznaczne. Zmiany zawartości fazy stałej w produktach przeestryfikowania mieszaniny zawierającej 50% tłuszczu mlecznego były niewielkie w odniesieniu do mieszaniny fizycznej.



Rys. 1. Temperatury mięknięcia triacylgliceroli mieszanin tłuszczu mlecznego (MF) z olejem rzepakowym (RSO) przed i po przeestryfikowaniu.

Fig. 1. Slip melting points of triacylglycerols of milkfat (MF) + rapeseed oil (RSO) mixtures before and after the interesterification process.





Rys. 2. Zawartość fazy stałej w funkcji temperatury w triacyloglicerolach mieszanin tłuszczu mlecznego (MF) z olejem rzepakowym (RSO) przed i po przeestryfikowaniu.

Fig. 2. The solid fat content profiles as a function of temperature in triacylglycerols of milkfat (MF) + rapeseed oil (RSO) mixtures before and after the interesterification process.

W badanych układach przed i po przeestryfikowaniu oznaczano skład kwasów tłuszczowych (tab. 2). W oleju rzepakowym kwasem występującym w przeważającej ilości jest kwas oleinowy. Obok kwasu oleinowego w znacznej ilości jest także kwas linolowy. W tłuszczu mlecznym w największej ilości występują kwasy palmitynowy oraz oleinowy. Tłuszcz mleczny charakteryzuje się ponadto obecnością sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA), które wywierają w organizmie wiele korzystnych efektów. Największą wagę przypisuje się ich antymutagennemu i antykancerogennemu działaniu [1]. Przeestryfikowanie nie powoduje zmian składu kwasów tłuszczowych. W trakcie przeestryfikowania zmienia się natomiast rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w pozycjach *sn*-2 i *sn*-1,3 triacylogliceroli. Zarówno metanolan sodu, jak i Novozym 435 są katalizatorami wykazującymi pozycyjną niespecyficzną, zatem rozmieszczenie kwasów tłuszczowych pomiędzy pozycje *sn*-2 i *sn*-1,3 triacylogliceroli mieszanin przeestryfikowanych jest bliskie statystycznemu (rys. 3), które należy rozumieć jako rozmieszczenie danego kwasu tłuszczowego (po 33,3%) pomiędzy trzy równocenne pozycje w cząsteczkach. Zmiana struktury triacylogliceroli powoduje zmianę konsystencji i właściwości krystalizacyjnych tłuszczu.

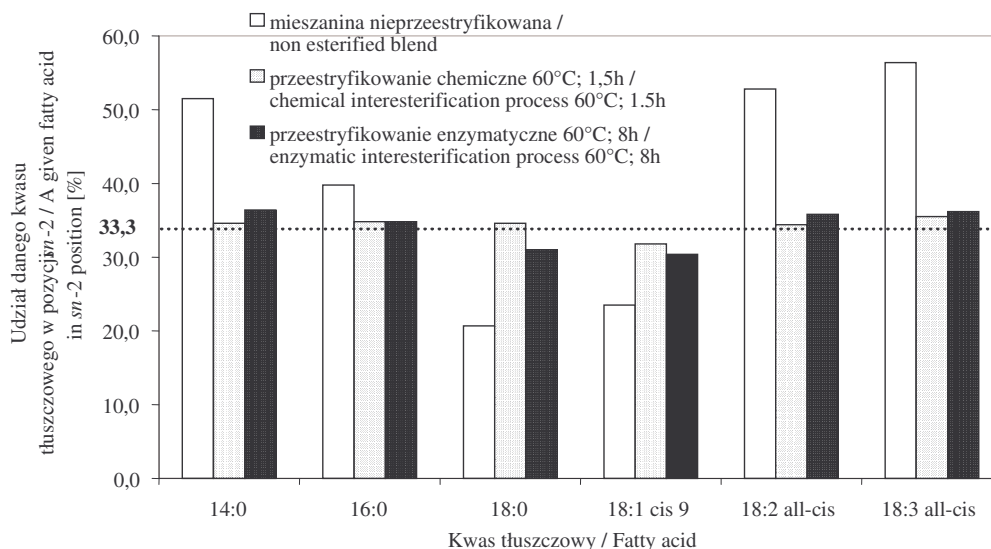
Tabela 2

Skład głównych kwasów tłuszczowych surowców wyjściowych oraz badanych mieszanin.  
The fatty acid compositions of fats under investigation.

Kwas tłuszczowy Fatty acid C n:m	Zawartość / Content [%]				
	Tłuszcz mleczny Milkfat (MF)	Olej rzepakowy Rapeseed oil (RSO)	MF + RSO (1:3)	MF + RSO (1:1)	MF + RSO (3:1)
C 4:0	2,6		0,6	1,1	1,8
C 6:0	1,7		0,4	0,7	1,1
C 8:0	1,1		0,3	0,5	0,8
C 10:0	2,4		0,6	1,3	1,6
C 12:0	3,0		0,8	1,6	2,3
C 14:0	10,9		2,7	5,4	8,3
C 16:0	29,9	4,3	10,7	16,8	24,8
C 18:0	10,6	1,8	3,3	4,9	7,3
C 18:1 (9-cis)	20,9	60,0	50,4	42,2	31,9
C 18:2 (all-cis)	1,3	17,2	15,2	10,7	6,3
C 18:3 (all-cis)	0,7	8,8	6,4	4,4	2,8
CLA	1,2		0,1	0,2	0,4
C 20:1	0,3	1,7	1,3	1,0	0,6
C 22:1 (13-cis)		0,9	0,7	0,5	0,3

n – liczba atomów węgla / number of carbon atoms;

m – liczba podwójnych wiązań / number of double bonds.



Rys. 3. Udział ważniejszych kwasów tłuszczowych w pozycji *sn-2* triacylogliceroli mieszaniny o składzie wagowym 50% MF + 50% RSO oraz w wybranych produktach jej chemicznego i enzymatycznego przeestryfikowania.

Fig. 3. The percentage of some major fatty acids in the *sn-2* position of triacylglycerols in a 50% MF + 50% RSO mixture and in some selected products obtained from the chemical and enzymatic interesterification process of this mixture.

## Wnioski

1. Przeestryfikowanie spowodowało wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej w badanych mieszaninach.
2. Największą zawartością wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej charakteryzowały się produkty przeestryfikowania w obecności metanolanu sodu.
3. Temperatury mięknięcia produktów przeestryfikowania zależały przede wszystkim od składu mieszanin wyjściowych.
4. Obniżenie temperatur mięknięcia i zawartości fazy stałej można uzyskać poddając przeestryfikowaniu mieszaninę zawierającą 25% tłuszczu mlecznego.
5. Wzrost temperatury mięknięcia i zawartości fazy stałej można otrzymać przeestryfikując enzymatycznie mieszaninę tłuszczu mlecznego i oleju rzepakowego o składzie wagowym 3:1.
6. Przeestryfikowanie nie powoduje zmiany w sumarycznym składzie kwasów tłuszczowych badanych mieszanin tłuszczów.
7. Finalne produkty reakcji o identycznym składzie kwasów tłuszczowych, lecz o różnym ich rozmieszczeniu wewnątrz i pomiędzy cząsteczkami triacylogliceroli, różnią się pod względem badanych właściwości fizycznych i chemicznych. Dobierając odpowiednie warunki procesu można uzyskać tłuszcze o różnym zastosowaniu technologicznym.

## Literatura

- [1] Bartnikowska E., Obiedziński M. W., Grześkiewicz S.: Rola i znaczenie żywieniowe sprzężonych dienów kwasu linolowego. *Przem. Spoż.*, 1999, **7 (53)**, 16-18, 42.
- [2] Brockerhoff.: A stereospecific analysis of triglycerides. *J. Lipid Res.*, 1965, **6**, 10-15.
- [3] Drozdowski B.: Lipidy. W: *Chemia żywności – pod red. Z. E. Sikorskiego*. WNT, Warszawa 2000, s. 184-227, 249-264.
- [4] Gruczyńska E., Kowalski B., Tarnowska K., Dziurosz J., Kowalska M., Bekas W.: Modification of beef tallow and its mixtures with rapeseed oil by chemical interesterification. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 2002, **79**, 391-394.
- [5] Haumann B. F.: Tools: hydrogenation, interesterification. *INFORM*, 1994, **5 (6)**, 668-678.
- [6] Jakubowski A.: Przeestryfikowanie jako metoda modyfikacji konsystencji tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 1990, **28 (2)**, 21-29.
- [7] Ledóchowska E., Datta I.: Enzymatyczne i chemiczne przeestryfikowanie mieszaniny oleju rzepakowego i stearyny palmowej. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30 (4)**, 169-183.
- [8] Ledóchowska E., Datta I.: Wpływ frakcji nietriacyloglicerolowej na stabilność oksydacyjną tłuszczu przeestryfikowanego chemicznie i enzymatycznie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **18 (1)**, 15-23.
- [9] Ledóchowska E.: Zastosowanie enzymatycznego przeestryfikowania do modyfikacji tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30 (2)**, 43-48.
- [10] Marangoni A. G., Rousseau D.: Chemical and enzymatic modification of butterfat and butterfat – canola oil blends. *Food Res. Inter.*, 1998, **31 (8)**, 595-599.
- [11] Marangoni A. G., Rousseau D.: Engineering triacylglycerols: the role of interesterification. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6**, 329-335.
- [12] PN-EN ISO 8420: 1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości związków polarnych.
- [13] PN-ISO 660: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [14] PN-ISO 6321: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie punktu topnienia w kapilarze otwartej (punkt płynięcia).
- [15] PN-EN ISO 8292: 1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości fazy stałej. Metoda pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego.
- [16] PN-EN ISO 5509: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [17] Rozenaal A.: Interesterification of oils and fats. *INFORM*, 1992, **3 (11)**, 1232-1237.
- [18] Sreenivasan B.: Interesterification of fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1978, **55**, 796-805.

## THE INTERESTERIFICATION PROCESS OF MILKFAT AND RAPESEED OIL MIXTURES

### S u m m a r y

The objective of this study was to investigate changes in the physical and chemical properties of milkfat + rapeseed oil mixtures after the interesterification process performed. The fats interesterification process was carried out 2 and 8 hours, at a temperature of 60°C, in the presence of an enzymatic preparation 'Novozym 435'. The chemical interesterification reactions were also performed in the presence of sodium methoxide used as a catalyst, at a temperature of 60°C; the reaction durations were 0.5 and 1.5 hours. The following parameters were determined in the mixtures prior to and after the interesterification process accomplished: fat acid values, polar fraction content, slip melting points, solid fat content, and fatty acids compositions.

It was stated that the intersterification process accomplished resulted in the increase in both the free fat acids content and polar fraction content, and this increase was higher in chemically interesterified

mixtures. Products of the chemical interesterification process of a mixture containing 25% milkfat showed lower slip melting temperatures and contained a solid fat fraction while products of the mixture interesterification process with the 75% milkfat content had a higher melting temperature with regard to physical mixtures. As expected, the distribution of fatty acids among the *sn*-2 and *sn*-1,3 positions of triacylglycerols of interesterified fats appeared to be close to the statistical distribution. By selecting and adjusting the conditions under which any interstrification process is conducted, it is possible to obtain final process products that are various fats of a variety of technological applications.

**Key words:** interesterification, milkfat, rapeseed oil ☒

KATARZYNA CZACZYK, KAMILA MYSZKA

**BIOSYNTeza EGZOPOLISACHARYDÓW I ICH ROLA  
W ADHEZJI *BACILLUS MEGATERIUM*  
DO POWIERZCHNI STALI NIERDZEWNEJ**

Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu dostępności składników odżywczych w środowisku wzrostu na biosyntezę egzopolisacharydów (EPS) przez *Bacillus megaterium*. Określano także zależność pomiędzy ilością produkowanych EPS a adhezją bakterii do powierzchni stali nierdzewnej (304L). W celu oszacowania ilości syntetyzowanych egzopolisacharydów zastosowano metodę polegającą na oddzieleniu ich za pomocą fal ultradźwiękowych i spektrofotometrycznym oznaczeniu po kwaśnej hydrolizie. Badanie adhezji *Bacillus megaterium* przeprowadzono nową, nieopisywaną dotąd w literaturze, metodą szacowania stopnia adhezji wg 9-stopniowej skali.

Wykazano, że w większości wariantów doświadczenia biosynteza egzopolisacharydów wystąpiła w największym stopniu w początkowych etapach hodowli (4. i 8. godzina). Przy braku źródła azotu w pożywce, przez pierwsze 24 godz. hodowli nie stwierdzono obecności pozakomórkowych węglowodanów. Ich wzmożoną produkcję odnotowano dopiero w 48 godzinie trwania procesu i to na bardzo wysokim poziomie (0,035 mg EPS/10<sup>6</sup> jtk). W większości wariantów doświadczenia wykazano korelację pomiędzy ilością syntetyzowanych egzopolisacharydów na poszczególnych etapach hodowli a adhezją komórek *Bacillus megaterium* do powierzchni stali nierdzewnej. Zaobserwowano także pojawienie się wyższych stopni adhezji przy niskiej produkcji zewnątrzkomórkowych polisacharydów, co może świadczyć o tym, że w takich warunkach inne czynniki, oprócz biosyntezy egzopolisacharydów, odgrywają istotną rolę w procesie adhezji drobnoustrojów do powierzchni nieożywionych.

**Słowa kluczowe:** egzopolisacharydy (EPS), biofilm, adhezja.

## Wprowadzenie

Egzopolisacharydy są integralną częścią błon biologicznych. Powstałe na drodze asocjacji lub polimeryzacji skupiska tych biopolimerów wypełniają puste przestrzenie między komórkami w każdym biofilmie. Substancje EPS (ang. extracellular polymeric substances) należą do czynników strukturalnych, nadających błonom biologicznym

trójwymiarową, heterogenną postać. Synteza pozakomórkowych polisacharydów przez drobnoustroje osiadłe na powierzchni sprzyja tworzeniu się populacji złożonych z kilku bądź kilkunastu różnych gatunków (w tym z mikroorganizmów niewytwarzających EPS).

Zewnątrzkomórkowe polisacharydy warunkują szybką adaptację komórek do danych warunków otoczenia [1, 10]. Powyższe substancje zabezpieczają dojrzałą postać biofilmu przed zmianami ciśnienia osmotycznego i pH środowiska. Matryca węglowodanowa skutecznie chroni mikrokolonie przed działaniem promieniowania UV, niszczącym DNA komórek [2]. Egzopolisacharydy, na drodze wymiany jonowej, utrudnionej dyfuzji czy poprzez zjawisko adsorpcji, inaktywują bądź zmniejszają wrażliwość drobnoustrojów na działanie środków antymikrobiologicznych (głównie antybiotyków).

Sacharydowe substancje polimerowe odgrywają także istotną rolę w adhezji mikroorganizmów do powierzchni i są często określane mianem „polisacharydów adhezyjnych” [6]. Największa produkcja tych substancji występuje we wczesnych etapach tworzenia się biofilmu, co wspomaga przyczepianie się komórek do płaszczyzn stałych [9]. Literatura dostarcza również przeciwnych informacji, negujących wpływ egzopolisacharydów na adhezję komórek do powierzchni ciał stałych. Parkar i wsp. [11] badając adhezję termofilnych szczepów *Bacillus* sp. do powierzchni nierdzewnej stali, nie stwierdzili zależności pomiędzy ilością syntetyzowanych na zewnątrz komórek polisacharydów a adhezją. Stwierdza się, iż usunięcie zewnętrznej warstwy polisacharydowej może jedynie ułatwić interakcje pomiędzy innymi komponentami EPS a daną powierzchnią. Ponadto niektóre z egzopolisacharydów nie uczestniczą w tworzeniu się biofilmu. Ich obecność w pustych przestrzeniach między komórkami drobnoustrojów sprzyja tylko wytworzeniu jego trójwymiarowej struktury.

Celem przedstawionych badań było określenie wpływu dostępności składników odżywczych w środowisku wzrostu na biosyntezę egzopolisacharydów przez *Bacillus megaterium* i ich roli w adhezji do powierzchni stali nierdzewnej.

## **Materiały i metody badań**

### *Mikroorganizmy*

W badaniach wykorzystano szczep *Bacillus megaterium*, pochodzący z kolekcji własnej Katedry Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Akademii Rolniczej w Poznaniu. Przed przystąpieniem do badań drobnoustroje dwukrotnie pasażowano.

### *Podłoża hodowlane*

*Bacillus megaterium* hodowano w temp. 37°C w warunkach dynamicznych (100 obr./min) na podłożu o stałej zawartości peptonu kazeinowego (10 g/l) i zmieniającym się udziale glukozy (0; 5 i 10 g/l) oraz na pożywce o stałej dostępności glukozy (5 g/l) i zmieniającym się udziale peptonu kazeinowego (0; 10 i 20 g/l) przy pH=7 pożywki w każdym wariancie doświadczenia. Czas prowadzenia hodowli wyniósł 96 godz.

### *Oznaczanie egzopolisacharydów*

Poziom wytwarzanych egzopolisacharydów oznaczano w 4, 8, 24, 48, 72 i 96 godz. trwania procesu. Płynną hodowlę *Bacillus megaterium* w ilości 100 ml wirowano przez 20 min (1000 g). Uzyskany osad zawieszano w 100 ml dejonizowanej wody i ustalano gęstość optyczną (OD<sub>540nm</sub>) odpowiadającą  $1 \times 10^6$  jtk. Komórki traktowano następnie ultradźwiękami (2 min/200 W) i wirowano przez 10 min (1000 g). Następnie 1 ml supernatantu (kroplami) wprowadzono do probówek zawierających 8 ml 99,8% roztworu alkoholu etylowego. Próby przechowywano w temp. 4°C przez 24 godz. i ponownie wirowano przez 20 min (5500 g) w temp 4°C. Po zlanii supernatantu osad egzopolisacharydów zawieszano w 1 ml wody destylowanej. Kwaśnej hydrolizy dokonywano z użyciem 7 ml 77% roztworu H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, schładzając jednocześnie próby w łaźni lodowej. Po dodaniu 1 ml 1% roztworu tryptofanu i ogrzewaniu prób w łaźni wodnej w temp. 100°C przez 20 min, dokonywano pomiaru ilości syntetyzowanych egzopolisacharydów metodą spektrofotometryczną ( $\lambda=500$  nm). Jako wzorzec zastosowano dekstran (Mp. 48000, Fluka, Szwajcaria) [3, 11].

### *Przygotowanie powierzchni do badań*

Płytki ze stali nierdzewnej (typ 304L) o wymiarach 1 cm x 6,5 cm x 1 mm, traktowano 50% roztworem HNO<sub>3</sub> w temp. 70°C przez 10 min. Po dokładnym wypłukaniu w wodzie destylowanej płytki umieszczano w szklanych naczyniach i autoklawowano (121°C, 15 min) [11].

### *Badanie adhezji*

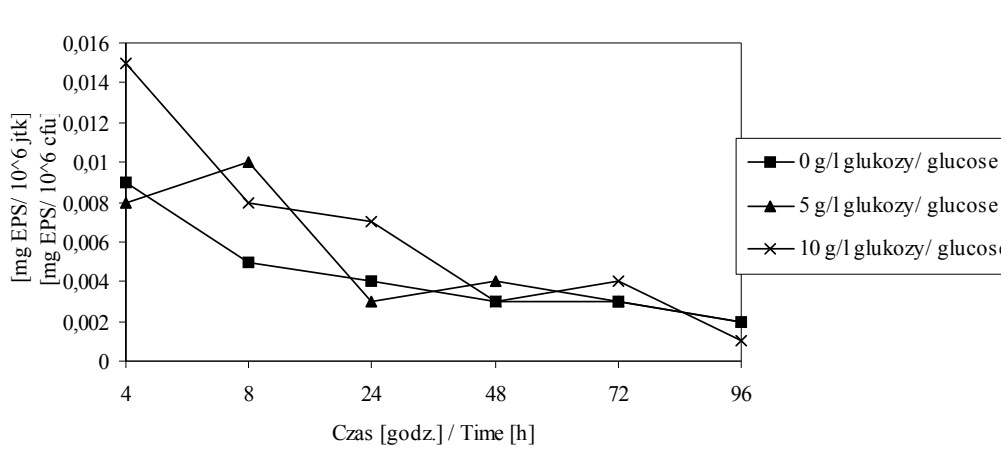
W płynnych hodowlach *Bacillus megaterium* po 4, 8, 24 i 48 godz. umieszczano płytki ze stali nierdzewnej. Po 1 godz. płytki usuwano i przemywano roztworem buforu (pH 7,2) celem usunięcia komórek nietrwale związanych z powierzchnią. Płytki zabarwiano oranżem akrydyny (0,01%) i prowadzono obserwację pod mikroskopem fluorescencyjnym (CARL-ZEISS, Axiovert 200, Niemcy). Określenia stopni adhezji komórek *Bacillus megaterium* do powierzchni stali nierdzewnej dokonano metodą opisaną przez Le Thi i wsp. [7]. Technika ta polega na oszacowaniu 50 pól widzenia wg 9-stopniowej skali:

- 1 stopień – od 0 do 5 komórek w polu widzenia;
- 2 stopień – od 5 do 50 komórek w polu widzenia;
- 3 stopień – tylko pojedyncze komórki (powyżej 50 w polu widzenia), brak mikroskopisk;
- 4 stopień – pojedyncze komórki + małe mikroskopiska;
- 5 stopień – duże skupiska, ale nie łączące się + pojedyncze komórki;
- 6 stopień – łączące się mikroskopiska + pojedyncze komórki;
- 7 stopień –  $\frac{1}{4}$  pola widzenia pokryta biofilmem;
- 8 stopień –  $\frac{1}{2}$  pola widzenia pokryta biofilmem;
- 9 stopień – całe pole widzenia pokryte biofilmem.

Każdy wariant eksperymentu składał się z dwóch doświadczeń, które przeprowadzano w dwóch powtórzeniach.

### Wyniki i dyskusja

Kinetykę produkcji egzopolisacharydów przez *Bacillus megaterium*, w zależności od dostępności glukozy oraz peptonu kazeinowego w podłożu hodowlanym, przedstawiono na rys. 1. i 2. Niezależnie od zawartości glukozy w pożywce, największą intensywność syntezy pozakomórkowych polisacharydów przez badane drobnoustroje zaobserwowano w początkowych etapach hodowli (4–8 godz.) i kształtowała się ona na poziomie 0,01–0,015 mg EPS/ $10^6$  jtk (rys. 1).



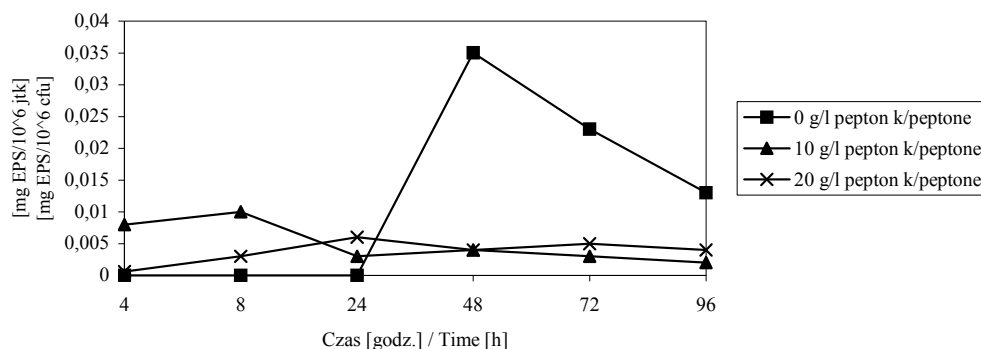
Rys. 1. Wpływ dostępności glukozy na kinetykę produkcji egzopolisacharydów przez *Bacillus megaterium*.

Fig. 1. Effect of the glucose availability on the production kinetics of exopolysaccharides by *Bacillus megaterium*.

W każdym wariancie doświadczenia odnotowano wyraźne zmniejszenie poziomu produkcji polisacharydów po 24 godz. prowadzenia eksperymentu.



Na rys. 2. przedstawiono produkcję EPS w zależności od zawartości peptonu kazeinowego w podłożu hodowlanym. Bardzo wysoki poziom syntetyzowanych egzopolisacharydów (0,035 mg/10<sup>6</sup> jtk) zaobserwowano w 48 godz. procesu przy braku źródła azotu w środowisku hodowlanym. W pozostałych wariantach doświadczenia synteza pozakomórkowych węglowodanów była znacznie mniejsza i osiągnęła maksymalną wartość 0,01 mg/10<sup>6</sup> jtk w 8 godz. procesu (10 g/l peptonu kazeinowego) i 0,006 mg/10<sup>6</sup> jtk w 24 godz. procesu (20 g/l peptonu kazeinowego).



Rys. 2. Wpływ dostępności peptonu kazeinowego na kinetykę produkcji egzopolisacharydów przez *Bacillus megaterium*.

Fig. 2. Effect of the casein peptone availability on the production kinetics of the exopolysaccharides by *Bacillus megaterium*.

W obu wariantach doświadczeń po 48 godz. hodowli produkcja egzopolisacharydów przez *Bacillus megaterium* ustabilizowała się na stałym, niskim poziomie.

Mechanizmy warunkujące syntezę EPS w komórce są bardzo złożone i obejmują zarówno regulacje pozytywne, jak i negatywne. Odpowiedzialne są za to białka obecne w środowisku wzrostu drobnoustrojów (ang. environmental sensor protein, effector protein). Zależy to także od stanu fizjologicznego komórek. Sekrecja EPS wzrasta w warunkach głodowych i spada, gdy dostępne są źródła węgla i azotu, które wykorzystywane są na wzrost i regenerację komórki. Wg Wai i wsp. [13] w warunkach głodowych następuje sekrecja amorficznych polisacharydów i ekspresja adhezyjnych EPS.

Gandhi i wsp. [5], prowadząc badania nad czynnikami determinującymi wysoką produkcję zewnątrzkomórkowych węglowodanów przez *Bacillus megaterium*, wykazali istotny wpływ związków azotu (tj. siarczanu amonu, chlorku amonu i azotu amonu) na przyrost biomasy komórek i wzrost syntezy polisacharydów. Indukujący wpływ źródła węgla (sacharozy) na syntezę egzopolisacharydów udowodniono także w badaniach prowadzonych przez Gandhi i wsp. [5], Galas i wsp. [4] oraz Lindsay i wsp. [8].

Sutherland [12] wykazał, że wpływ czasu hodowli na wytwarzanie polisacharydów drobnoustrojowych jest cechą gatunkową, a nawet szczepową. Badane szczepy

*Pseudomonas aeruginosa* prowadziły największą syntezę biopolimerów na etapie adaptacji komórek do danych warunków środowiska, a więc w początkowych godzinach trwania procesu. Podobne zależności zaobserwowano w niniejszej pracy, gdzie w większości wariantów doświadczeń największą syntezę egzopolisacharydów zaobserwowano w początkowych etapach hodowli (4 i 8 godzina).

W przedstawionej pracy badano także rolę zewnątrzkomórkowych polisacharydów w początkowych etapach tworzenia się biofilmu bakteryjnego. Zastosowanie metody opracowanej przez Le Thi i wsp. [7] pozwoliło wyeliminować błędy występujące w czasie określania liczebności przyczepionych do danych płaszczyzn komórek innymi metodami. Możliwe było także dokonanie oceny stopnia zaawansowania zjawiska powstawania biofilmu. Badanie adhezji komórek drobnoustrojów za pomocą skali 9-stopniowej jest nową metodą, dotąd nieopisywaną w literaturze. Techniki badania adhezji drobnoustrojów do powierzchni, poprzez bezpośrednie liczenie komórek pod mikroskopem, nie znajdują zastosowania przy bardziej zaawansowanych etapach tego procesu. Również metody polegające na odrywaniu komórek mikroorganizmów od badanych powierzchni i określaniu ich liczby w tradycyjnych posiewach mikrobiologicznych budzą wiele wątpliwości (możliwość uszkodzenia komórek, konieczność potwierdzenia skuteczności odczepiania).

Wyniki oceny stopnia adhezji komórek *Bacillus megaterium* przedstawiono w tab. 1. i 2.

Jako dominujące stopnie adhezji uznano te, których udział wynosił minimum 20% oraz odnotowano pojawienie się wyższych stopni adhezji. We wszystkich doświadczeniach przeważał 2. i 4. stopień adhezji, ale w poszczególnych przypadkach obserwowano także pojawienie się wyższych stopni adhezji (5–8). W większości wariantów było to wyraźnie skorelowane ze zwiększoną produkcją egzopolisacharydów przez komórki *Bacillus megaterium*. Substraty metaboliczne dostępne w środowisku wzrostu drobnoustrojów są również bezpośrednim induktorem syntezy określonego rodzaju polisacharydu zewnątrzkomórkowego. Te ściśle zdefiniowane pod względem struktury makrocząsteczki uczestniczą w powstawaniu stabilnych mechanicznie stadiów biofilmu, odpowiadających 4. oraz 5. stopniowi adhezji. Z danych przedstawionych w tab. 2. wynika, że nawet przy niskiej biosyntezie egzopolisacharydów, pojawiające się stopnie adhezji były stosunkowo wysokie. Wskazuje to na fakt, że przy obniżonej produkcji zewnątrzkomórkowych polisacharydów inne czynniki odgrywają istotną rolę w procesie adhezji drobnoustrojów do powierzchni nieożywionych. Może to być również cechą charakterystyczną dla określonego gatunku czy szczepu mikroorganizmu.

Tabela 1

Adhezja *Bacillus megaterium* do powierzchni stali nierdzewnej w zależności od dostępności glukozy w podłożu hodowlanym.  
Adhesion of *Bacillus megaterium* to a stainless steel surface depending on the glucose availability in a culture medium.

Czas hodowli [godz.] Time of incubation [h]	Stężenie glukozy [g/l] Glucose concentration [g/l]								
	0		5		10				
	mgEPS/10 <sup>6</sup> jtK mgEPS/10 <sup>6</sup> cfu	Dominujące stopnie adhezji Dominant degrees of adhesion	Pojawienie się wyższych stopni adhezji (5,6,7,8,9) Development of higher adhesion degrees (5,6,7,8,9)	mgEPS/10 <sup>6</sup> jtK mgEPS/10 <sup>6</sup> cfu	Dominujące stopnie adhezji Dominant degrees of adhesion	Pojawienie się wyższych stopni adhezji (5,6,7,8,9) Development of higher adhesion degrees (5,6,7,8,9)			
4	0,009 <sup>a</sup>	2,4	5,6	0,008 <sup>a</sup>	2,1	5	0,015 <sup>a</sup>	4,2,5	5,6,8
8	0,005 <sup>b</sup>	4,2	6	0,01 <sup>a</sup>	1,2,4	6	0,008 <sup>b</sup>	1,4	–
24	0,004 <sup>b</sup>	2	5	0,003 <sup>b</sup>	4,2	5	0,007 <sup>b</sup>	2,4,1	–
48	0,003 <sup>b</sup>	2,1	-	0,004 <sup>b</sup>	1,4,2	5	0,003 <sup>b</sup>	1	–

a, b – różnice między wartościami średnimi statystycznie istotne na poziomie  $\alpha = 0,05$ ;

a, b – Differences between the mean values, which are statistically significant at a level of  $\alpha = 0,05$ .

Tabela 2

Adhezja *Bacillus megaterium* do powierzchni stali nierdzewnej w zależności od dostępności peptonu kazeinowego w podłożu hodowlanym.  
Adhesion of *Bacillus megaterium* to a stainless steel surface depending on the casein peptone availability in a culture medium.

Czas hodowli [godz.] Time of incubation [h]	Stężenie peptonu k [g/l] Casein peptone concentration [g/l]											
	0				10				20			
	Dominujące stopnie adhezji Dominant degrees of adhesion	Pojawienie się wyższych stopni adhezji (5,6,7,8,9) Development of higher adhesion degrees (5,6,7,8,9)	Dominujące stopnie adhezji Dominant degrees of adhesion	Pojawienie się wyższych stopni adhezji (5,6,7,8,9) Development of higher adhesion degrees (5,6,7,8,9)	Dominujące stopnie adhezji Dominant degrees of adhesion	Pojawienie się wyższych stopni adhezji (5,6,7,8,9) Development of higher adhesion degrees (5,6,7,8,9)	Dominujące stopnie adhezji Dominant degrees of adhesion	Pojawienie się wyższych stopni adhezji (5,6,7,8,9) Development of higher adhesion degrees (5,6,7,8,9)	Dominujące stopnie adhezji Dominant degrees of adhesion	Pojawienie się wyższych stopni adhezji (5,6,7,8,9) Development of higher adhesion degrees (5,6,7,8,9)	Dominujące stopnie adhezji Dominant degrees of adhesion	Pojawienie się wyższych stopni adhezji (5,6,7,8,9) Development of higher adhesion degrees (5,6,7,8,9)
	mgEPS/10 <sup>6</sup> jtK mgEPS/10 <sup>6</sup> cfu		mgEPS/10 <sup>6</sup> jtK mgEPS/10 <sup>6</sup> cfu		mgEPS/10 <sup>6</sup> jtK mgEPS/10 <sup>6</sup> cfu		mgEPS/10 <sup>6</sup> jtK mgEPS/10 <sup>6</sup> cfu		mgEPS/10 <sup>6</sup> jtK mgEPS/10 <sup>6</sup> cfu		mgEPS/10 <sup>6</sup> jtK mgEPS/10 <sup>6</sup> cfu	
4	0,0 <sup>a</sup>	1	–	0,008 <sup>a</sup>	2,1	5	0,0006 <sup>a</sup>	2,1	–			
8	0,0 <sup>a</sup>	1	–	0,01 <sup>a</sup>	1,2,4	6	0,003 <sup>b</sup>	1	6			
24	0,0 <sup>a</sup>	2,4,1	5	0,003 <sup>b</sup>	4,2	5	0,006 <sup>b</sup>	4,2	5,6			
48	0,035 <sup>b</sup>	2,1	5	0,004 <sup>b</sup>	1,4,2	5	0,004 <sup>b</sup>	2,4	6,5			

a, b – różnice między wartościami średnimi statystycznie istotne na poziomie  $\alpha = 0,05$ ;

a, b – Differences between the mean values, which are statistically significant at a level of  $\alpha = 0,05$ .

Największe zaawansowanie procesu adhezji odnotowano w 4. godzinie hodowli prowadzonej na pożywce zawierającej 10 g/l glukozy. Jednym z dominujących był 5. stopień adhezji, a także pojawiły się bardziej zaawansowane etapy przyczepiania się komórek (nawet 8. stopień). W tym samym czasie obserwowano również intensywną produkcję egzopolisacharydów (0,015 mg EPS/10<sup>6</sup> jtk). Mechanizmy tego zjawiska mogą polegać na tworzeniu warstwy kondycjonującej, stwarzając korzystniejsze warunki do adhezji lub pośredniczeniu w kohezji komórek. Biosynteza EPS jest cechą gatunkową. Parkar i wsp. [11] wykazali różnice w ilości produkowanych egzopolisacharydów przez różne szczepy *Bacillus* sp. W powyższych badaniach nie stwierdzono jednak korelacji pomiędzy ilością zewnątrzkomórkowych polisacharydów a adhezją komórek do powierzchni stali nierdzewnej. Podobne zależności obserwowali Flint i wsp. [3]. Znajomość i zrozumienie mechanizmów powstawania błon biologicznych na płaszczyznach użytkowych nadal stanowi aktualny problem, a niniejsza praca jest jedynie częścią badań zmierzających do określenia czynników wpływających na ten proces.

### Wnioski

1. W większości wariantów doświadczenia największą intensywność biosyntezy egzopolisacharydów przez komórki *Bacillus megaterium* zaobserwowano w początkowych etapach hodowli (4. i 8. godzina).
2. Największą intensywność biosyntezy pozakomórkowych węglowodanów przez komórki *Bacillus megaterium* odnotowano przy największej zawartości źródła węgla w podłożu hodowlanym (10 g/l).
3. Przy braku źródła azotu, przez pierwsze 24 godziny hodowli nie stwierdzono obecności egzopolisacharydów. Ich wzmożoną produkcję odnotowano dopiero w 48 godzinie trwania procesu (0,035 mg/10<sup>6</sup> komórek).
4. W większości wariantów doświadczenia wykazano, że stopień adhezji *Bacillus megaterium* do powierzchni stali nierdzewnej jest zależny od ilości wytworzonego EPS.

Praca wykonana w ramach projektu badawczego KBN nr 3P06T 01024

### Literatura

- [1] Czaczyk K., Wojciechowska K.: Tworzenie biofilmów bakteryjnych – istota zjawiska i mechanizmy oddziaływań. *Biotechnologia*, 2003, **62**, 180-192.
- [2] Davey M. E., Otole G. A.: Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2000, **64**, 847-867.
- [3] Flint S. H., Brooks J. D., Bremer P. J.: The influence of cell surface properties of thermophilic streptococci on attachment to stainless steel. *J. Appl. Microbiol.*, 1997, **83**, 508-517.

- [4] Galas E., Barabasz-Szymańska Ł., Pankiewicz T.: Drobnoustrojowy polisacharyd - pullulan, właściwości, biosynteza i zastosowanie. *Biotechnologia*, 1998, **41**, 57-65
- [5] Gandhi H. P., Ray R. M., Patel R. M.: Exopolymer production by *Bacillus* species. *Carbohydr. Polym.*, 1997, **34**, 323-327
- [6] Langille S. E., Geesey G. G., Weiner R. M.: Polysaccharide-specific probes inhibit adhesion of *Hyphomonas rosenbergii* strain VP-6 to hydrophilic surfaces. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2000, **25**, 81-85.
- [7] Le Thi T.-T., Prigent-Combaret C., Dorel C., Lejeune P.: First Stages of biofilm formation: Characterization and Quantification of bacterial functions involved in colonization process. *Met. Enzymol.*, 2001, **336**, 152-159.
- [8] Lindsay D., Brözel V. S., Mostert J. F., von Holy A.: Physiology of dairy-associated *Bacillus* ssp. over a wide pH range. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **54**, 49-62.
- [9] Liu Y., Tay J.-H.: Detachment forces and their influence on the structure and metabolic behaviour of biofilms. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, **17**, 111-117.
- [10] Monsan P., Bozonnet S., Albenne C., Joucla G., Willemot R.-M., Remaud-Simeon M.: Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.*, 2001, **11**, 675-685.
- [11] Parkar S. G., Flint S. H., Palmer J. S., Brooks J. D.: Factors influencing attachment of thermophilic bacilli to stainless steel. *J. Appl. Microbiol.*, 2001, **90**, 901-908.
- [12] Sutherland I. W.: Biosynthesis of microbial exopolysaccharides. W: *Advances in microbial physiology*. Red: Rose A. H., Morris J. G., Academic Press London, London, 1982, pp. 79-150.
- [13] Wai S. N., Mizunoe Y., Yoshida S.: How *Vibrio cholerae* survive during starvation. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1999, **180**, 123-131.

#### BIOSYNTHESIS OF EXOPOLYSACCHARIDES AND THEIR ROLE IN THE ADHESION OF *BACILLUS MEGATERIUM* TO A STAINLESS STEEL SURFACE

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

The purpose of this investigation was to determine the effect of availability of nutritious components in a culture medium on the biosynthesis of exopolysaccharides (EPS) *Bacillus megaterium*. Furthermore, a dependence between the amount of EPS produced and the adhesion of bacteria to stainless steel surface (304L) was defined. For the purpose of determining the amount of EPS synthesized, they were separated by ultrasonic waves and, after the acid hydrolysis accomplished, a spectrophotometric assay was applied. The adhesion of *Bacillus megaterium* was investigated by an absolutely novel method of estimating degrees of adhesion on a nine-degree scale; so far, this method has not been mentioned in any literature.

It was proved that in the majority of experimental cases, the highest level of the EPS biosynthesis occurred at the beginning of this process (during the 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> hour). When the source of nitrogen was unavailable during the initial 24 hours of the process, no extracellular carbohydrates were present. An intensified production of carbohydrates was reported only during the 48<sup>th</sup> hour of the process ensuing, with a very high production level (0,035 mg EPS/ 10<sup>6</sup> cfu). In the majority of experimental cases, it was proved that a correlation existed between the amount of synthesized exopolysaccharides, at each individual stage of development of the bacterial culture, and the adhesion of *Bacillus megaterium* cells to a stainless steel surface. Additionally, it was reported that the adhesion degree of bacteria was higher during a low production of extracellular polysaccharides. This fact shows that, besides the biosynthesis of exopolysaccharides, some other factors play a significant role in the adhesion of micro-organisms to abiotic surfaces.

**Key words:** exopolysaccharides (EPS), biofilm, adhesion. ☒

KRZYSZTOF DWIECKI, ALEKSANDER SIEGER, PAWEŁ GÓRNAŚ,  
MAŁGORZATA NOGALA-KAŁUCKA, KRZYSZTOF POLEWSKI

## ODDZIAŁYWANIA MEMBRANY LIPIDOWEJ Z D- $\alpha$ -TOKOFEROLEM W ZALEŻNOŚCI OD JEGO STĘŻENIA

### Streszczenie

Celem badań było określenie mechanizmów oddziaływania cząsteczek D- $\alpha$ - tokoferolu pomiędzy sobą w zależności od stężenia w rozpuszczalnikach organicznych oraz w membranie lipidowej, stanowiącej prosty model błony komórkowej. Jednym z aspektów badań była ocena wpływu zwiększonego stężenia tego homologu na strukturę membrany.

Badania polegały na pomiarach właściwości spektroskopowych (absorbancji i emisji fluorescencji) D- $\alpha$ - tokoferolu o różnych stężeniach w membranie lipidowej, n-heksanie i metanolu.

Wyniki pomiarów absorbancji i emisji fluorescencji w rozpuszczalnikach homogenicznych dowiodły, że wzrostowi stężenia D- $\alpha$ - tokoferolu towarzyszyło powstawanie dimerów w wyniku pojawienia się niekowalencyjnych oddziaływań pomiędzy cząsteczkami tokoferolu, przy stężeniu powyżej 460  $\mu$ M w n- heksanie oraz 180  $\mu$ M w metanolu. Mechanizm oddziaływania D- $\alpha$ - tokoferolu w membranach i z membranami jest inny niż w rozpuszczalnikach homogenicznych. Stwierdzono, że D- $\alpha$ - tokoferol obecny w membranie lipidowej wywierał wpływ na jej strukturę. Monomery D- $\alpha$ - tokoferolu ulegały wbudowaniu w membranę, a przekroczenie granicznych stężeń tej substancji w błonie lipidowej (140  $\mu$ M przy stężeniu membrany 0,2 mg/cm<sup>3</sup> oraz 420  $\mu$ M w przypadku membrany o stężeniu 2 mg/cm<sup>3</sup>) powodowało zaburzenie lamelarnej struktury dwuwarstwy oraz pojawienie się konglomeratów wiążących tokoferol i usuwających go z wodnej dyspersji. Wykazano również, że dzięki wygaszaniu fluorescencji za pomocą akrylamidu, D- $\alpha$ - tokoferol łącznie z częścią chromanolową był całkowicie ulokowany w fazie lipidowej.

**Słowa kluczowe:** membrana lipidowa, D- $\alpha$ - tokoferol, fluorescencja, absorbancja.

### Wprowadzenie

D- $\alpha$ - tokoferol (D- $\alpha$ -T) jest jednym z czterech homologów tokoferolu o najwyższej aktywności witaminy E, a także najbardziej znanym naturalnym przeciwutleniaczem. Bogatym źródłem tej rozpuszczalnej w tłuszczach witaminy są oleje roślinne (zwłaszcza tłoczone na zimno) oraz warzywa zielone, np. sałata. Syntetyczny D- $\alpha$ - tokoferol używany jest w przemyśle spożywczym jako

---

*Mgr inż. K. Dwiecki, mgr inż. P. Górnaś, dr hab. K. Polewski, prof. AR, Katedra Fizyki, Akademia Rolnicza, ul. Wojska Polskiego 38/42, 60-627 Poznań, mgr inż. A. Sieger, dr hab. M. Nogala-Kałucka prof. AR, Katedra Biochemii i Analizy Żywności, Akademia Rolnicza, ul. Mazowiecka 48, 60-627 Poznań*

przeciwutleniacz i substancja wzbogacająca takie produkty, jak: bezwodny tłuszcz mleczny, margaryna, smalec, pieczywo cukiernicze, odżywki dla niemowląt i dietetyczne, płatki śniadaniowe i wiele innych. Dodatkowym źródłem D- $\alpha$ -tokoferolu dla organizmu może być suplementacja diety preparatami witaminowymi [6]. W organizmie człowieka D- $\alpha$ -tokoferol, ze względu na swą hydrofobowość, występuje między innymi w błonach komórkowych, pełniąc rolę przeciwutleniacza. W związku z tym pojawia się pytanie, w jaki sposób zwiększona ilość witaminy E oddziałuje ze składnikami membrany i jaki jest jej wpływ na strukturę samej membrany?

Hydrofobowy charakter D- $\alpha$ -tokoferolu ułatwia jego wnikanie w membranę, gdzie może oddziaływać z jej składnikami. Okazało się, że oddziaływania pomiędzy tokoferolem a kwasami tłuszczowymi, będącymi składnikami membrany, zwiększają stabilność membran. Z drugiej strony wiadomo, że D- $\alpha$ -tokoferol zmniejsza płynność membrany i obniża temperaturę głównego przejścia krystalicznego [4, 8]. Powyższe zależności obserwowano przy stężeniach tokoferolu do 10 mmol%. Można więc oczekiwać, że zwiększone ilości D- $\alpha$ -tokoferolu w membranie i jej otoczeniu będą prowadzić do zmian strukturalnych w samej membranie oraz modyfikacji istniejących oddziaływań.

Celem badań było określenie mechanizmów oddziaływania cząsteczek D- $\alpha$ -tokoferolu pomiędzy sobą w zależności od stężenia w rozpuszczalnikach organicznych oraz w membranie lipidowej, stanowiącej prosty model błony komórkowej. Jednym z aspektów badań była ocena wpływu zwiększonego stężenia tego homologu na strukturę membrany.

### **Materiał i metody badań**

W badaniach zastosowano standard D- $\alpha$ -tokoferolu, firmy Calbiochem (USA) oraz L- $\alpha$ -fosfatydylocholinę (lecytynę) z żółtka jaja, firmy Sigma Aldrich (Niemcy), o czystości 99%. Wodne zawiesiny membran przygotowywano w następujący sposób: do 2 cm<sup>3</sup> chloroformowego roztworu L- $\alpha$ -fosfatydylocholiny (PC) o stężeniu 0,2 mg/cm<sup>3</sup> dodawano 2 cm<sup>3</sup> D- $\alpha$ -tokoferolu (D- $\alpha$ -T), rozpuszczonego w n-heksanie, o stężeniu: 18, 72, 144, 290, 1160 i 2320  $\mu$ M, uzyskując w ten sposób mieszaniny w których stężenie D- $\alpha$ -T wynosiło odpowiednio: 9, 36, 72, 145, 580 i 1160  $\mu$ M. Przygotowano również zawiesiny membran, w których stężenie PC było 10 razy większe. W tym celu do 2 cm<sup>3</sup> chloroformowego roztworu PC o stężeniu 2 mg/cm<sup>3</sup> dodano 2 cm<sup>3</sup> D- $\alpha$ -T, rozpuszczonego w n-heksanie, o stężeniu: 12, 58, 116, 232, 464, 928 i 1856  $\mu$ M, uzyskując mieszaniny w których stężenie D- $\alpha$ -T wynosiło odpowiednio: 6, 29, 58, 116, 232, 464 i 928  $\mu$ M. Otrzymane mieszaniny odparowano w celu wytworzenia cienkiej warstwy filmu lipidowego. Powstałe filmy uwodniono poprzez intensywne ich mieszanie w wodzie bidestylowanej (10 cm<sup>3</sup>), w temp. powyżej głównego przejścia krystalicznego (51°C), przez 20 min.

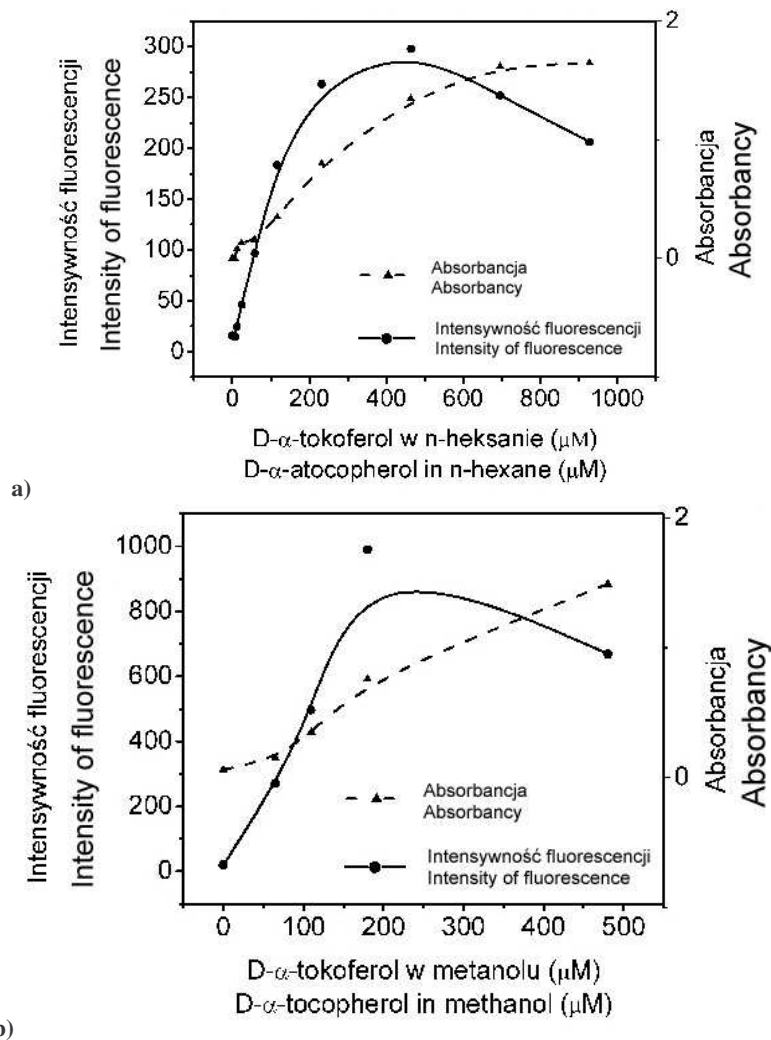


Pomiarów widm emisji fluorescencji dokonano za pomocą spektrofluorymetru RF 5001 PC firmy Shimadzu, przy długości fali wzbudzenia równej 295 nm. Do pomiarów widm absorpcji użyto spektrofotometru Top Sensor System firmy Ocean Optics (Holandia). Wszystkie pomiary wykonywano w temp. 22°C, a więc w fazie żelowej membrany lipidowej, bezpośrednio po przygotowaniu próbek. W celu zbadania wpływu środowiska dielektrycznego na właściwości D- $\alpha$ - tokoferolu zmierzono jego widma fluorescencji w rozpuszczalnikach organicznych: n-heksanie i metanolu o różnych stałych dielektrycznych. Wykorzystano zjawisko endogennej fluorescencji monomeru tokoferolu z maksimum emisji przy długości fali  $\lambda = 325$  nm oraz fakt, że formy dimerów czy też utlenione monomery takiej fluorescencji nie wykazują.

## Wyniki i dyskusja

### *Absorpcja i fluorescencja*

Na rys. 1a i 1b przedstawiono zmiany natężenia maksimum emisji oraz maksimum absorpcji przy długości fali  $\lambda = 295$  nm w n-heksanie oraz metanolu w zależności od stężenia  $\alpha$ -tokoferolu. Początkowo wzrost stężenia tokoferolu w n-heksanie i metanolu prowadził do liniowego wzrostu emisji i absorpcji. Dalsze zwiększanie stężenia tokoferolu powodowało, że zależność stawała się nieliniowa, a następnie natężenie emisji zaczęło się zmniejszać. Zakres stężenia tokoferolu, przy którym zależność ta była liniowa, był różny w zależności od rozpuszczalnika. W n-heksanie wynosił 0–460  $\mu$ M, podczas gdy w metanolu było to 0–180  $\mu$ M. Krzywe miały podobny kształt bez względu na rodzaj rozpuszczalnika, w którym rozpuszczony był D- $\alpha$ -T, co sugeruje ten sam mechanizm obserwowanego zjawiska. Wzrost absorpcji przy  $\lambda = 295$  nm jest liniowy ze wzrostem stężenia tokoferolu oraz jest kolinearny z liniowym wzrostem fluorescencji. Dopiero po osiągnięciu stężenia 460  $\mu$ M w n-heksanie oraz 180  $\mu$ M w metanolu zależność ta miała charakter nasyceniowy. Obserwowana przy wyższych stężeniach tokoferolu stała wartość absorpcji z jednoczesnym wygaszaniem fluorescencji wskazuje na tworzenie się asocjatów tokoferoli, prawdopodobnie dimerów. Podczas wygaszania fluorescencji nie obserwowano ani zmiany położenia maksimum emisji, ani nie pojawiało się nowe pasmo emisji, można więc powiedzieć, że zjawisko to było związane z pojawieniem się niekowalencyjnych oddziaływań pomiędzy cząsteczkami tokoferolu. Emisja obserwowana przy  $\lambda = 325$  nm pochodziła z monomeru tokoferolu i po przekroczeniu określonego stężenia następowało jej wygaszanie, co powinno powodować zmniejszanie się absorpcji monomeru. Sugeruje się więc, że stała wartość



Rys. 1. Zmiany maksimum widm absorpcji i fluorescencji D- $\alpha$ - tokoferolu w: a) n-heksanie; b) metanolu.

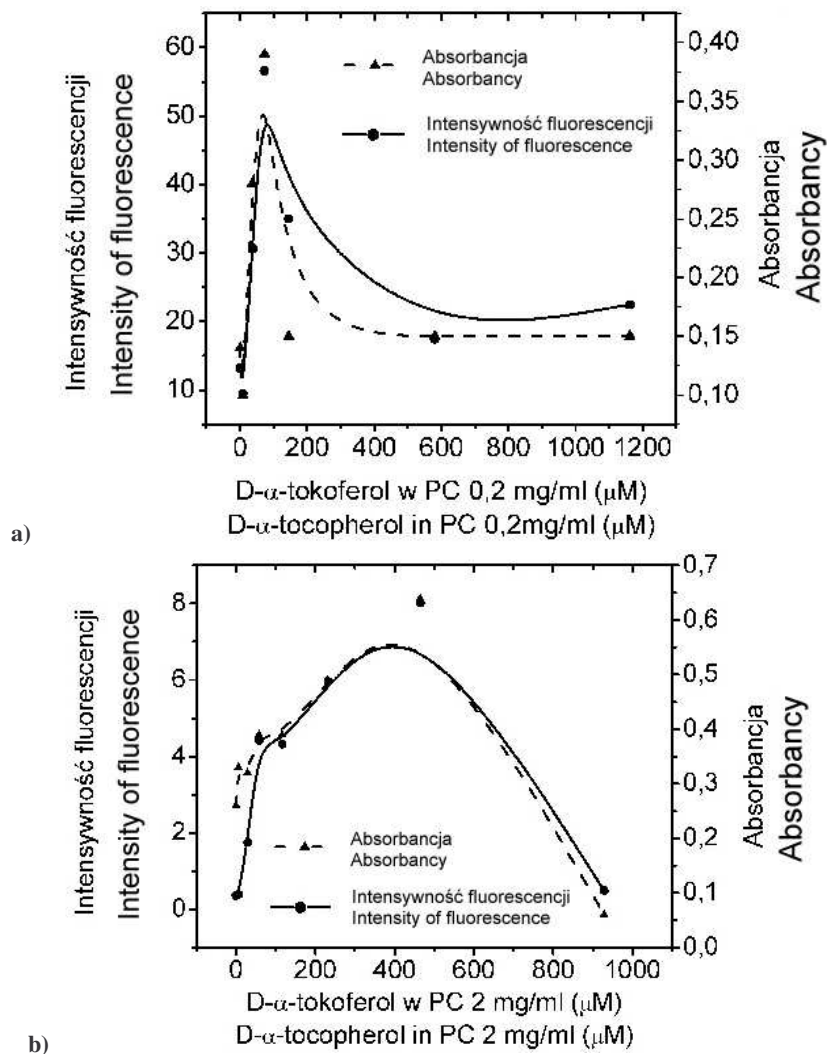
Fig. 1. Changes in the maximum values of absorbance and fluorescence spectra of D- $\alpha$ -tocopherol in: a) n-hexane; b) methanol.

absorbancji wynikała z faktu, że powstające asocjaty miały widma absorpcji w tym samym zakresie spektralnym. To powodowało, że zmierzona absorbancja była sumą pochodzącą od formy monomeru i dimeru. Wiadomo, że hydrofobowe molekuly w rozpuszczalnikach o niskiej stałej dielektrycznej mają tendencję do tworzenia dimerów lub asocjatów, co z kolei może zmieniać ich właściwości spektralne, np. fluorescencję. W n-heksanie w miarę wzrostu stężenia tokoferolu oddziaływania pomiędzy jego

cząsteczkami zwiększają się i po przekroczeniu określonego stężenia stają się silniejsze od oddziaływań pomiędzy tokoferolem a n-heksanem. Prowadzi to do powstawania asocjatów tokoferolu i związane jest z wygaszaniem fluorescencji pochodzącej z monomeru. Metanol, jako rozpuszczalnik protyczny, poprzez wiązania wodorowe tworzy usieciowaną strukturę rozpuszczalnika, co powoduje, że hydrofobowe molekuly są zmuszane do tworzenia asocjatów już przy mniejszych stężeniach niż w n-heksanie. Prowadzi to również do wygaszania fluorescencji pochodzącej z monomeru tokoferolu.

Na podstawie przedstawionych wyników można stwierdzić, że zarówno otoczenie dielektryczne, jak i forma tokoferolu miały wpływ na jego właściwości spektralne. Dokładna struktura powstających asocjatów nie jest jeszcze znana.

Podobne pomiary zależności zmian natężenia maksimum fluorescencji i absorbancji od stężenia tokoferolu przeprowadzono w membranie lipidowej PC o stężeniach 0,2 i 2 mg/cm<sup>3</sup>. Wyniki przedstawiono na rys. 2a i 2b. W przypadku obydwu stężeń membrany wzrost natężenia fluorescencji oraz absorbancji był dodatnio skorelowany ze wzrostem stężenia tokoferolu w membranie PC, co świadczy o wbudowywaniu się monomerów tokoferolu w błonę lipidową. Przy mniejszym stężeniu membrany wynoszącym 0,2 mg/cm<sup>3</sup> liniowy wzrost fluorescencji i absorbancji osiągnął maksimum przy stężeniu 140  $\mu$ M tokoferolu. Dalsze zwiększanie stężenia D- $\alpha$ -T prowadziło do gwałtownego spadku fluorescencji i absorbancji do poziomu 20% ich wartości maksymalnych i dalej pozostawało na tym poziomie. Przy stężeniu membrany 2 mg/cm<sup>3</sup> stwierdzono, że wzrost fluorescencji w zależności od stężenia składał się z dwóch prostoliniowych odcinków. Jeden o nachyleniu podobnym jak w przypadku membrany 0,2 mg/cm<sup>3</sup> i kończył się przy stężeniu ok. 150  $\mu$ M. Od tego stężenia rozpoczynała się druga prosta o mniejszym nachyleniu, która osiągała maksimum przy stężeniu tokoferolu 420  $\mu$ M. Dalsze zwiększanie stężenia tokoferolu prowadziło do zmniejszania fluorescencji i absorbancji. Takie zachowanie sugeruje, że mechanizm oddziaływania tokoferolu w membranach i z membranami jest inny niż obserwowany w rozpuszczalnikach homogenicznych. Równoczesny spadek fluorescencji i absorbancji wskazuje, że w membranie w obecności określonego stężenia tokoferolu zachodziły przemiany fazowe prowadzące do powstania nowych form. Mogła to być zmiana fazy z lamelarnej na heksagonalną II [1]. Powstające konglomeraty typu: odwrotne micelle wiązały dostępny tokoferol i usuwały go z wodnej dyspersji. Obserwowana w przypadku większego stężenia membrany liniowa zależność natężenia fluorescencji o mniejszym nachyleniu mogła wskazywać na to, że tokoferol wbudowany był w wewnętrzne warstwy wielowarstwowego liposomu, przez co natężenie jego fluorescencji było częściowo ekranowane, na co wskazywały mniejsze zmiany natężenia emisji ze wzrostem stężenia [2, 3, 5, 7].



Rys. 2. Zmiany maksimum widm absorbancji i fluorescencji D- $\alpha$ -tokoferolu w wodnej zawieszynie membrany lipidowej o stężeniu: a) 0,2 mg/cm<sup>3</sup> b) 2 mg/cm<sup>3</sup>.

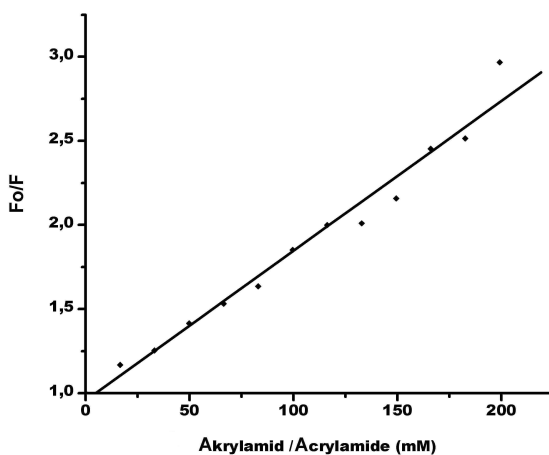
Fig. 2. Changes in the maximum values of absorbance and fluorescence spectra of D- $\alpha$ -tocopherol in aqueous lipid dispersion at concentration: a) 0.2 mg/cm<sup>3</sup>; b) 2 mg/cm<sup>3</sup>.

### Wygaszanie fluorescencji

W celu określenia lokalizacji tokoferolu dodanego do membrany lipidowej przeprowadzono pomiary wygaszania jego fluorescencji. Użyto jodku potasu jako wygaszacza fluorescencji w fazie wodnej oraz akrylamidu jako wygaszacza fluorescencji w fazie lipidowej. Wyniki pomiarów wygaszania fluorescencji tokoferolu przez akrylamid, przedstawiono na rys. 3. Jodek potasu nie wpływał na natężenie fluorescencji. Świadczy to o tym, że tokoferol był całkowicie ulokowany w fazie

lipidowej łącznie z częścią chromanolową, a oddziaływanie pomiędzy tokoferolem a akrylamidem prowadziło do zmniejszenia fluorescencji tokoferolu [3].

Duże dawki przeciwutleniaczy dodawane do żywności nie muszą oznaczać jednoznacznie ich korzystnego wpływu na organizm człowieka. Badania na układach modelowych pozwalają poznać mechanizmy oddziaływania pomiędzy tokoferolem a membrana lecytynową, dzięki czemu możemy przewidzieć wpływ tej substancji na lipidowy rdzeń błony komórkowej, a tym samym przewidzieć efekty uboczne związane z nadmiarem przeciwutleniaczy stosowanych w żywności.



Rys. 3. Wygaszanie fluorescencji D- $\alpha$ -tokoferolu w membranie PC, o stężeniu 0,2 mg/cm<sup>3</sup>, za pomocą akrylamidu.

Fig. 3. Quenching the fluorescence of D- $\alpha$ -tocopherol in 0.2 mg/cm<sup>3</sup> PC membrane with acrylamide.

### Wnioski

Ilość D- $\alpha$ -tokoferolu, który może być wbudowany w membranę bez zmiany jej fazy jest ograniczona. Przekroczenie granicznego stężenia D- $\alpha$ -tokoferolu –140  $\mu$ M przy stężeniu membrany 0,2 mg/cm<sup>3</sup> oraz 420  $\mu$ M w przypadku membrany o stężeniu 2 mg/cm<sup>3</sup> – powoduje przejście fazowe membrany i powstanie konglomeratów, w których tokoferol nie wykazuje fluorescencji.

*Praca została wykonana częściowo w ramach grantu KBN 2 P06T 016 27*

### Literatura

- [1] Asai Y., Nomura T., Watanabe S.: Interaction of  $\alpha$ -tocopherol and soybean oil with phosphatidylcholine and their formation of small dispersed particles. *J. Colloid Interface Sci.*, 1999, **214**, 79-84.
- [2] Dave P.C.: Investigating structural changes in the lipid bilayer upon insertion of the transmembrane domain of the membrane-bound protein phospholamban utilizing 31P and 2H solid-state NMR spectroscopy. *Biophys. J.*, 2004, **86** (3), 1564-1573.

- [3] Gaede H.C., Gawrisch K.: Lateral diffusion rates of lipid, water, and a hydrophobic drug in a multilamellar liposome. *Biophys. J.*, 2003, **85** (3), 1734-1740.
- [4] Gutierrez M.E., Garcia A.F., Africa de Madariaga M., Sagrista M.L., Casada F.J., Mora M.: Interaction of tocopherols and phenolic compounds with membrane lipid components: Evaluation of their antioxidant activity in a liposomal model system. *Life Science*, 2003, **72**, 2337-2360.
- [5] Mukhopadhyay P., Vogel H.J., Tieleman D.P.: Distribution of pentachlorophenol in phospholipid bilayers: A molecular dynamics study. *Biophys. J.*, 2004, **86** (1), 337-345.
- [6] Rutkowski A., Gwiazda S., Dąbrowski K.: *Substancje dodatkowe i składniki funkcjonalne żywności*, Agro Food Technology, Czeladź 1997.
- [7] Vogel A., Scheidt H.A., Huster D.: The distribution of lipid attached spin probes in bilayers: Application to membrane protein topology. *Biophys. J.*, 2003, **85** (3), 1691-1701.
- [8] Wang X., Quinn P.: Vitamin E and its function in membranes. *Progress in Lipid Research*, 1999, **38**, 309-336.

## **INTERACTIONS BETWEEN THE LIPID MEMBRANE AND D- $\alpha$ -TOCOPHEROL DEPENDING ON ITS CONCENTRATION**

### S u m m a r y

The objective of the investigations performed was to determine the mechanism of interactions between particles of D- $\alpha$ -tocopherol in relation to its concentration in organic solvents and in a lipid membrane. The latter one is the simple model of a cellular membrane. One of the aspects investigated was to assess the impact of increased concentration of this homologue on the membrane structure.

The investigations in question comprised measurements of spectroscopic properties (absorbance and emission of fluorescence) of D- $\alpha$ -tocopherol showing different concentration levels in the lipid membrane, methanol, and n-hexane.

Results of the measured values of absorbance and emission of fluorescence showed that dimers were formed while the concentration value of D- $\alpha$ -tocopherol increased. The formation of dimers resulted from the fact that particles of D- $\alpha$ -tocopherol began to non-covalently interact among each other as soon as the concentration level was over 460  $\mu\text{M}$  in n-hexane, and 180  $\mu\text{M}$  in methanol. The mechanism of D- $\alpha$ -tocopherol interacting in membranes and with membranes differs from the mechanism of such an interaction in homogeneous solvents. It was stated that when D- $\alpha$ -tocopherol was present in the lipid membrane, then, it impacted the structure of this membrane. The monomers of D- $\alpha$ -tocopherol were built into the membrane, and when the concentration of D- $\alpha$ -tocopherol exceeded the limiting concentration levels in the lipid membrane (140  $\mu\text{M}$  at a concentration level of the membrane of 0.2 mg/cm<sup>3</sup>, and 420  $\mu\text{M}$  – at 2 mg/cm<sup>3</sup>), the lamellar structure of bilayer was disordered, and conglomerates appeared, which bonded the D- $\alpha$ -tocopherol and removed it from the aqueous dispersion. It was also evidenced that owing to quenching the fluorescence with acrylamide, the D- $\alpha$ -tocopherol including the chromanol ring were entirely located in the lipid phase.

**Key words:** lipid membrane, D- $\alpha$ -tocopherol, fluorescence, absorbance ☒

MONIKA DZWONEK, MAŁGORZATA GNIEWOSZ,  
WANDA DUSZKIEWICZ-REINHARD

### PRÓBA UZYSKANIA NOWEGO SZCZEPU WINIARSKIEGO NA DRODZE ELEKTROFUZJI PROTOPLASTÓW

#### Streszczenie

Przeprowadzono elektrofuzję protoplastów pomiędzy przemysłowym szczepem winiarskim *Saccharomyces cerevisiae* S.o./2 i szczepem *S. cerevisiae* rho<sup>-</sup> ATCC 38637, stosowanym do odkwaszania moszczów gronowych po zakończeniu fermentacji alkoholowej. W celu wytypowania markerów pozwalających na izolację fuzantów określono zdolność obu szczepów drożdży do asymilacji różnych źródeł węgla oraz do wzrostu na podłożach o podwyższonym stężeniu sacharozy lub cykloheksimidu.

Przed procesem elektrofuzji optymalizowano protoplastyzację, stosując różne enzymy lityczne, dobierając odpowiednio ich dawki oraz kombinacje. Jednocześnie ustalono właściwe parametry przebiegu elektrofuzji.

Z grupy fuzantów wybrano dwie stabilne hybrydy (F1 i F2) i poddano charakterystyce w kierunku określenia zawartości DNA w komórce, zdolności przemiany kwasu jabłkowego do kwasu mlekowego oraz produkcji etanolu. Otrzymane wyniki wskazują, że obydwa szczepy mają zwiększoną zawartość DNA w komórkach. Fuzanty prowadziły fermentację jabłczanowo-mleczanową o wydajności porównywalnej ze szczepem *S. cerevisiae* rho<sup>-</sup> ATCC 38637 i fermentację alkoholową na poziomie porównywalnym ze szczepem *S. cerevisiae* S.o./2.

**Słowa kluczowe:** elektrofuzja protoplastów, fermentacja jabłczanowo-mleczanowa, *Saccharomyces cerevisiae*.

#### Wprowadzenie

Postęp w biotechnologii i inżynierii genetycznej umożliwił zastosowanie nowych metod genetycznej modyfikacji szczepów stosowanych w przemyśle fermentacyjnym. Dotychczas stosowane metody modyfikacji polegające na doborze naturalnym, selekcji oraz adaptacji środowiskowej są coraz częściej zastępowane technikami pozwalającymi na dokonywanie pożądaných zmian genetycznych w określonym



kierunku [9]. Najczęściej, z praktycznego punktu widzenia, manipulacje te prowadzą się do połączenia pozytywnych cech szczepów wyjściowych w celu otrzymania nowych szczepów o określonym fenotypie. Do najważniejszych metod modyfikacji genetycznych drożdży *Saccharomyces cerevisiae* należą: mutagenizacja, naturalna hybrydyzacja płciowa, cytotukcja, transformacja oraz fuzja protoplastów [1, 11, 12, 13].

Szczepy drożdży, które nie mogą w naturalny sposób łączyć się na drodze płciowej lub paraseksualnej mogą być krzyżowane na drodze somatycznej fuzji protoplastów. Od strony technicznej fuzję protoplastów można przeprowadzić dwoma sposobami. Pierwszy sposób polega na wirowaniu mieszaniny komórek pozbawionych ściany komórkowej w środowisku 30% glikolu polietylenowego (PEG) o masie cząsteczkowej 4000–6000. Drugim sposobem umożliwiającym rekombinację materiału genetycznego jest wykorzystanie zjawiska elektrofuzji protoplastów, podczas której pod wpływem pola elektrycznego następuje łączenie się komórek. Po prawidłowo przeprowadzonym procesie fuzji protoplastów należy stworzyć komórkom właściwe warunki regeneracji ściany komórkowej na odpowiednio skomponowanym podłożu izoosmotycznym. Podłoże regeneracyjne powinno zawierać także czynniki selektywne, umożliwiające wzrost jedynie produktom fuzji [4].

W procesie produkcji wina bardzo często istnieje konieczność obniżenia kwasowości moszczów. Nadmiar kwasów usunąć można przez kupażowanie i rozcieńczanie, na drodze chemicznej neutralizacji kwasów, jednakże techniki te nie zawsze prowadzą do pożądaných rezultatów i często związane są z pogorszeniem cech sensorycznych wina [14]. Kwasowość win gronowych pochodzi od dwóch kwasów: winowego i jabłkowego, który może być metabolizowany przez bakterie mlekowe *Leuconostoc oenos* i *Lactobacillus plantarum* oraz drożdże rozsączkowe *Schizosaccharomyces pombe*, prowadząc do obniżenia kwasowości ogólnej wina [4, 14]. Drożdże winiarskie *S. cerevisiae* prowadzą biodegradację kwasu jabłkowego na bardzo niskim poziomie, a wprowadzenie do procesu fermentacji win innych mikroorganizmów wiąże się z wystąpieniem niekorzystnych interakcji pomiędzy populacjami, co przyczynia się do obniżenia cech jakościowych produktu finalnego [3, 5].

Celem pracy było uzyskanie techniką elektrofuzji protoplastów nowego szczepu przemysłowych drożdży winiarskich o zdolnościach przeprowadzania fermentacji jabłczanowo-mleczanowej.

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły szczepy: *Saccharomyces cerevisiae* S.o./2 rasy Bratysława, pochodzący z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii



i Mikrobiologii Żywności SGGW w Warszawie oraz rho<sup>-</sup> mutant szczepu *S. cerevisiae* ATTC 38637, mający zdolność przemiany kwasu jabłkowego do kwasu mlekowego.

W celu wytypowania markerów umożliwiających izolację produktów fuzji określano wybrane cechy szczepów rodzicielskich użytych do fuzji, takie jak: zdolność do asymilacji różnych źródeł węgla oraz oporność na podwyższone stężenie sacharozy i cykloheksimidu [8].

Zdolność obu szczepów do asymilacji różnych źródeł węgla określano za pomocą komercyjnego testu API 20C AUX (BioMerieux nr katalogowy: 20210), zawierającego 20 różnych związków węgla, które mogą być wykorzystywane przez drożdże do wzrostu. Wynik testu odczytywano po 72 godz. inkubacji w temp. 28°C na podstawie zmętnienia podłoża.

Oporność szczepów na podwyższone stężenia sacharozy oceniano na podstawie wzrostu na zmodyfikowanym podłożu YPD zawierającym: 1% ekstraktu drożdżowego, 2% peptonu oraz w miejsce glukozy wprowadzono sacharozę w ilości odpowiednio: 10, 20, 30 lub 40%, 2% agaru, pH 5,5.

Oporność badanych szczepów na cykloheksimid sprawdzano na podłożu SD (0,67% YNB, 1% glukozy, 2% agaru, pH 5,5), do którego dodawano cykloheksimid (Sigma nr kat.C7698) w stężeniu: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 i 4,0 µg/ml podłoża. Hodowle prowadzono w temp. 28°C przez 5 dni. Wyniki interpretowano na podstawie zdolności wzrostu badanych szczepów na danym podłożu.

Optymalizację protoplastyzacji komórek szczepów rodzicielskich wykonywano w następujący sposób. Szczepy rodzicielskie hodowano osobno na płynnym podłożu YPG (1% ekstrakt drożdżowy, 2% peptonu, 2% glukozy). Komórki w logarytmicznej fazie wzrostu odwirowywano (EPPENDORF, Eppendorf Centrifuge 5804 R, 4 000 rpm, 3 min.), dwukrotnie przemywano jałową wodą i zawieszano w 50 mM EDTA z dodatkiem 0,5% 2-merkaptoetanolu. Zawiesinę inkubowano w temp. 30°C przez 30 min. Następnie komórki odwirowywano (EPPENDORF, Mini Spin Plus, 1 000 rpm, 1 min.) i zawieszano w roztworze o składzie: 10 mM Tris-HCl (pH 7,0), 1,2 M sorbitol, 10 mM EDTA, do którego dodawano odpowiedni preparat enzymatyczny w określonej dawce. Sprawdzone skuteczność działania następujących enzymów: preparat enzymatyczny z *Trichoderma harzianum* (Sigma nr kat. L2265) w dawce 0,0015 g i 0,0030 g; preparat enzymatyczny z *Rhisoctonia solani* (Sigma nr kat. L8757) w dawce 0,015 g i 0,030 g; β-glukuronidaza (Serva nr kat. 22867) w dawce 0,2 ml i 0,3 ml; litikaza (Sigma nr kat. L-2524) w dawce 300 u i 500 u; litikaza w dawce 500 u łącznie z β-glukuronidazą w dawce 0,3 ml; litikaza w dawce 500 u łącznie z preparatem enzymatycznym z *Rhisoctonia solani* w dawce 0,030 g. Protoplastyzację prowadzono w temp. 37°C przez 30 min [4, 10]. Stopień protoplastyzacji oceniano mikroskopowo, licząc komórki w komorze Thoma, na

podstawie zmiany kształtu sprotoplastyzowanych komórek. Wynik podawano w procentach protoplastów względem ogólnej liczby komórek.

Przygotowanie protoplastów do elektrofuzji polegało na przemyciu ich w buforze 10 mM Tris-HCl (pH 7,0) i zawieszeniu w 1,2 M sorbitolu. Następnie mieszano równe objętości protoplastów dwóch szczepów rodzicielskich i wprowadzano do komory fuzyjnej podłączonej do generatora napięcia (KRUSS, komora ramkowa, generator napięcia BIO-JET CF 50). Elektrofuzję protoplastów szczepów rodzicielskich prowadzono przy parametrach zbliżonych do opisanych przez Gniewosz i wsp. [2]: częstotliwość 2 000 kHz, napięcie pola zmiennego 5–20 V, amplituda impulsu prostokątnego 30–140 V, liczba impulsów 2–4, czas trwania impulsów 40–60  $\mu$ s, odstęp pomiędzy impulsami 1–10 s. Po elektrofuzji protoplasty regenerowano w 1,2 M sorbitolu przez 12 godz., a następnie hodowano na podłożu selekcyjnym o składzie: 0,67% YNB, 2% glicerolu, 1  $\mu$ g/ml podłoża cykloheksimidu, 2% agaru w temp. 28°C przez 10 dni. Uzyskane kolonie poddawano selekcji poprzez dziesięciokrotne przeszczepianie na podłoże selekcyjne, celem wyeliminowania niestabilnych hybryd.

W uzyskanych fuzantach określano ilość DNA izolowaną z  $10^6$  komórek zgodnie z protokołem lizy alkalicznej, dezintegrując komórki za pomocą kulek szklanych i mierząc ilość otrzymanego DNA spektrofotometrycznie (BIO-RAD, Smart Spec<sup>TM</sup> 3 000) przy długości fali 320 nm [6]. Określano także ich zdolności asymilacyjne, oporność na wysokie stężenia sacharozy i cykloheksimidu w podłożu. Przeprowadzono fermentację winiarską przez 28 dni w temp. 22°C na podłożu modelowym, sporządzonym na bazie odkwaszonego koncentratu gronowego o ekstrakcie 25°B $\bar{g}$ , którego kwasowość odtwarzano do poziomu charakterystycznego dla moszczy gronowych przez dodatek 6 g/dm<sup>3</sup> moszczu kwasu jabłkowego i 4 g/dm<sup>3</sup> kwasu winowego [14]. Po zakończonej fermentacji określano ilość uzyskanego alkoholu etylowego [7] oraz zawartość kwasu D-mlekowego metodą enzymatyczną za pomocą komercyjnych zestawów firmy Boehringer Mannheim [nr kat. 11112821035], monitorując przebieg reakcji spektrofotometrycznie (BIO-RAD, Smart Spec<sup>TM</sup> 3 000) przy długości fali 340 nm.

## Wyniki i ich omówienie

W tab. 1. przedstawiono zdolności asymilacji różnych źródeł węgla przez szczepy rodzicielskie *S.o./2* i rho<sup>-</sup> ATCC 38637. Szczepy te mogą wykorzystywać do swojego wzrostu tylko sześć spośród dziewiętnastu badanych związków. Pięć z nich może być wykorzystywanych zarówno przez szczep *S.o./2*, jak i rho<sup>-</sup> ATCC 38637 i są to: glukoza, maltoza, sacharoza, trehaloza i rafinoza. Natomiast szczepy te różnią się zdolnością wykorzystania galaktozy, której nie asymiluje *S.o./2* oraz glicerolu, którego nie wykorzystuje drugi szczep rodzicielski rho<sup>-</sup> ATCC 38637.

Szczepy te różniły się także opornością na cykloheksimid znajdujący się w podłożu (tab. 2). Szczep *S.o./2* był wysoce wrażliwy na dodatek cykloheksimidu do podłoża.

Już najmniejszy dodatek cykloheksymidu do podłoża w ilości 0,5 µg/ml hamował wzrost szczepu *S.o./2*, podczas gdy tolerancja szczepu ATCC 38637 była 8-krotnie wyższa – zaobserwowano jego wzrost na podłożach zawierających nawet 4 µg cykloheksimidu /ml.

Tabela 1

Asymilacja związków węgla przez szczepy rodzicielskie *S. cerevisiae S.o./2* i *S. cerevisiae rho<sup>-</sup>* ATCC 38637.

Assimilation of the carbon sources by two parental strains *S. cerevisiae S.o./2* and *S. cerevisiae rho<sup>-</sup>* ATCC 38637.

Szczep Strain	Źródło węgla / Carbon source																		
	G L U	G L Y	2 K G	A R A	X Y L	A D O	X L T	G A L	I N O	S O R	M D G	N A G	C E L	L A C	M A L	S A C	T R E	M L Z	R A F
<i>S.o./2</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
<i>rho<sup>-</sup></i> ATCC 38637	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+

Objaśnienia: / Explanatory notes:

GLU – glukoza / glucose; GLY – glicerol / glycerol; 2KG – 2-keto-D-glukagon / 2-keto-D-glucagon; ARA – arabinoza / arabinose; XYL – ksyloza /xylose; ADO – adonitol /adonitol; XLT – ksylitol /xylitol; GAL – galaktoza / galactose; INO – inozytol / inositol; SOR – sorbitol / sorbitol; MDG – α-metylo-D-glukoza / α-methyl-D-glucose;NAG – N-acetylo-D-glukoza / N-acethyl-D-glucose; CEL – celobioza / cellobiose; LAC – laktoza / lactose; MAL – maltoza /maltose; SAC – sacharoza /saccharose; TRE – trehaloza / trehalose; MLZ – melecytoza / melesitose; RAF – rafinoza / rafinose;

+ – asymilacja / assimilation occurred; - – brak asymilacji / no assimilation occurred.

Tabela 2

Oporność na cykloheksimid szczepów rodzicielskich *S. cerevisiae S.o./2* i *S. cerevisiae rho<sup>-</sup>* ATCC 38637. Resistance of two parental strains *S. cerevisiae S.o./2* and *S. cerevisiae rho<sup>-</sup>* ATCC 38637 to cycloheximid.

Szczep Strain	Cykloheksimid / Cycloheximid [µg/ml]							
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
<i>S.o./2</i>	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>rho<sup>-</sup></i> ATCC 38637	+	+	+	+	+	+	+	+

+ – wzrost / growth occurred;

- – brak wzrostu / no growth occurred.

Następnie sprawdzono oporność szczepów rodzicielskich na duże stężenie sacharozy w podłożu, wynoszące od 10 do 40%, a wyniki tego doświadczenia przedstawiono w tab. 3.

Tabela 3

Zdolność wzrostu szczepów rodzicielskich *S. cerevisiae* S.o./2 i *S. cerevisiae* rho<sup>-</sup> ATCC 38637 w podłożu z dużą zawartością sacharozy.

Growth ability of two parental strains *S. cerevisiae* S.o./2 and *S. cerevisiae* rho<sup>-</sup> ATCC 38637 in a medium with a high saccharose content.

Szczep Strain	Sacharoza / Saccharose [%]			
	10	20	30	40
S.o./2	+	+	+	+
rho <sup>-</sup> ATCC 38637	+	+	+	+

+ – wzrost / growth occurred;

-- brak wzrostu / no growth occurred.

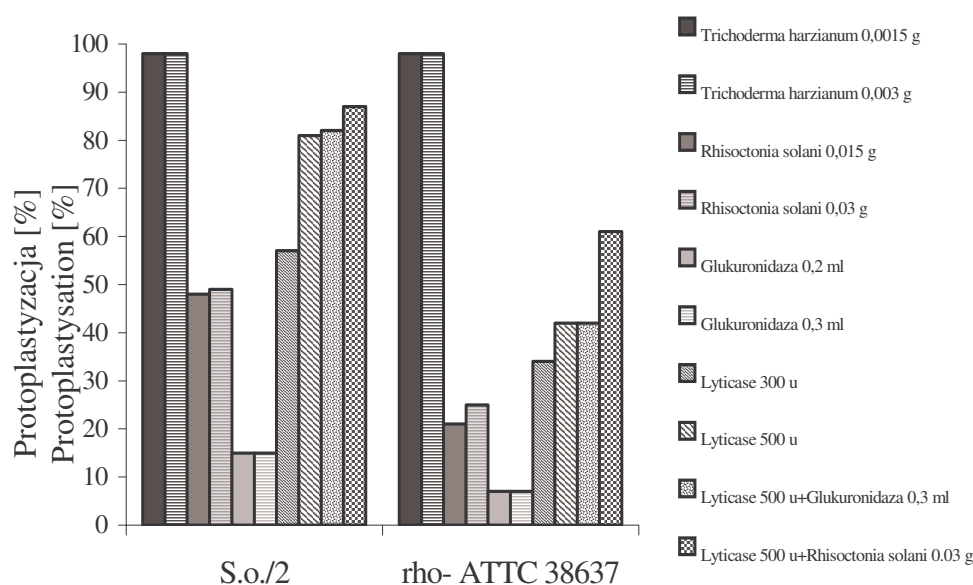
Badane szczepy wykazywały taką samą tolerancję względem dużych stężeń sacharozy, co wyrażało się ich dobrym wzrostem zarówno na podłożu z 10%, jaki i 40% zawartością tego cukru.

Spośród przebadanych cech szczepów rodzicielskich udało się wytypować markery umożliwiające izolację fuzantów po przeprowadzonej elektrofuzji. Są to cykloheksimid w stężeniu 1 µg/ml podłoża, uniemożliwiający wzrost komórek szczepu S.o./2 oraz glicerol (jako jedyne źródło węgla) niewykorzystywany przez szczep rho<sup>-</sup> ATCC 38637. Fuzanty, które będą pochodziły z hybrydyzacji somatycznej protoplastów obu szczepów powinny wykazywać dobry wzrost w obecności obu tych związków.

Następnie przystąpiono do optymalizacji enzymatycznej protoplastyzacji szczepów rodzicielskich. W badaniach wykorzystano cztery enzymy lityczne w dwóch dawkach dodawanych osobno oraz dwie kombinacje składające się z dwóch enzymów litycznych dodawanych do zawiesiny komórek łącznie, a wyniki zilustrowano na rys. 1. Ściana komórkowa szczepu rho<sup>-</sup> ATCC 38637 była znacznie trudniejsza do usunięcia w porównaniu ze szczepem S.o./2. Jedyne preparat z *Trichoderma harzianum* protoplastyzował komórki tego szczepu na poziomie powyżej 75%. W przypadku szczepu S.o./2 poziom ten osiągnęto, stosując oprócz preparatu z *Trichoderma harzianum* enzym litikazę w dawce 500 u. Połączenie litikazy z β-glukuronidazą wpłynęło na znaczne podwyższenie wydajności protoplastyzacji tego szczepu.

Najefektywniej działającym enzymem na ściany komórkowe obydwu szczepów był preparat enzymatyczny z *Trichoderma harzianum*, który w dawce 0,0015 g protoplastyzował komórki obu szczepów na poziomie 97%. Najslabiej oddziaływała β-glukuronidaza na ściany komórkowe szczepu S.o./2 i rho<sup>-</sup> ATCC 38637, dając

odpowiednio 15 i 7% protoplastów. Pomimo zwiększenia jej dawki z 0,2 ml na 0,3 ml efektywność jej działania nie poprawiła się. Uzyskano podwyższenie liczby protoplastów do poziomu powyżej 75% w przypadku szczepu *S.o./2* łącząc litikazę w dawce 500 u z  $\beta$ -glukuronidazą w dawce 0,3 ml oraz preparatem z *Rhisoctonia solani* w dawce 0,03 g. W przypadku szczepu rho<sup>-</sup> ATCC 38637, nie zaobserwowano tak wyraźnej poprawy procesu.



Rys. 1. Protoplastyzacja komórek szczepów rodzicielskich *S. cerevisiae* *S.o./2* i *S. cerevisiae* rho<sup>-</sup> ATCC 38637 z zastosowaniem różnych enzymów.

Fig. 1. Cell protoplastisation of two parental strains *S. cerevisiae* *S.o./2* and *S. cerevisiae* rho<sup>-</sup> ATCC 38637 by applying various types of enzymes.

W wyniku przeprowadzonej elektrofuzji badanych szczepów na podłożu selekcyjnym uzyskano kilkadziesiąt kolonii, które poddawano selekcji poprzez dziesięciokrotne przeszczepianie na podłożę selekcyjne, celem wyeliminowania niestabilnych hybryd. Dwa z nich oznaczone jako F1 i F2 okazały się stabilne i zostały skierowane do kolejnych badań.

Uzyskane fuzanty miały cechy charakterystyczne dla obydwu szczepów rodzicielskich (zdolność wykorzystywania glicerolu i oporność na cykloheksimid w podłożu). W celu stwierdzenia hybrydyzacji materiału genetycznego w fuzantach przeprowadzono izolację całkowitego DNA ze szczepów F1 i F2 oraz porównano go z zawartością DNA szczepów rodzicielskich. Wyniki pomiarów przedstawiono w tab. 4.

Tabela 4

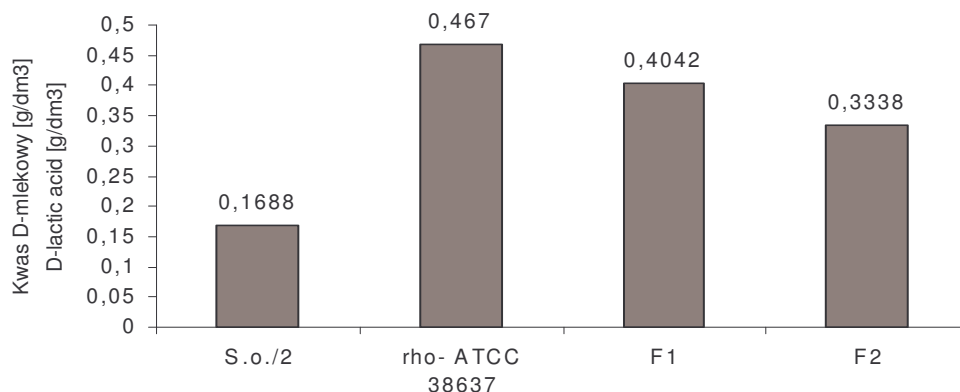
Zawartość całkowitego DNA/10<sup>6</sup> komórek szczepów rodzicielskich *S. cerevisiae* *S.o./2* i *S. cerevisiae* rho<sup>-</sup> ATCC 38637 oraz fuzantów tych szczepów F1 i F2.  
Total DNA content/10<sup>6</sup> cells of two parental strains *S. cerevisiae* *S.o./2* and *S. cerevisiae* rho<sup>-</sup> ATCC 38637 and fusants F1 and F2.

Szczep Strain	Zawartość całkowitego DNA [μg/10 <sup>6</sup> komórek] Total DNA content [μg /10 <sup>6</sup> cells]
<i>S.o./2</i>	1,16
rho <sup>-</sup> ATCC 38637	1,21
F1	1,34
F2	1,28

Zaobserwowano zwiększenie ilości materiału genetycznego w komórkach fuzantów F1 i F2 względem *S.o./2* odpowiednio o 15,3 i 10,6% oraz względem szczepu rho<sup>-</sup> ATCC 38637 odpowiednio o 10,6 i 6,0%.

W celu określenia zdolności fuzantów do przeprowadzania fermentacji jabłczanowo-mleczanowej oraz fermentacji alkoholowej, namnożonymi kulturami drożdży rodzicielskich: *S.o./2* i rho<sup>-</sup> ATCC 38637 oraz fuzantami: F1 i F2 szczepiono modelowe nastawy winiarskie, prowadząc fermentacje przez 28 dni w 22°C, analizując po jej zakończeniu wybrane parametry wina.

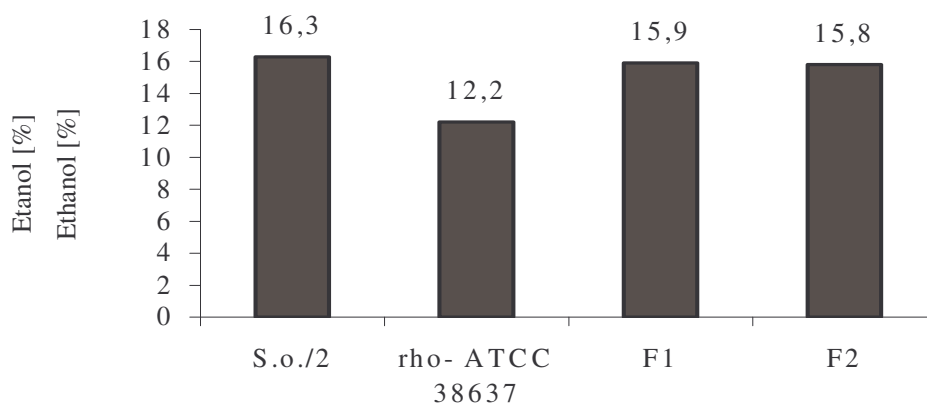
Szczep rodzicielski rho<sup>-</sup> ATCC 38637 ma zdolność przeprowadzania fermentacji jabłczanowo-mleczanowej. W celu porównania właściwości technologicznych fuzantów ze szczepami rodzicielskimi oznaczono ilość kwasu D-mlekowego w winie. Wyniki przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Zawartość kwasu D-mlekowego w winie (wartości średnie z trzech serii).

Fig. 2. D-Lactic acid content in wine (average values for 3 series).

Wina wytwarzane przez szczep *S.o./2* zawierały znacznie mniejsze ilości kwasu D-mlekowego w porównaniu ze szczepem  $\rho^-$  ATCC 38637, jak również w odniesieniu do otrzymanych fuzantów. Ilość uzyskanego kwasu D-mlekowego w winach wytworzonych przy udziale szczepów F1 i F2 była znacznie większa niż w przypadku win uzyskanych przez szczep rodzicielski *S.o./2*, zawierając odpowiednio 86 i 71% ilości kwasu D-mlekowego obecnego w winach wytworzonych przez drugi szczep rodzicielski  $\rho^-$  ATCC 38637.



Rys. 3. Zawartość alkoholu etylowego w winie (wartość średnia z 3 serii).

Fig. 3. Ethanol content in wine (average value for 3 series).

Szczep rodzicielski *S.o./2* przeprowadzał fermentację alkoholową z dużą wydajnością, warunkując uzyskanie win o dużej mocy. Aby określić, czy otrzymane fuzanty mają również zdolności produkcji win zawierających duże ilości alkoholu

etylowego, po zakończonej fermentacji oznaczono jego zawartość. Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 3.

Szczepy fuzantów charakteryzowały się przeprowadzaniem fermentacji alkoholowej na poziomie zbliżonym do szczepu rodzicielskiego *S.o./2*. Znacznie mniejszym uzyskiem alkoholu etylowego cechowały się wina wytworzone przez drugi szczep rodzicielski rho<sup>-</sup> ATCC 38637, produkujący zaledwie 12,2% alkoholu etylowego.

### Wnioski

1. Dobrymi markerami do selekcjonowania fuzantów po procesie fuzji okazały się: glicerol, będący jedynym źródłem węgla w podłożu selekcyjnym i cykloheksimid w dawce 1,0 µg/ml podłoża selekcyjnego.
2. Spośród badanych preparatów enzymatycznych do protoplastyzacji szczepów *S.o./2* i rho<sup>-</sup> ATCC 38637 najbardziej efektywny był preparat z *Trichoderma harzianum* w dawce 0,0015 g/10<sup>6</sup> komórek.
3. Fuzanty F1 i F2 wykazywały zwiększenie ilości DNA w komórkach względem szczepów rodzicielskich oraz miały zdolność wytwarzania kwasu D-mlekowego na poziomie zbliżonym do szczepu rodzicielskiego rho<sup>-</sup> ATCC 38637, a także produkowały duże ilości alkoholu etylowego, porównywalne z ilościami otrzymanymi od szczepu rodzicielskiego *S.o./2*.

### Literatura

- [1] Chmiel A.: Biotechnologia – Podstawy mikrobiologiczne i biochemiczne. PWN, Warszawa 1991.
- [2] Gniewosz M., Raczyńska-Cabaj A., Duszkiewicz-Reinhard W., Stachura G.: Modification of wine yeasts from *Saccharomyces cerevisiae* by electrofusion of protoplasts. Pol. J. Food Nutri. Sci., 1999, **8/49**, 17-25.
- [3] Kunicka A., Szopa J.S.: Metabolizm kwasu jabłkowego u drożdży z rodzaju *Schizosaccharomyces* i *Saccharomyces*. Biotechnologia, 1996, **1 (32)**, 151-161.
- [4] Kunicka A., Szopa J.S.: Otrzymywanie międzyrodzajowych hybrydów drożdży *S. cerevisiae* i *S. pombe* na drodze fuzji protoplastów. Biotechnologia, 1998, **1 (40)**, 165-177.
- [5] Lonvaud-Funel A.: Microbiology of the malolactic fermentation: molecular aspects. FEMS Microbiology Letters., 1995, **126**, 209-214.
- [6] Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J.: Molecular Cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, N.Y 1982.
- [7] PN-90/A-79120.04. Wina i miody pitne. Przygotowanie próbek i metody badań. Oznaczanie zawartości alkoholu etylowego.
- [8] Perez F., Regodon A., Valdes E. De Miguel C., Ramirez M.: Cycloheximide resistance as marker for monitoring yeast in wine fermentations. Food Microbiol., 2000, **17**, 119-128.
- [9] Pretorius I.S., Bauer F.F.: Meeting the consumer challenge through genetically customized wine-yeast strains. Trends Biotechnol., 2002, **20 (10)**, 426-433.



- [10] Rose M.D., Winston F., Hieter P.: Methods in yeast genetics. A laboratory course manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1990.
- [11] Spencer J.F.T., Spencer D.M., Bizeau C., Vaughan A., Martini A.: The use of mitochondrial mutants in hybridisation of industrial yeast. *Current Genetics*, 1985, **9**, 623-625.
- [12] Spencer J.F.T., Spencer D.M.: The use of mitochondrial mutants in hybridisation of industrial yeast. *Current Genetics*, 1981, **4**, 177-180.
- [13] Szopa J.S., Gańczyk B., Kowal K., Zwoliński G.: Melibiose-fermenting osmotolerant *Saccharomyces cerevisiae* hybrids. *Acta Alim. Pol.*, 1990, **16 (40)**, 3-4.
- [14] Wzorek W., Pogorzelski E.: Technologia winiarstwa owocowego i gronowego. Wkładka do miesięcznika *Przem. Ferm. Owoc. Warz.* Wyd. Sigma-NOT Sp. z o.o. Warszawa 1998.

### AN ATTEMPT TO OBTAIN A NEW WINE-MAKING YEAST STRAIN BY THE PROTOPLAST ELECTROFUSION

#### S u m m a r y

A protoplast electrofusion was carried out between two industrial wine-making strains: *Saccharomyces cerevisiae* S.o./2 and *S. cerevisiae* rho<sup>-</sup> ATCC 38637; the latter one is used to regulate acidity in grape wines after the completed alcoholic fermentation. For the purpose of selecting markers, which enable the isolation of fusants, there was determined the ability of the two strains to assimilate different types of carbon sources, as well as the their ability to grow on a medium with an increased content of saccharose and cycloheximide.

Prior to starting the electrofusion process, the protoplastisation was enhanced by applying changing amounts and combinations of various types of lytical enzymes. Also, optimal parameters of the electrofusion process were determined.

From a group of fusants, two stable hybrids (F1 and F2) were selected and described in order to determine the following parameters: DNA content in a cell, their ability to convert malic acid into lactic acid, and their potential to produce ethanol. The results obtained prove that the two strains investigated contain an increased content of DNA in cells. The yield of a malolactic fermentation as provided by the fusants was comparable to the yield of malolactic fermentation run by the strain *S. cerevisiae* rho<sup>-</sup> ATCC 38637, and the yield of the alcoholic fermentation run by these fusants was comparable to the alcoholic fermentation yield provided by the strain *S.cerevisiae* S.o./2.

**Key words:** protoplast electrofusion, malolactic fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*. 

ANNA FLOROWSKA, ANNA BUDYTA, KRZYSZTOF KRYGIER

## **POWSTAWANIE I WŁAŚCIWOŚCI ŻELI INULINOWYCH**

### **Streszczenie**

Celem pracy było określenie warunków powstawania żeli inulinowych oraz zbadanie ich właściwości, na przykładzie preparatu FRUTAFIT TEX.

Zbadano żelotwórcze właściwości inuliny w zależności od: jej stężenia w roztworach wodnych, temperatury (40–90°C) wody stosowanej do rozpuszczania preparatu inulinowego, pH roztworów w zakresie 3–8 oraz stężeń NaCl w zakresie 1–3%. W pracy wyznaczono stopień wytwarzania żelu za pomocą indeksu żelowania VGI, zbadano twardość uzyskanych żeli oraz określono stopień ich odwracalności i temperaturę topnienia.

Stwierdzono, że zdolność żelowania była statystycznie istotnie uzależniona od temperatury rozpuszczania oraz stężenia inuliny. Z roztworów o niskich stężeniach preparatu (poniżej 15%) nie wytwarzały się struktury żelowe. Z kolei podwyższenie temp. rozpuszczania do 80°C, przy 15% stężeniu inuliny w roztworze, skutkowało wyraźnym zmniejszeniem zdolności żelotwórczych (VGI = 93,2%), a rozpuszczanie preparatu w temp. 90°C całkowicie uniemożliwiało powstanie żelu (VGI = 0%) po ostudzeniu zolu. Statystycznie istotny był wpływ pH rozpuszczalnika na proces formowania żeli inulinowych. Najslabiej żele tworzyły się w środowisku kwaśnym (pH 3–4). W tych warunkach, do wytworzenia żelu konieczne było stężenie powyżej 20% preparatu. Również dodatek NaCl istotnie wpłynął na właściwości żelotwórcze inuliny. Twardość żeli inulinowych zależała od stężenia użytej inuliny. Nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu dodatku NaCl na twardość uzyskanych żeli. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono ponadto, że inulina może być stosowana jako zamiennik tłuszczu w nieklarownych produktach spożywczych o pH powyżej 5.

**Słowa kluczowe:** inulina, właściwości teksturotwórcze, żelowanie

### **Wprowadzenie**

Produkty wykazujące udokumentowany korzystny wpływ na zdrowie człowieka ponad ten, który wynika z obecności w nich składników odżywczych, tradycyjnie uznawanych za niezbędne, nazywa się żywnością funkcjonalną [9]. Jedną z możliwości tworzenia takiej żywności jest suplementacja składnikami o działaniu prozdrowotnym. Do prozdrowotnych składników należy m.in. inulina, polidispersyjny fruktan, który

---

*Mgr inż. A. Florowska, mgr inż. A. Budyta, prof. dr hab. K. Krygier, Zakład Technologii Tłuszczów i Koncentratów Spożywczych, Katedra Technologii Żywności, SGGW, ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa, florowska@alpha.sggw.waw.pl*

dzięki swojej budowie nie ulega trawieniu w górnej części układu pokarmowego człowieka, a hydrolizowany jest pod wpływem mikroflory jelitowej w okrężnicy [12]. Z tego względu jest klasyfikowany jako rozpuszczalna frakcja błonnika pokarmowego. Jako składnik żywności przyczynia się do wzrostu korzystnych dla organizmu człowieka bakterii probiotycznych, hamujących wzrost patogenów. Dodatkowo inulina zwiększa biodostępność niektórych składników mineralnych, w tym wapnia, a jej dłuższe spożywanie wpływa na obniżenie poziomu cholesterolu we krwi [10].

Dodatek inuliny do produktów spożywczych może przynosić również korzyści technologiczne. Wodny roztwór tworzy bowiem gęsty żel, który może być wykorzystywany jako niskokaloryczny substytut tłuszczu, poprawiając jednocześnie konsystencję i walory smakowe produktu. Obecnie na świecie dodatek inuliny stosowany jest do produkcji takich wyrobów, jak: jogurty i napoje mleczne, serki i desery mleczne, pianki, lody, margaryny, czekolada oraz pieczywo i ciasta zarówno w celu wzbogacenia produktów w składniki prozdrowotne, jak i polepszenia struktury wyrobu [3]. W Polsce inulina na skalę przemysłową jest stosowana jako czynnik prebiotyczny w nielicznych fermentowanych produktach mlecznych.

Inulina po rozpuszczeniu i ogrzaniu bądź zastosowaniu siły ścinającej tworzy żele. Ich struktura krystaliczna oraz właściwości zależą od wielu czynników, wśród których należy wymienić: stopień polimeryzacji inuliny, jej stężenie w roztworze, stosowaną temperaturę a także warunki schładzania i nukleacji [2]. Jak wskazują badania inuliny *Raftaline HP* z firmy Orafiti, przeprowadzone przez Kima i wsp. [7], zdolność tworzenia żelu przez inulinę zależy od jej stężenia w roztworze, temperatury rozpuszczania i pH środowiska. Czynniki te mają również wpływ na jakość otrzymanych żeli.

Celem podjętych badań było scharakteryzowanie warunków powstawania i właściwości żeli inulinowych. W pracy podjęto również próbę określenia wpływu czynników środowiska, takich jak: temperatura wody stosowanej do rozpuszczania (40–90°C), stężenie jonów wodorowych (pH 3–8) oraz stężenie NaCl (0–3%) na właściwości żelujące inuliny, na przykładzie preparatu Frutafit TEX.

### **Materiał i metody badań**

W badaniach zastosowano preparat handlowy inuliny Frutafit TEX firmy SENSUS o parametrach: s.m. 95%, zawartość węglowodanów w suchej masie – 99,0% w tym: inulina o stopniu polimeryzacji > 5–99,0%, inulina o stopniu polimeryzacji od 3 do 4–0,5%, mono i disacharydy – 0,5%.

Żele przygotowywano w następujący sposób – inulinę w ilościach odpowiadających stężeniom 15, 20, 25 i 30% rozpuszczano w następujących roztworach:

- do badania wpływu temperatury na jakość żeli – w wodzie o temp. 40–90°C,

- do badania wpływu pH na jakość żeli – w roztworach o pH 3–8 (do obniżania pH stosowano kwas octowy, a do podwyższania wodorotlenek sodu),
- do badania wpływu NaCl na jakość żeli – w roztworach wodnych soli o stężeniach 0–3%.

Otrzymane w ten sposób zole pozostawiano na 24 h w temp. 20°C w celu wytworzenia żelu.

W żelach oznaczano:

- Indeks żelowania VGI [7] – metoda pomiaru polega na określeniu stopnia wytworzenia się żelu poprzez wyznaczenie stosunku wysokości powstałego żelu ( $V_G$ ) do całkowitej wysokości próbki ( $V_T$ ).
- Twardość żeli przy użyciu teksturometru TA.XT 2i [4, 5] – badano maksymalną siłę potrzebną do zniszczenia próbki testem penetracji przy zastosowaniu końcówki cylindrycznej o średnicy 25 mm, której prędkość przesuwu wynosiła 1 mm/s, a głębokość penetracji 3 mm. Do pomiarów przygotowano próbki o jednakowej masie 50 g. Pracę potrzebną do zniszczenia struktury próbki obliczano jako pole pod wykresem siły [N] od czasu [s], w którym próbka ulegała zniszczeniu (program Table Curve 20 v 5.01).

W celu porównania tekstury uzyskanych żeli inulinowych z produktami tłuszczowymi dostępnymi w sklepach wykonano badanie siły penetracji sera topionego, margaryny kubkowej i kostkowej oraz smalcu. Do pomiarów przygotowano próbki o jednakowej masie 50 g.

- Odwracalność termiczną żeli [6] – zasada oznaczania polegała na obserwacji zachowania się próbki żelu poddanego działaniu temp. 50 i 90°C przez 30 min. Określano upłynnianie się żelu oraz stopień jego odtworzenia.
- Temperaturę topnienia żeli [1] – oznaczano temperaturę, w której jednocentymetrowy słup wody spowoduje przesunięcie do góry koreczków żelowych. W celu wykonania oznaczenia przygotowano po 25 ml zoli w zlewce o pojemności 100 ml, do której następnie wstawiono zamocowane w statywie kapilary o średnicy wewnętrznej 6 mm i długości 810 mm. Próbki pozostawiono do zastygnięcia na 24 h w temp 20°C w celu wytworzenia żeli. Po upływie tego czasu oddzielano kapilary z koreczkami żeli od reszty żelu i umieszczano je w zlewce z wodą. Zlewkę z wodą podgrzewano na łaźni wodnej (1°C na 1 min.) obserwując koreczki żelowe. Za temperaturę topnienia żeli uznawano taką, przy której ciśnienie wody wypychało koreczki ku górze kapilary.

Uzyskane w części doświadczalnej wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statgraphic Plus. Zastosowano jednoczynnikową oraz dwuczynnikową analizę wariancji.

## Wyniki i dyskusja

### *Badanie wpływu czynników środowiska na formowanie się żeli inulinowych*

Dzięki zdolnościom do formowania żeli wiele węglowodanów, w tym inulina, znajduje zastosowanie w technologii żywności jako substytut tłuszczu lub cukru [7]. Proces żelowania inuliny połączony jest ze zmianą barwy i klarowności roztworów z przezroczystego na mleczno-biały żel. Zjawisko to może ograniczać zastosowanie inuliny w produktach klarownych, jednak może być postrzegane jako pozytywna cecha w produktach, w których barwa biała występuje naturalnie, na przykład w produktach mlecznych.

Badając wpływ zastosowanych roztworów na właściwości żelotwórcze inuliny wykorzystano jeden z dwóch sposobów otrzymywania żeli, polegający na ogrzewaniu i ochładzaniu roztworu inuliny. Inny sposób związany jest z zastosowaniem siły ścinającej, czyli mechanicznym indukowaniem żelowania [7]. Jednak, jak stwierdzono w pracy, żele otrzymane drugim sposobem charakteryzowały się niespójną, piaszczystą i bardzo nietrwałą strukturą. Ich zastosowanie w przemyśle spożywczym może być tym samym ograniczone.

T a b e l a 1

Wybrane indeksy żelowania VGI [%] zoli inulinowych w zależności od temperatury rozpuszczania preparatu inulinowego.  
Selected indexes VGI [%] of gelatting inulin sols depending on a temperature at which the inulin preparation dissolves.

Temperatura Temperature [°C]	Stężenie inuliny / Inulin concentration [%]				
	10	15	20	25	30
70	73,0	100,0	88,6	-	-
80	18,0	93,2	100,0	95,0	-
90	0,0	0,0	100,0	100,0	100,0

Oceniając wpływ temperatury rozpuszczania preparatu na proces żelowania wykazano, że zdolność żelowania była statystycznie istotnie ( $\alpha=0,05$ ) uzależniona od temperatury oraz stężenia inuliny (tab. 1). Roztwory o niskich stężeniach inuliny (poniżej 15%) nie wytwarzały struktur żelowych. Może to być związane ze zbyt małą ilością cząsteczek tego polimeru, aby mogły wytworzyć układ przestrzenny [7]. Według Kima i wsp. [7], najmniejsze stężenie inuliny potrzebne do wytworzenia żelu wynosi 10% w temp. jej rozpuszczania wynoszącej 70°C. Przy większych stężeniach inuliny zauważalny był wpływ temperatury rozpuszczania na proces formowania się żelu. Podwyższenie tej temp. do 80°C przy 15% stężeniu inuliny w roztworze skutkowało wyraźnym zmniejszeniem zdolności żelotwórczych (VG I = 93,2%), a rozpuszczanie preparatu Frutafit TEX w temp. 90°C całkowicie uniemożliwiało

powstanie żelu (VGI = 0%). Zjawisko to może być związane z niszczeniem wiązań w cząsteczce inuliny odpowiedzialnych za wytwarzanie struktur żelowych. Podobne zależności wpływu stężenia inuliny oraz zastosowanej temperatury rozpuszczania na zdolność tworzenia żelu inulinowego stwierdzili Kim i wsp. [7].

Tabela 2

Wybrane indeksy żelowania VGI [%] zoli inulinowych otrzymanych z roztworów o pH 3–8.

Selected indexes VGI [%] of gellating inulin sols obtained from solutions with pH values ranging between 3 and 8.

pH	Stężenie inuliny / Inulin concentration [%]			
	15	20	25	30
3	70,2	90,8	100,0	100,0
4	80,8	92,6	100,0	100,0
5	90,2	100,0	100,0	100,0
6	93,8	100,0	100,0	100,0
7	94,0	100,0	100,0	100,0
8	98,0	100,0	100,0	100,0

Wpływ pH rozpuszczalnika na proces formowania się żeli, wyrażony indeksem VGI, okazał się istotnie statystyczny ( $\alpha = 0,05$ ) w zastosowanym zakresie (pH 3–8) (tab. 2). Zaobserwowano jednocześnie, że wpływ tego czynnika zmniejszał się ze wzrostem stężenia inuliny. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż żele z udziałem inuliny najslabiej tworzyły się przy pH 3 i 4, co może wskazywać na ograniczone zastosowanie tego składnika w produktach kwaśnych. W tych przypadkach należało zwiększyć stężenie inuliny do poziomu powyżej 20%.

Tabela 3

Wybrane indeksy żelowania VGI [%] zoli inulinowych otrzymanych z różnych roztworów o stężeniu NaCl 1–3%.

Selected indexes VGI [%] of gellating inulin sols obtained from various solutions of NaCl-concentration values from 1 to 3%.

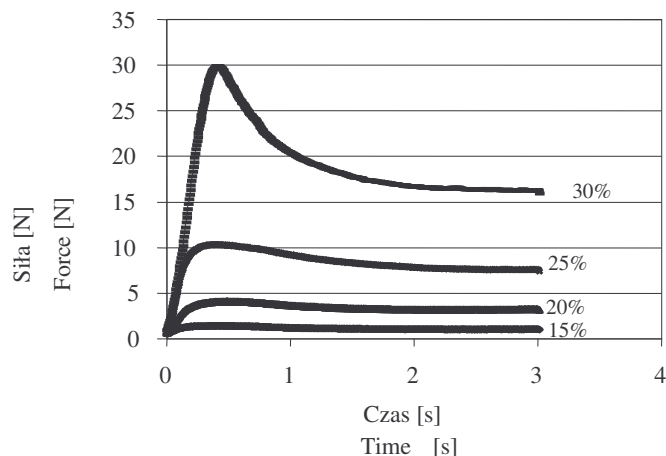
Stężenie NaCl Concentration of NaCl [%]	Stężenie inuliny / Inulin concentration [%]			
	15	20	25	30
0	93,2	100,0	100,0	100,0
1	96,7	100,0	100,0	100,0
2	100,0	100,0	100,0	100,0
3	100,0	100,0	100,0	100,0

W badaniach wpływu stężenia soli kuchennej w zakresie 1–3% na zdolność tworzenia się żeli inulinowych wykazano, że dodatek NaCl statystycznie istotnie ( $\alpha=0,05$ ) wpłynął na właściwości żelotwórcze inuliny. Nawet przy niskich stężeniach

inuliny (15%) niewielki dodatek soli (1%) znacznie polepszał te właściwości (tab. 3). Pozytywny wpływ NaCl na właściwości żelotwórcze inuliny wskazuje, że w przemyśle spożywczym powinno się stosować inulinę jako dodatek technologiczny szczególnie w produktach, do których dodawane jest nawet niewielka ilość chlorku sodu.

#### Badanie twardości żeli inulinowych

Wyniki badań wpływu stężenia inuliny w roztworach na twardość otrzymanych żeli przedstawiono na rys. 1. Stwierdzono, że dodatek inuliny statystycznie istotnie ( $\alpha = 0,05$ ) determinował twardość uzyskiwanych żeli. Ze wzrostem stężenia inuliny w roztworze, a zatem ze wzrostem koncentracji cząsteczek inuliny obserwowano wzrost twardości żeli.



Rys.1. Wpływ stężenia inuliny na twardość żeli.

Fig. 1. The effect of inulin concentration on the gel hardness.

Maksymalna siła penetracji żelu o zawartości 15% inuliny wynosiła 0,899 N, a w przypadku 30% żelu była ona ponad 30-krotnie większa (31,895 N). Badania przeprowadzone przez Kima i wsp. [7] potwierdzają, że siła potrzebna do zniszczenia żelu inulinowego jest funkcją stężenia inuliny w roztworze.

Do zbadania wpływu czynników środowiska (temperatura, pH, stężenie NaCl) na twardość otrzymanych żeli wybrano te stężenia inuliny i wartości temperatury rozpuszczania, w przypadku których uzyskano indeksy żelowania (VGI) świadczące o wytworzeniu się struktury żelowej.

Wobec powyższego, w celu określenia wpływu temperatury na twardość żeli inulinowych zbadano po dwie próby o danym stężeniu przygotowane w dwóch wartościach temperatury rozpuszczania (tab. 4). Z przeprowadzonej analizy statystycznej wynika, że twardość żeli inulinowych w sposób statystycznie istotny ( $\alpha$

= 0,05) była zależna od stosowanej temperatury rozpuszczania preparatu Frutafit TEX.

Tabela 4

Wpływ stężenia inuliny i temperatury przygotowania zolu na siłę penetracji [N] oraz pracę [mJ] potrzebną do zniszczenia struktury żeli inulinowych.

Effect of the inulin concentration and temperature applied while preparing sols on the hardness [N] and work [mJ] required to destruct [mJ] structure of inulin gels.

Stężenie inuliny w żelu Concentration of inulin in gels [%]	Temperatura przygotowania zolu Temperature applied to prepare sols [°C]	Siła penetracji Hardness [N]	Praca Work [mJ]	Porównanie Comparison			
				Produkt spożywczy Food product	Siła Hardness [N]		
15	65	0,89	2,13	Serek topiony Processed cheese	5,60		
	70	1,72	4,24				
20	75	5,90	6,74			Margaryna kubkowa Margarine in carton	2,68
	80	2,12	4,85			Margaryna kostkowa Slab of margarine	16,71
25	80	12,87	40,59			Smalec Lard	14,54
	85	8,74	20,02				
30	85	43,74	87,14				
	90	31,89	68,50				

Na tej podstawie można wnioskować, że stosowanie inuliny jako dodatku teksturotwórczego w przemyśle spożywczym wymaga doboru parametrów procesu technologicznego, uwzględniających ich wpływ na proces żelowania inuliny. W tab. 4. podano dodatkowo wartości sił penetracji wybranych produktów spożywczych.

Porównując otrzymane wyniki wartości sił penetracji żeli inulinowych i tych produktów można stwierdzić, że badane żele charakteryzowały się podobną twardością. Wpływ temperatury na siłę żelowania odnotowali również Kim i wsp. [7], stwierdzając dodatkowo, że przy niskich stężeniach inuliny siła potrzebna do zniszczenia struktury żelu rośnie wraz ze wzrostem temperatury rozpuszczania preparatu, podczas gdy przy stężeniach powyżej 20% zachodzi zjawisko odwrotne.

Tabela 5

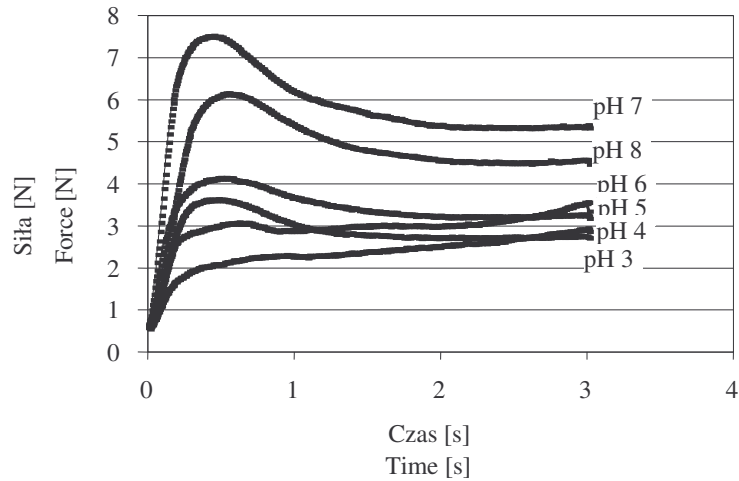


Wpływ pH roztworu na siłę penetracji [N] oraz pracę [mJ] potrzebną do zniszczenia struktury żeli inulinowych.

Effect of pH values on hardness [N] and work [mJ] required to destruct the structure of inulin gels.

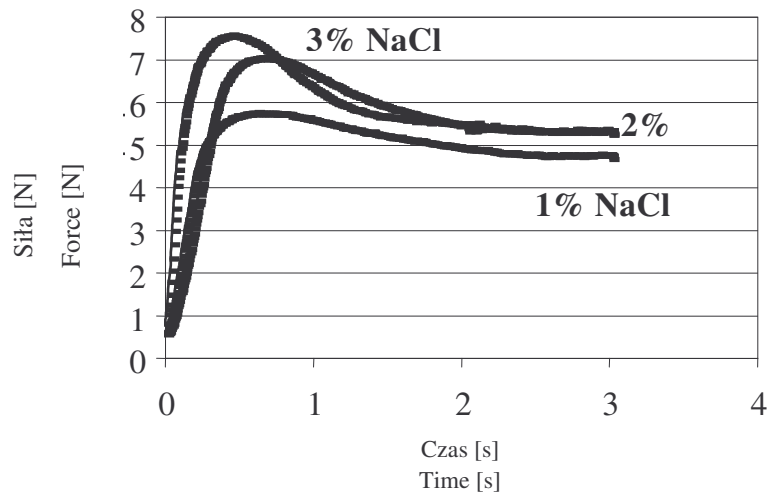
Stężenie inuliny w żelu Concentration of inulin in gels [%]	pH rozpuszczalnika pH of solvent	Siła penetracji Hardness [N]	Praca Work [mJ]
15	3	1,11	2,72
	4	1,15	2,96
	5	1,21	2,95
	6	1,55	3,63
	7	1,97	3,37
	8	1,40	3,37
20	3	2,76	7,43
	4	3,59	8,42
	5	3,70	8,37
	6	4,23	10,55
	7	7,43	17,10
	8	6,22	14,86
25	3	10,52	25,12
	4	14,20	32,98
	5	15,65	34,98
	6	16,31	36,54
	7	23,16	48,06
	8	16,01	35,13
30	3	24,78	55,90
	4	28,10	52,97
	5	32,65	69,81
	6	35,73	67,51
	7	53,91	99,32
	8	37,61	80,09

W celu scharakteryzowania wpływu pH na twardość żeli inulinowych przygotowano roztwory o pH w zakresie 3–8, który odpowiada kwasowości czynnej dużej grupy produktów żywnościowych [8]. Na rys. 2. przedstawiono zależność siły penetracji [N] żelu o 20% zawartości inuliny od czasu [s] potrzebnego do zniszczenia struktury próbki. Próby przygotowano w roztworach o różnej kwasowości. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że siła potrzebna do zniszczenia struktury żelu była statystycznie istotnie ( $\alpha = 0,05$ ) uzależniona od zastosowanego pH. Wraz ze wzrostem kwasowości roztworów zmniejszała się twardość żeli inulinowych (tab. 5). Otrzymane wyniki potwierdzają również dane uzyskane z badań inuliny Raftaline HP [7].



Rys. 2. Wpływ pH roztworu na twardość żeli inulinowych (stężenie inuliny 20%).

Fig. 2. The effect of the pH value of the solvent on the hardness of inulin gel (inulin concentration = 20%).



Rys. 3. Wpływ stężenia roztworu chlorku sodu na twardość żeli inulinowych (stężenie inuliny 20%).

Fig. 3. The effect of the NaCl concentration in solvent on the hardness of inulin gel (inulin concentration = 20%).

Na rys. 3. przedstawiono wpływ stężenia NaCl w zakresie 0–3% na proces penetracji żeli inulinowych o stężeniu 20%. Przeprowadzone badania wskazują, że siła potrzebna do zniszczenia struktury żeli nie zależała statystycznie istotnie ( $\alpha = 0,05$ ) od zastosowanego stężenia NaCl. Zaobserwowano jednak, że sam dodatek NaCl powoduje wzrost twardości otrzymanych żeli (tab. 6). W celu poprawy właściwości teksturotwórczych inuliny można ją zatem stosować w produktach spożywczych wraz z dodatkiem soli.

Tabela 6

Wpływ stężenia roztworu chlorku sodu na siłę penetracji [N] oraz pracę [mJ] potrzebną do zniszczenia struktury żeli inulinowych.

Effect of the concentration of NaCl solution on hardness [N] and work [mJ] required to destruct the structure of inulin gels.

Stężenie inuliny w żelu Concentration of inulin in gels [%]	Stężenie NaCl w rozpuszczalniku Concentration of NaCl in solvent [%]	Siła penetracji Hardness [N]	Praca / Work [mJ]
15	0	0,89	2,13
	1	1,38	3,53
	2	2,18	5,24
	3	1,98	5,02
20	0	5,90	6,74
	1	5,78	14,73
	2	7,01	17,09
	3	7,76	17,78
25	0	12,87	40,59
	1	16,40	35,86
	2	16,17	37,16
	3	22,14	46,05
30	0	31,89	68,50
	1	39,58	79,00
	2	45,70	88,80
	3	43,61	102,20

#### Oznaczanie odwracalności termicznej żeli

W ocenie odwracalności termicznej żeli inulinowych wykazano, iż żele po upłynięciu w temp. 50 i 90°C ulegają całkowitej odbudowie. Na powierzchni odtworzonych żeli nie obserwowano warstwy wody niezwiązanej.

#### Oznaczanie temperatury topnienia żeli

Temperatura topnienia żeli inulinowych wzrastała ze wzrostem stężenia preparatu (tab. 7). Można przypuszczać, że zależy to od stopnia koncentracji łańcuchów inulinowych w strukturze żelu. Jak podaje Sensus [11], wraz ze wzrostem stężenia inuliny w żelu wzrasta spójność struktury powstałego żelu oraz temperatura jego topnienia.

Tabela 7

Temperatura topnienia żeli o różnej zawartości inuliny.

Melting temperature of inulin gels containing different amounts of inulin.

Zawartość inuliny Concentration of inulin [%]	Średnia temperatura topnienia Melting temperature [°C]
15	54,6
20	64,2
25	67,8
30	76,8
35	81,6

### Wnioski

1. Na proces formowania żeli przez inulinę mają wpływ takie czynniki, jak: stężenie preparatu w roztworze, temperatura przygotowywania zoli oraz użyty rozpuszczalnik (woda, roztwór o pH 3–8 oraz roztwór NaCl 1–3%).
2. Na twardość żeli inulinowych, wyrażoną jako siła penetracji, mają wpływ takie czynniki, jak: stężenie inuliny, temperatura rozpuszczania preparatu, pH środowiska (w zakresie 3–8). Nie stwierdzono natomiast wpływu dodatku NaCl (w zakresie 0–3%) na twardość badanych żeli inulinowych.
3. Żele inulinowe są odwracalne termicznie, po upłynnieniu następuje odbudowa ich struktury.
4. Inulina może być stosowana jako zamiennik tłuszczu w nieklarownych produktach spożywczych o pH powyżej 5. Stwierdzono także, że właściwości teksturotwórcze inuliny poprawia dodatek NaCl w ilości od 1%.

### Literatura

- [1] Bałtruszko M.: Ocena metod badania właściwości żelujących hydrokoloidów. Praca magisterska. SGGW, Wydział Żywnienia Człowieka, Warszawa 1989.
- [2] Hebette C., Delcour J., Koch M., Booten K., Kleppinger R., Mischenko N., Reynaers H.: Complex melting of semi-crystalline chicory (*Cichorium intybus* L.) root inulin. Carbohydr. Res., 1998, **310**, 65-75.
- [3] Hortimex: Aktywny styl życia, materiały informacyjne. Wyd. Hortimex, Konin 2003.
- [4] Instrukcja aparatu: TA.XT2i, 2003.
- [5] Jaworska D, Świdorski F., Janicki A.: Ocena tekstury tłuszczów do smarowania pieczywa przy użyciu analizatora tekstury TA.XT2i. Przem. Spoż., 2003, **7**, 17-19.
- [6] Kapłan H.: Porównanie właściwości żelujących różnych hydrokoloidów. Praca magisterska. SGGW, Wydział Żywnienia Człowieka, 1987.
- [7] Kim Y., Faqih M.N., Wang S.S.: Factors affecting gel formation of inulin. Carbohydr. Polym., 2001, **46**, 135-145.
- [8] Pijanowski E., Dłużewski M., Dłużewska A., Jarczyk A: Ogólna technologia żywności. WNT. Warszawa 1996.
- [9] Pszczoła D.: Designer food an evolving concept. Food Tech., 1999, **62**, 92.
- [10] Roberfroid M. B.: Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. J. Nutr., 1999, **129**, 1398-1401.

- [11] Sensus : Nowy produkt z inuliną o lepszych właściwościach technologicznych. *Mat. inform. Przem. Spoż.*, 2001, **5**, 22-23.
- [12] Van Loo J.: *Możliwości probiotyków i prebiotyków (synbiotyków) w celu obniżenia ryzyka nowotworów*. W: *Probiotyki*, Wyd. Naukowe PTTŻ. Kraków 2002, s. 43-47.

## FORMING INULIN GELS AND THEIR PROPERTIES

### S u m m a r y

The objective of this study was to investigate conditions under which inulin gels were formed, as well as to determine their properties using an example of a FRUTAFIT TEX formulation.

The gel-forming properties of inulin were studied with regard to: its concentration in water solutions, temperature (40–90°C) of water used to dissolve the inulin preparation, pH value (3 to 8), and NaCl concentrations (from 0 to 3%). The study comprised the determination of the following parameters: degree of gel formation using a VGI index of gelation, hardness of gels formed, degree of their reversibility, and melting temperature.

It was stated that the gelation potential depended statistically significantly on the solution temperature and the inulin concentration. No gel structures were formed using solvents of low concentrations (below 15%). However, when the solution temperature was increased to 80°C, and the inulin concentration in the solvent was 15%, the gel-forming properties of the preparation were evidently decreased (VGI = 93.2%). Next, when the preparation was dissolved at 90°C, no gel could be formed (VGI = 0%) after the sol was cooled down. The pH value had a statistically significant effect on the gel forming process. This gel forming process was the weakest in the acidic environment (pH from 3 to 4), and under such conditions, a concentration exceeding 20% was necessary to enable gels to be formed. If NaCl was added, the gel-forming properties of inulin were significantly enhanced. The hardness of inulin gels depended on the concentration of inulin applied. However, it was stated that the addition of NaCl did not significantly impact the hardness of gels formed. Basing on the results obtained, it was also confirmed that inulin could be applied as a fat substitute in non-lipid food products with pH below 5.

**Key words:** inulin, gel properties, gelation ☒

ILONA GAŁĄZKA, ROBERT KLEWICKI, KATARZYNA GRZELAK

## HYDROLIZA FRUKTANÓW W WARUNKACH SYMULUJĄCYCH DZIAŁANIE SOKU ŻOŁĄDKOWEGO

### Streszczenie

Fruktany, podobnie jak błonnik, nie ulegają trawieniu w przewodzie pokarmowym ze względu na brak w soku żołądkowym, trzustkowym i jelitowym enzymów hydrolizujących wiązania  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 1) glikozydowe, jednakże ulegają one częściowej hydrolizie w środowisku kwaśnym.

Celem pracy była hydroliza fruktanów w warunkach symulujących działanie soku żołądkowego. Hydrolizę prowadzono w temp. 36,6–37°C, w ciągu 30–180 min, przy pH = 2, a w przypadku mączki cykoriowej z użyciem pepsyny. Badaniom poddano handlowe preparaty fruktooligosacharydów: FOS Wako Pure, Raftilose oraz preparaty otrzymane w Politechnice Łódzkiej: preparat FOS-PŁ, inulinę krystaliczną z cykorii, mączkę cykoriową, nystozę oraz sacharozę. Do oznaczenia składu preparatów przed i po hydrolizie zastosowano chromatografię cieczową HPLC.

Stwierdzono, że stała szybkości hydrolizy fruktanów wyznaczona wg mechanizmu reakcji jednocząsteczkowej wynosi od 0,0006 do 0,0035. Najbardziej odporne na hydrolizę, prowadzoną w warunkach symulujących działanie soku żołądkowego, były: inulina krystaliczna, której po upływie 180 min pozostało 95% początkowej ilości oraz inulina zawarta w nisko przetworzonej mączce cykoriowej (93%). Najłatwiej ulegały hydrolizie preparaty zawierające  $\beta$ -fruktooligosacharydy homogenne (Raftilose) oraz oligomery o DP 3-4 (FOS Wako Pure, FOS-PŁ). Najwięcej cukrów metabolizowanych (do 30%) uwalniało się podczas hydrolizy preparatów (Wako Pure i FOS-PŁ) zawierających jako główne FOS kestozę, nystozę i fruktozylonystozę.

**Słowa kluczowe:** cykoria, fruktany, fruktooligosacharydy (FOS), inulina, hydroliza.

### Wstęp

Fruktany są polimerami  $\beta$ -fruktofuranozy połączonej wiązaniem  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 1) z wiązaniami  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2) ostatniej cząsteczki glukopiranozy. Stopień polimeryzacji (DP) może wynosić od 2 do 70. Dzielią się one na krótkołańcuchowe i długołańcuchowe. Fruktany krótkołańcuchowe są powszechnie nazywane fruktooligosacharydami (FOS) lub oligofruktozą, ich stopień polimeryzacji DP wynosi od 3 do 10. Najpowszechniej występującymi fruktooligosacharydami są: kestoza, nystoza, fruktozylonystoza [16].

Długołańcuchowe fruktany, powszechnie nazywane inuliną, mają stopień polimeryzacji DP od 10 do 70 w zależności od pochodzenia [1, 3, 9].

Omawiane związki występują w roślinach należących do *Liliaceae*, jak: cebula, czosnek, por oraz do *Compositae*: cykoria, topinambur, niektórych roślin jednoliściennych, takich jak: pszenica, żyto, jęczmień, banany [2, 11, 12, 15]. Wytwarzane są przez około 15% różnych gatunków roślin kwitnących oraz przez bakterie, głównie *Streptococcus mutans* i grzyby *Aureobasidium pullulans* i *Aspergillus niger* [14, 15].

Fruktany zaliczane są do prebiotyków, gdyż pozytywnie wpływają na mikroflorę jelita grubego, stymulując rozwój bakterii dobroczynnych, takich jak: *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Namnażanie tych bakterii hamuje rozwój mikroflory patogennej, a tym samym powstawanie kancerogenów [7, 9]. Sacharydy te ulegają w jelicie grubym fermentacji bakteryjnej, wskutek której powstają krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe oraz następuje obniżenie pH środowiska. Obecność FOS w jelicie grubym powoduje 20-procentowy wzrost przyswajalności wapnia i magnezu [17]. Wykazują one zdolność do zmniejszania poziomu cholesterolu w osoczu krwi [4, 6]. Inulina i oligosacharoza stanowią specyficzną frakcję błonnika pokarmowego, cennego w przypadku diet niskoenergetycznych. W znacznej mierze zainteresowanie fruktanami jest związane z ideą żywności funkcjonalnej, która wywiera pozytywny wpływ na zdrowie człowieka [15].

Na rynku europejskim występują preparaty fruktanów, które są otrzymywane z korzeni cykorii (fruktany długołańcuchowe) w wyniku hydrolizy inuliny (Orafti – Raftilose P-95) oraz wytwarzane w wyniku transglikozylacji w roztworach sacharozy (Actilight, Meioligo, Nutraflora i FOS Wako Pure) [2, 8, 13]. Niezbędną dawkę FOS, w ilości 8-12 g/dobę/osobę [3], konieczną do osiągnięcia pożądaných skutków, trudno jest uzyskać przy spożywaniu produktów naturalnych. W związku z tym coraz powszechniejsza staje się potrzeba suplementowania wybranych artykułów żywnościowych preparatami fruktanów.

Fruktany nie ulegają trawieniu w przewodzie pokarmowym ze względu na brak w soku trzustkowym i jelitowym enzymów hydrolizujących wiązania  $\beta$ -2-1 glikozydowe, jednakże można oczekiwać, że ulegają one częściowej hydrolizie w środowisku kwaśnym.

Celem pracy była ocena stopnia hydrolizy wybranych fruktanów w warunkach symulujących działanie soku żołądkowego.

### **Materiał i metody badań**

Badaniom poddano handlowe preparaty fruktooligosacharydów: Raftilose, FOS Wako Pure oraz preparaty otrzymane w Politechnice Łódzkiej: preparat FOS-PŁ, nystozę (otrzymane w wyniku transglikozylacji sacharozy), inulinę krystaliczną z cykorii wg [5], mączkę cykoriową oraz sacharozę.

Preparaty o stężeniu 50–200 g/1000 ml zostały poddane hydrolizie w warunkach symulujących działanie soku żołądkowego. Hydrolizę prowadzono w temp. 36,6–37,0°C

przy pH 2,0, a w przypadku mączki cykoriowej zastosowano enzym pepsynę. Czas hydrolizy był zbliżony do okresu, w jakim pokarm przebywa w żołądku i wynosił od 30 do 180 min. Preparaty po hydrolizie zobojętniano stosując anionit Amberlite. Skład preparatów przed i po hydrolizie analizowano metodą chromatografii cieczowej - HPLC.

Analizę chromatograficzną prowadzono w chromatografie firmy Knauer, z systemem sterowania danych EuroChrom 2000, z zastosowaniem detektora RI i kolumny Aminex HPX-C87. Elucję wodną prowadzono z szybkością przepływu 0,5 ml/min. Roztwory po hydrolizie i zobojętnieniu rozcieńczano wodą w stosunku 1:3 i nastrzykiwano do układu chromatograficznego. Wszystkie oznaczenia wykonano w dwóch powtórzeniach.

### Wyniki i dyskusja

Skład oligomeryczny preparatów przed hydrolizą przedstawiono w tab. 1.

W trakcie hydrolizy kwasowej, symulującej warunki działania soku żołądkowego, stwierdzono zmiany jakościowe i ilościowe składu fruktanów w preparatach, związane z uwalnianiem reszty fruktozy od końca łańcucha fruktozylowego. W sposób graficzny przedstawiono zmiany ilościowe oligomerów w preparatach: FOS-PŁ (rys. 1) Raftilose (rys. 2), oraz w mączce z cykorii (rys. 3), które prowadziły do wzrostu udziału fruktozy oraz oligomerów o niższym DP w mieszaninie sacharydów.

W tab. 2. przedstawiono ilość fruktozy uwolnionej podczas hydrolizy. Po 180 min najwięcej fruktozy (13%) uwalniało się w trakcie hydrolizy preparatów zawierających w swoim składzie fruktany krótkołańcuchowe tj. Raftilose, którego głównymi składnikami były oligomery samej fruktozy: inulotrioza, inulotetraoza oraz w przypadku preparatu Wako Pure, który w swoim składzie nie zawiera oligomerów wyższych niż DP > 4. Podczas hydrolizy FOS-PŁ uwalniało się około 10% fruktozy po 180 min.

Najmniej fruktozy powstało w trakcie hydrolizy sacharozy, inuliny i nystozy (około 5%). W przypadku mączki cykoriowej poddanej hydrolizie ilość powstałej fruktozy po 180 min wynosiła 6% (rys. 3.).

Stałe szybkości hydrolizy (K) fruktanów wyznaczone wg mechanizmu reakcji jednocząsteczkowej wyniosły: inulina krystaliczna – 0,0006; FOS-PŁ – 0,0025; Raftilose – 0,0035; Wako Pure 0,0023; nystoza – 0,0006; sacharoza – 0,0005; mączka cykoriowa – 0,0007; mączka cykoriowa + pepsyna – 0,0009. Im wartość stałych szybkości hydrolizy jest niższa tym wolniej zachodzi proces. Najwolniej hydroliza zachodziła w przypadku sacharozy, nystozy, inuliny krystalicznej, najszybciej w preparatach zawierających fruktany krótkołańcuchowe.

Tabela 1

Skład oligomeryczny badanych preparatów FOS [%].  
Oligomeric composition [%] of FOS preparations investigated.



Preparaty Preparations	IN	F	G	INB	S	FOS							
						INR	K	INT	N	INP	FN	DP6	DP7
Raftilose	-	3,8	-	3,8	-	27,4	-	29,2	-	10,4	7,9	13	4,5
Wako Pure	-	1,6	0,4	-	2,5	-	37,1	-	49	-	8,7	0,7	-
FOS-PŁ	-	1,9	3,7	-	3,7	2,1	21,7	-	48,9	-	16,5	1,6	-
Inulina Inulin	95	1	1,1	-	1,2	1,8							
Mączka cykoriowa Chicory dry pulp	79	4,7	1,5	0,4	10,8	3,6							
Nystoza Nystose	-	-	-	-	-	-	-	-	98,8	-	1,2	-	-
Sacharoza Saccharose	-	-	-	-	100	-							

Objaśnienia:

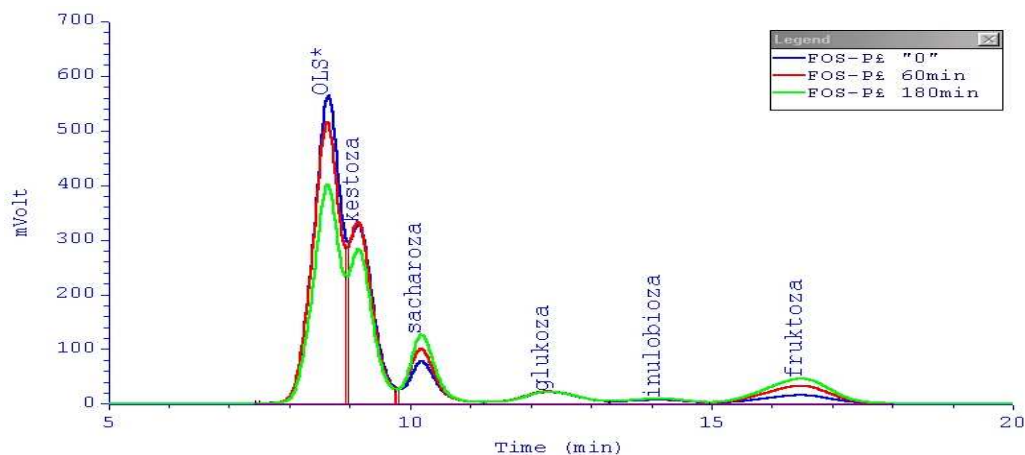
IN – inulina / inulin; F – fruktoza / fructose; G – glukoza / glucose, INB – inulobioza / inulobiose; S – sacharoza / saccharose; INR – inulotrioza / inulotriose; K – kestoza / kestose; INT – inulotetraoza / inulotetraose, N – nystoza / nystose; INP – inulopentaoza / inulopentaose, FOS – fruktooligosacharydy / fructooligosaccharides

Tabela 2

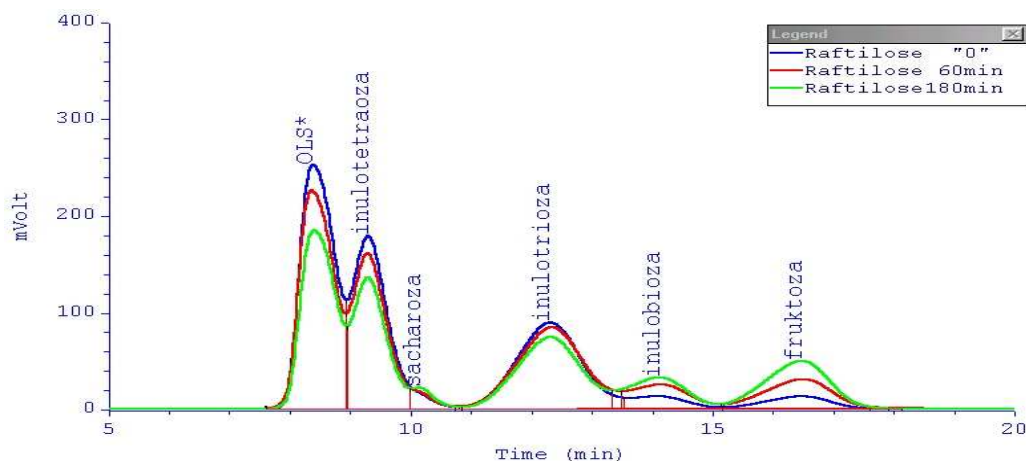
Przyrost fruktozy uwolnionej podczas hydrolizy preparatów FOS [%].

Increase [%] in the amount of fructose released while FOS preparations are hydrolysed.

Czas hydrolizy Time of hydrolysis	Preparaty handlowe Commercial preparations		Preparaty otrzymane w PŁ Preparations obtained in PŁ					
	Raftilose	Wako Pure	FOS-PŁ	Mączka cykoriowa Chicory dry pulp	Mączka cykoriowa + pepsyna Chicory dry pulp+pepsyne	Inulina Inulin	Nystoza Nystose	Sacharoza Saccharose
30	2,4	2	1,7	0,2	1,3	0,7	1,1	1,3
60	6,1	4,4	4	1,2	2,1	1,1	2,1	2
90	8,5	6,6	5,3	3,7	3,1	1,5	3,1	2,3
120	10,8	9,1	6,7	4,8	5	2,2	4,3	2,6
180	13	12,5	9,4	6,5	6,2	4,8	5,3	4,4

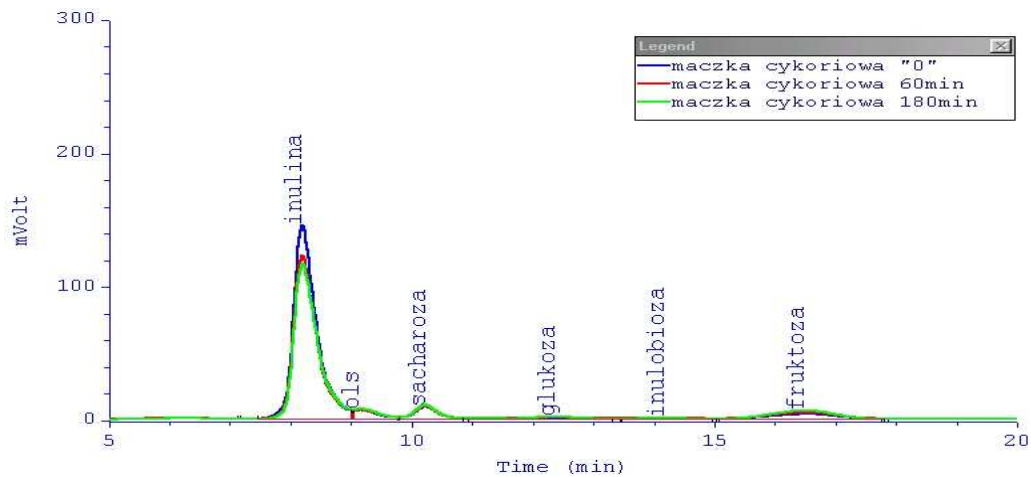
Rys. 1. Chromatogram preparatu FOS-PŁ. OLS\*-DP $\geq$ 4

Rys. 1. Chromatogram of a FOS-PŁ preparation.

Rys. 2. Chromatogram preparatu Raftilose. OLS\*-DP $\geq$ 5

Rys. 2. Chromatogram of a Raftilose preparation.

Po upływie 60 min hydrolizy ilość zachowanych fruktanów wynosiła od 86 do 98% (tab. 3). Po 180 min hydrolizy ilość fruktanów, które nie uległy hydrolizie wynosiła od 70% (Wako Pure) do 95% (inulina). Najbardziej odporne na hydrolizę prowadzoną w warunkach symulujących działanie soku żołądkowego były fruktany długołańcuchowe, w tym inulina, oraz mączki cykoriowe, które w swoim składzie zawierają również fruktooligosacharydy o DP $>$ 10. Niniejsze badania potwierdziły obserwacje poczynione przez Knudsen i Hessova [10].



Rys. 3. Chromatogram mączki cykoriowej.  
 Rys. 3. Chromatogram of a chicory dry pulp.

Tabela 3

Zawartość fruktanów niezhydrolizowanych w preparatach FOS po hydrolizie [%].  
 Content [%] of non-hydrolyzed fructans in FOS preparations after the hydrolysis completed.

Czas hydrolizy Time of hydrolysis [min]	Preparaty handlowe Commercial preparations		Preparaty otrzymane w PŁ Preparations obtained in PŁ					
	Raftilose	Wako Pure	FOS-PŁ	Mączka cykoriowa Chicory dry pulp	Mączka cykoriowa+ pepsyna Chicory dry pulp+pepsyne	Inulina Inulin	Nystoza Nystose	Sacharoza Saccharose
60	90,5	85,9	89,6	96,6	98,2	98,1	95,6	95,8
120	86,2	76,7	84,2	92,1	92,6	96,1	92	92,1
180	82	69,7	78,9	86,3	86,2	94,8	90,3	90

Stwierdzono, że najwięcej inulobiozy – 10%, (która ma słabsze właściwości bifodogenne) uwalniało się w trakcie hydrolizy preparatu Raftilose, zawierającego jako główne składniki oligomery samej fruktozy tj. inulotriozę i inulotetraozę (tab. 4, rys. 2.). W przypadku innych preparatów ilość uwolnionej inulobiozy nie przekraczała 1,7%.

Ilość uwolnionych cukrów metabolizowanych (fruktozy, glukozy, sacharozy) (tab. 5) w trakcie hydrolizy była różna w poszczególnych preparatach i wynosiła po 60 min od 2 do 14%, po 180 min od 10% (Nystoza) do 31% (Wako Pure). W przypadku mączek cykoriowych hydrolizowanych z i bez pepsyny nie stwierdzono różnic w ilości uwolnionych cukrów metabolizowanych (14%).

Tabela 4

Ilość uwolnionej inulobiozy w trakcie hydrolizy preparatów FOS [%].  
Content of inulobiose increase during hydrolysis.

Czas hydrolizy Time of hydrolysis [min]	Preparaty handlowe Commercial preparations		Preparaty otrzymane w PŁ Preparations obtained in PŁ					
	Raftilose	Wako Pure	FOS-P	Mączka cykoriowa Chicory dry pulp	Mączka cykoriowa+ Pepsyna Chicory dry pulp+pepsyne	Inulina Inulin	Nystoza Nystose	Sacharoza Saccharose
60	6,3	1,2	1,4	0,4	0,6	0,2	0,6	0
120	7,2	1,2	1,6	1	0,8	0,8	0,9	0
180	10,4	1,4	1,7	1,4	1,6	1	1	0

Tabela 5

Ilość uwolnionych cukrów metabolizowanych w trakcie hydrolizy preparatów FOS [%].  
Amount [%] of metabolized sugars released during the hydrolysis of FOS preparations.

Czas hydrolizy Time of hydrolysis [min]	Preparaty handlowe Commercial preparations		Preparaty otrzymane w PŁ Preparations obtained in PŁ					
	Raftilose	Wako Pure	FOS-PŁ	Mączka cykoriowa Chicory dry pulp	Mączka cykoriowa+ Pepsyna Chicory dry pulp+pepsyne	Inulina Inulin	Nystoza Nystose	Sacharoza Saccharose
60	4,5	14,1	10,4	3,4	1,8	2,1	4,4	100 4,2*
120	13,8	23,9	15,8	7,9	7,4	4,3	8	100 7,9*
180	18	31,3	21,1	13,7	13,8	14	9,7	100 12,8*

\*Udział sumy fruktozy i glukozy / Per cent rate of fructose and glucose.

## Wnioski

1. W trakcie hydrolizy kwasowej symulującej warunki działania soku żołądkowego następują zmiany jakościowe i ilościowe składu fruktanów związane z uwalnianiem reszty fruktozy od końca łańcucha fruktozylowego.
2. Najbardziej odporne na hydrolizę prowadzoną w warunkach symulujących działanie soku żołądkowego są fruktany długołańcuchowe (inulina krystaliczna),

- której po upływie 180 min pozostaje 95% początkowej ilości oraz inulina zawarta w nisko przetworzonej mączce cykoriowej (93%).
3. Najłatwiej ulegają hydrolizie preparaty zawierające  $\beta$ -fruktooligosacharydy homogenne oraz oligomery o DP 3-4.
  4. Najwięcej cukrów metabolizowanych (do 30%) uwalnia się podczas hydrolizy preparatów handlowych (preparat Wako Pure i FOS-PŁ) zawierających jako główne FOS: kestozę, nystozę i fruktozylonystozę.
  5. W wyniku hydrolizy fruktooligosacharydów homogennych znaczący udział w produktach hydrolizy stanowi inulobioza (10%) o działaniu probiotycznie mniej korzystnym niż FOS o DP>4.

Pracę wykonano w ramach PB2/KBN/021/P06/99 finansowanego przez Komitet Badań Naukowych w latach 2001-2004.

### Literatura

- [1] Bielecka M., Biedrzycka E., Majkowska A.: Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. Food Res. Int., 2002, **35**, 125-131.
- [2] Bornet F.R.J., Brouns F., Tashiro Y., Duvillier V.: Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. Digest Liver Dis., 2002, **34** (Suppl.2) S111-20.
- [3] Coussument P.A.A.: Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. Am. Soc. Nutr.Sci., 1999, 1412S-1416S.
- [4] Farine S., Versluis C., Bonnici P. J., Heck A., Peschet J. L., Ppuigserver A., Biagini A.: Separation and identification of enzymatic sucrose hydrolysis products by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. J. Chrom., 2001, 299-3308.
- [5] Gałązka I., Czarniecki A.: Otrzymywanie inuliny i jej koncentratów z korzeni cykorii. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2002, **3** (32) Supl., 46-54.
- [6] Hata Y., Hara T., Oikawa T., Yamamoto M., Hirose N., Nagashima T., Torihama N., Nakajima K., Watabe A., Yamashita M.: The effects of fructooligosaccharides against hyperlipidemics. Geriatr. Med., 2002, **21**, 156-167.
- [7] Hidaka H., Eida T., Tokunaga T., Tashiro Y.: Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. Bifidobacteria Microflora, 1986, **5**, 37-50.
- [8] Jong Won Yun.: Fructooligosaccharides—Occurrence, preparation, and application. Enzyme Microb Technol., 1996, **19**, 107-117.
- [9] Kaplan H., Hutkins R.: Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. Appl. Environ. Microbiol., 2000, **66**, 2682-2684.
- [10] Knudsen K.E.B, Hessov I.: Recovery of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) in the small intestine of man. J. Nutr., 1995, **74**, 101-113.
- [11] Kohlmünzer S.: Farmakognozja. Wyd. Lek PZWL. Warszawa 2003.
- [12] Linden G., Lorient D.: New ingredients in food processing. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, 1999, p. 224.
- [13] Roberfroid M.B.: Caloric value of inulin and oligofructose. J. Nutr., 1999, **129**, **3**, 1436S.
- [14] Ritsema T., Smeekens S.: Fructans: beneficial for plants and humans. Current Opinion in Plant Biology, 2003, **6**, 223-230.
- [15] Skowronek M., Fiedurek J.: Inulina i inulinazy, właściwości, zastosowania, perspektywy. Przem. Spoż., 2003, **3**, 23.

- [16] Spiegel J.E., Rose R., Karabell P., Vasilios H. Frankos, Donald F. Schmitt.: Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. *Food Technol.*, 1994, January, 85-89.
- [17] Van den Heuvel E.G., Muys T., van Dokkum W., Schaafsma G.: Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. *Functional properties of non-digestible carbohydrates*. INRA. Nantes 1998, p. 138.

## HYDROLYSIS OF FRUCTANS UNDER THE CONDITIONS SIMULATING THE EFFECT OF GASTRIC JUICE

### S u m m a r y

Fructans, just like cellulose, are not digested in the gastrointestinal tract. The reason is that there are no enzymes in the gastric, pancreatic and intestinal juices, which hydrolyze the  $\beta$ -2,1 glycoside bonds. However, they are partially hydrolyzed under the acidic conditions.

The objective of this study was the hydrolysis of fructans under the conditions, which simulate the effects of gastric juice. The 30 to 180 minute lasting hydrolysis was conducted at a temperature ranging between 36.6 and 37.0°C, at pH equalling 2. In the case when chicory meal was used, pepsin was also applied. The commercial preparations of FOS (FOS Wako Pure, Raftilose) were applied for the hydrolysis, as well as preparations supplied by the Łódź University of Technology, i.e.: FOS-PŁ, crystalline inulin from chicory, chicory dry pulp, nystose, and sucrose. The composition of the preparations before and after the hydrolysis was determined using a HPLC method.

It was stated that the kinetic constant of the hydrolysis of fructan, determined according to the mechanism of a one-molecule reaction, ranged from 0.0006 to 0.0035. The following inulin types showed the highest resistance towards the hydrolysis: crystalline inulin and inulin contained in the chicory meal. After a 180 minute period of the hydrolysis, the amount of crystalline inulin was 95%, and of the inulin contained in the not much processed chicory meal: 93%. Preparations containing homogenous  $\beta$ -fructooligosaccharides (Raftilose) and oligomers with DP equalling 3 to 4 (FOS Wako Pure, FOS-PŁ) hydrolyzed the best. The highest amounts (up to 30%) of hydrolyzed saccharides were released during the hydrolysis of the preparations Wako Pure and FOS-PŁ; in these preparations, the key FOS components were: kestose, nystose, and fructosyl-nystose).

**Key words:** chicory, fructans, fructooligosaccharides (FOS), inulin, hydrolysis 

AGNIESZKA GÓRECKA, KATARZYNA NIEPYTALSKA,  
KRZYSZTOF KRYGIER

**BADANIA NAD ZASTOSOWANIEM SKROBI MODYFIKOWANYCH  
DO PRODUKCJI NISKOTŁUSZCZOWYCH,  
BEZCHOLESTEROŁOWYCH EMULSJI MAJONEZOWYCH**

**Streszczenie**

Celem podjętych badań było określenia różnic jakościowych emulsji niskotłuszczowych wytworzonych z dodatkiem skrobi modyfikowanych o właściwościach zagęszczających i stabilizujących oraz ich porównanie z majonezem rynkowym o 50% zawartości tłuszczu.

Do otrzymania emulsji majonezowych zastosowano 5% dodatek skrobi modyfikowanych kleikujących w zimnej wodzie, a mianowicie: acetylowany adypanian diskrobiowy (E 1422), hydroksypropylowany fosforan diskrobiowy (E 1442), skrobię modyfikowaną fizycznie NOVATION oraz emulgator (0,5%) – sól sodową oktenylobursztynianu skrobiowego (E 1450).

Uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że możliwe jest otrzymanie stabilnych, niskotłuszczowych emulsji majonezowych bez żółtka, metodą „na zimno”, stosując skrobie modyfikowane chemicznie i fizycznie. Na podstawie oznaczeń lepkości, płynności oraz sensorycznej oceny konsystencji otrzymanych emulsji majonezowych stwierdzono, że pod względem właściwości reologicznych najbardziej zbliżona do majonezu wzorcowego (majonez z grupy gęstych) była emulsja z 5% dodatkiem hydroksypropylowanego fosforanu diskrobiowego.

Jednak majonez wzorcowy charakteryzował się zdecydowanie większą gęstością i sprężystością niż niskotłuszczowe emulsje, dlatego chcąc osiągnąć parametry wzorca, konieczne jest wzbogacenie emulsji majonezowej innymi hydrokolidami, bądź zastosowanie większego dodatku skrobi modyfikowanej.

**Słowa kluczowe:** skrobie modyfikowane, majonez niskotłuszczowy, konsystencja, ocena sensoryczna.

**Wstęp**

Wysokie spożycie tłuszczu w krajach Unii Europejskiej, w tym w Polsce, przyczynia się do rozwoju wielu chorób, m.in. otyłości, chorób układu krążenia i chorób nowotworowych. Zagrożenie chorobami powoduje, że następuje wzrost zainteresowania konsumentów żywnością niskotłuszczową. W wielu krajach, np.

---

*Mgr inż. A. Górecka, mgr inż. K. Niepytalska, prof. dr hab. K. Krygier, Zakład Technologii Tłuszczów*

W USA, jest ona uznana za żywność funkcjonalną ze względu na redukcję ryzyka wystąpienia wyżej wymienionych chorób. Jednym z produktów, który ma swój niskotłuszczowy odpowiednik jest majonez.

Majonez tradycyjny zawiera ok. 80% oleju roślinnego, a także żółtko jaja kurzego będące bogatym źródłem cholesterolu. Redukcja zawartości tłuszczu lub całkowita jego eliminacja z produktu realizowana jest poprzez wprowadzenie do żywności nowych składników, tzw. zamienników tłuszczu [6]. Wśród zamienników węglowodanowych dużą grupę stanowią skrobie modyfikowane [13]. Skrobie otrzymuje się głównie z kukurydzy (szczególnie woskowej), pszenicy, ziemniaków, ryżu i tapioki [11]. Skrobie w formie natywnej mają ograniczone zastosowanie w przemyśle spożywczym. Nadanie im odpowiednich cech osiąga się przeprowadzając modyfikacje.

Poniżej podano charakterystykę kilku skrobi modyfikowanych wykorzystywanych m.in. do produkcji niskotłuszczowych sosów majonezowych.

#### *Acetylowany adypinian diskrobiowy (E 1422)*

Otrzymywany jest na drodze estryfikacji skrobi bezwodnikami kwasów: adypinowego i octowego. Cechuje się właściwościami kwasowymi, stabilizującymi i zagęszczającymi, poprawia reologię produktu oraz odpowiada za jego trwałość (stabilność) podczas przechowywania. Może być stosowany do produktów o niskim pH [8, 10, 11, 12].

#### *Hydroksypropylowany fosforan diskrobiowy (1442)*

Preparat ten zaliczany jest do skrobi stabilizowanych poprzez estryfikację z utworzeniem fosforanu diskrobiowego oraz eteryfikację z utworzeniem hydroksypropyloskrobi; ma podobne właściwości do acetylowanego fosforanu diskrobiowego [7].

#### *Sól sodowa oktenylobursztynianu skrobiowego (E 1450)*

Otrzymywany jest przez estryfikację skrobi bezwodnikiem oktenylobursztynowym. Skrobia ta pełni rolę emulgatora i stabilizatora. Ze względu na hydrofilowy i lipofilowy charakter tworzy emulsje bez dodatku innych składników powierzchniowo czynnych. Jest wykorzystywany w produkcji sosów majonezowych otrzymywanych bez żółtka [11].



### *Skrobie modyfikowane metodami fizycznymi*

Otrzymuje się je przez obróbkę cieplną skrobi natywnej. Modyfikacje fizyczne prowadzą do zwiększenia rozpuszczalności skrobi bez zmniejszenia ciężaru cząsteczkowego jej składników (amylozy i amylopektyny) bądź do degradacji cząsteczki. Do skrobi modyfikowanych fizycznie należą skrobie z grupy NOVATION firmy National Starch & Chemical. Są to skrobie natywne o właściwościach porównywalnych z właściwościami skrobi modyfikowanych chemicznie. Ważny jest również fakt, że takie skrobie nie są znakowane jako skrobie modyfikowane [2, 3, 11].

Celem niniejszej pracy było określenia różnic jakościowych emulsji niskotłuszczowych wytworzonych z dodatkiem następujących substancji stabilizujących-zagęszczających: skrobie modyfikowane chemicznie – acetylowany adypinian diskrobiowy (AAD) i hydroksypropylowany fosforan diskrobiowy (HFD), skrobia modyfikowana fizycznie (NOVATION) oraz mieszanina skrobi AAD i HFD. Wytworzone emulsje porównano z majonezem rynkowym o 50% zawartości tłuszczu (majonez typu gęstego), który otrzymał najwyższą notę w ocenie sensorycznej konsystencji wśród przebadanych kilku majonezów rynkowych.

### **Materiał i metody badań**

Skład recepturowy niskotłuszczowych emulsji majonezowych, opracowanych na podstawie przepisów udostępnionych przez firmę National Starch & Chemical oraz specyfikacji poszczególnych preparatów, był następujący: skrobia modyfikowana jako substancja stabilizująca-zagęszczająca 5%, emulgator 0,5%, olej 5%, woda 82,3%, ocet 1%, cukier 2,5%, sól 1,7%, musztarda 2%. Zastosowano dodatek następujących rodzajów skrobi modyfikowanych kleikujących w zimnej wodzie: acetylowany adypinian diskrobiowy (E 1422) – PREGEFLO CH 20, produkt firmy Roquette; hydroksypropylowany fosforan diskrobiowy (E 1442) – ULTRA TEX 4; skrobie modyfikowane fizycznie – NOVATION 4600, produkty firmy National Starch & Chemical (producent zaleca stosowanie przynajmniej o 10% wyższego dozowania tej skrobi niż skrobi modyfikowanych chemicznie, jednak w celu porównania zastosowano taki sam jej dodatek, jak innych skrobi). Jako emulgator zastosowano sól sodową oktenylobursztynianu skrobiowego (E 1450) – N-CREAMER 46, produkt firmy National Starch & Chemical.

Emulsje majonezowe otrzymywano „na zimno” w homogenizatorze próżniowych HP-1,5 firmy PT-MASZ. Stosowano maksymalną prędkość obrotów homogenizatora równą 2825 obr./min, homogenizacja przebiegała przy zredukowanym o 24–48% ciśnieniu w stosunku do ciśnienia atmosferycznego, czas homogenizacji wynosił 1,5 min. Wykonano po trzy serie każdego rodzaju majonezu.

Lepkość emulsji mierzono przy użyciu reowiskozymetru – Rheotest-2, typ RV2 (Instrukcja urządzenia 1998). Do oznaczenia stabilności emulsji zastosowano metodę wirówkową [1]. Płynność emulsji majonezowych określano przy użyciu aparatu Bostwicka (Norma zakładowa firmy Develey Polska, instrukcja urządzenia 1999). Oznaczanie wielkości cząsteczek tłuszczu przeprowadzano metodą mikrometryczną w mikroskopie Studarm wyposażonym w okular mikrometryczny [4]. Pomiaru składowych barwy emulsji majonezowych metodą odbiciową dokonywano przy użyciu spektrofotometru Minolta CR-200 (Instrukcja aparatu 1996). Ocenę sensoryczną konsystencji metodą profilowania [14] przeprowadził dziesięcioosobowy zespół przeszkolonych pracowników Zakładu. Oceniano następujące wyróżniki: adhezyjność – stopień przylepności próbki do łyżeczki oraz konsystencja próbki w momencie opadania z łyżeczki, gęstość – odbierane doustnie wrażenie lepkości przy rozprowadzaniu próbki w jamie ustnej, jednorodność – wrażenie gładkości i jednolitości próbki, sprężystość – wrażenie elastycznego uginania się próbki podczas jej mastyfikacji, kleistość – stopień przylegania próbki do podniebienia i języka.

Powyższe badania przeprowadzano po 24 h od wytworzenia emulsji. Przeprowadzono również test przechowalniczy – próbki emulsji przechowywano w słoikach typu twist-off przez 4 tygodnie w temp. 10°C. Po tym czasie badano, jak zmieniła się lepkość pozorna, stabilność wirówkowa i wielkość cząstek tłuszczu badanych emulsji.

Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu komputerowego Statgraphics plus 2.1, stosując jednoczynnikową analizę wariancji. Analizę szczegółową wykonano za pomocą testu Fischera przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## **Wyniki i ich omówienie**

Średnie wartości wyników oznaczeń zamieszczono w tab. 1.

### *Porównanie lepkości i płynności emulsji majonezowych*

Największą lepkość, zmierzoną po 24 h od wyprodukowania, miała emulsja z dodatkiem HFD jako stabilizatorem. Charakteryzowała się ona jednocześnie najmniejszą płynnością. Niskotłuszczowa emulsja zawierająca mieszaninę AAD i HFD miała mniejszą lepkość i większą płynność. Lepkości dwóch pozostałych emulsji były najmniejsze i nie różniły się między sobą statystycznie istotnie.

Emulsje ze skrobią NOVATION oraz AAD były jednocześnie najbardziej płynne. Ich płynność nie spełniała wymogów Normy Zakładowej Develey, która przewiduje płynność majonezów od 0,5 do 3,5 cm/30 s. Po czterech tygodniach przechowywania lepkość prawie wszystkich emulsji wzrosła statystycznie istotnie. Jedynie lepkość emulsji z AAD wzrosła nieznacznie i nie różniła się statystycznie istotnie od lepkości

emulsji na początku testu przechowalniczego. Niskotłuszczowe emulsje majonezowe poddano sensorycznej ocenie konsystencji, a wyniki tej oceny przedstawiono na rys. 1.

Jako najmniej jednorodne oceniono emulsje z mieszaniną AAD i HFD oraz ze skrobią modyfikowaną fizycznie (NOVATION). Różnica w stopniu jednolitości tych emulsji nie była statystycznie istotna. Wyższa jednorodność charakteryzowała emulsję z AAD, która jednocześnie nie różniła się statystycznie istotnie pod względem jednorodności od niskotłuszczowej emulsji z dodatkiem skrobi HFD.

Tabela 1

Charakterystyka emulsji majonezowych – z dodatkiem różnych rodzajów skrobi modyfikowanych – oraz majonezu wzorcowego.

Profile of mayonnaise emulsions with modified starches added, and profile of a model mayonnaise applied.

Parametry Parameters	AAD $\bar{x} \pm SD$	HFD $\bar{x} \pm SD$	NOVATION $\bar{x} \pm SD$	AAD+HFD (1:1) $\bar{x} \pm SD$	Majonez wzorcowy Model mayonnaise
Lepkość po 24 h Viscosity after 24 h [mPa $\cdot$ s $\cdot$ 10 <sup>5</sup> ]	1,46 $\pm$ 0,06 a (A)	1,57 $\pm$ 0,03 c (A)	1,38 $\pm$ 0,02 a (A)	1,54 $\pm$ 0,03 b (A)	1,73 $\pm$ 0,02
Lepkość po 4 tygodniach Viscosity after 4 weeks [mPa $\cdot$ s $\cdot$ 10 <sup>5</sup> ]	1,55 $\pm$ 0,01 b (A)	1,65 $\pm$ 0,02 c (B)	1,47 $\pm$ 0,01 a (B)	1,62 $\pm$ 0,03 c (B)	-
Płynność Fluidity [cm/30 s]	5,57 $\pm$ 0,13 c	2,53 $\pm$ 0,13 a	7,87 $\pm$ 0,17 d	3,20 $\pm$ 0,22 b	2,13 $\pm$ 0,08
Jasność Brightness	83,81 $\pm$ 0,04 c	80,38 $\pm$ 0,33 a	83,11 $\pm$ 0,12 b	84,05 $\pm$ 0,19 c	89,37 $\pm$ 0,33
Udział barwy żółtej Part of yellow colour [%]	10,79 $\pm$ 0,12 ab	10,14 $\pm$ 0,09 a	11,92 $\pm$ 0,05 c	11,17 $\pm$ 0,10 bc	14,32 $\pm$ 0,24
Udział barwy zielonej Part of green colour [%]	4,37 $\pm$ 0,23 b	4,77 $\pm$ 0,71 c	3,86 $\pm$ 0,06 a	4,98 $\pm$ 0,23 d	0,28 $\pm$ 0,68
Stabilność po 24 h Stability after 24 h [%]	100 $\pm$ 0,0 a (A)	99,83 $\pm$ 0,24 a (A)	100 $\pm$ 0,0 a (A)	100 $\pm$ 0,0 a (A)	98,21 $\pm$ 0,34
Stabilność po 4 tygodniach Stability after 4 weeks [%]	99,81 $\pm$ 0,26 (A)	100 $\pm$ 0,0 (A)	100 $\pm$ 0,0 (A)	100 $\pm$ 0,0 (A)	-

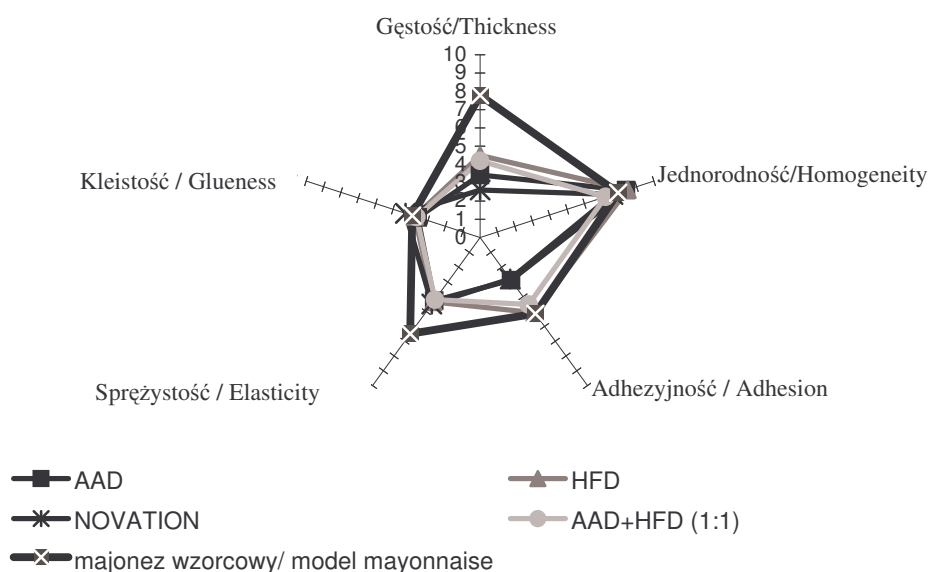
Objaśnienia / Explanatory notes:

AAD – acetylowany adypinian diskrobiowy / acetylated distarch adipate; HFD – hydroksoypropylowany fosforan diskrobiowy / hydroxypropyl distarch phosphate;

NOVATI ON – skrobia modyfikowana fizycznie / physically modified starch;

Wartości średnie badanych emulsji oznaczone tymi samymi małymi literami nie różniły się statystycznie istotnie pomiędzy sobą, zaś oznaczone tymi samymi dużymi literami nie różniły się statystycznie istotnie w odniesieniu do danej emulsji po okresie jej przechowywania ( $\alpha = 0,05$ )

The mean values of emulsions investigated, which are designated by the same small letters, did not significantly differ between each other, and the mean values designated by the same capital letters did not significantly differ with regard to a given type of emulsion after it storage ( $\alpha = 0,05$ ).



Rys. 1. Porównanie oceny sensorycznej konsystencji emulsji majonezowych i majonezu wzorcowego.

Fig. 1. The comparison of results obtained while evaluating the consistence of mayonnaise emulsions and model mayonnaise.

Objaśnienia jak w tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Kleistość sporządzonych emulsji oceniono na poziomie 3,58–4,29 pkt w dziesięciostopniowej skali i była ona zbliżona do kleistości majonezu wzorcowego. Także elastyczność emulsji była bardzo podobna w czterech niskotłuszczowych produktach, nie różniła się statystycznie istotnie od majonezu wzorcowego. Sprężystość majonezu wzorcowego została oceniona wyżej o ponad 2 pkt od sprężystości niskotłuszczowych emulsji.

Na doustną ocenę konsystencji składa się także gęstość. Za najbardziej gęstą uznano niskotłuszczową emulsję z 5% dodatkiem HFD jako stabilizatorem. Mniej gęsta była emulsja z mieszaniną dwóch różnych skrobi. Różnica w gęstości obydwu

emulsji nie była statystycznie istotna. Emulsja z AAD była rzadsza od wyżej opisanych zaś gęstsza od emulsji ze skrobią NOVATION.

Adhezyjność to cecha konsystencji opisująca stopień przylegania emulsji do łyżeczki. Najwyżej oceniona została w emulsjach z HFD oraz mieszaniną AAD i HFD. Różnice adhezyjności tych emulsji nie były statystycznie istotne. Adhezyjność emulsji z HFD i majonezu wzorcowego były bardzo zbliżone. Stopień przylegania do łyżeczki emulsji z AAD i z preparatem NOVATION był mniejszy niż wyżej opisanych emulsji i nie było między nimi statystycznie istotnej różnicy.

#### *Porównanie wyglądu zewnętrznego emulsji majonezowych*

Na podstawie wyników jasności oraz składowych barw żółtej i zielonej stwierdzono, że emulsja niskotłuszczowa z 5% dodatkiem HFD była najciemniejsza. Nieco jaśniejsza była emulsja z dodatkiem skrobi modyfikowanej fizycznie, zaś najjaśniejsze były emulsje, w których funkcję stabilizująco-zagęszczającą pełniły: AAD oraz mieszanina AAD i HFD. Wartości jasności tych emulsji były najbardziej zbliżone do 100 i nie różniły się statystycznie istotnie. Wyniki intensywności barw wskazują, że najmniejszy udział barwy żółtej był w niskotłuszczowej emulsji z HFD. Bardziej intensywny żółty odcień charakteryzował emulsje z AAD i mieszaniną skrobi modyfikowanych chemicznie. Emulsja ze skrobią NOVATION miała największy udział barwy żółtej, zaś odcień zielony był w niej najmniej intensywny. Największy udział barwy zielonej był w emulsji z 2,5% dodatkami: AAD i HFD. Wyniki stopni jasności oraz udziału barwy żółtej i zielonej zamieszczono w tab. 1.

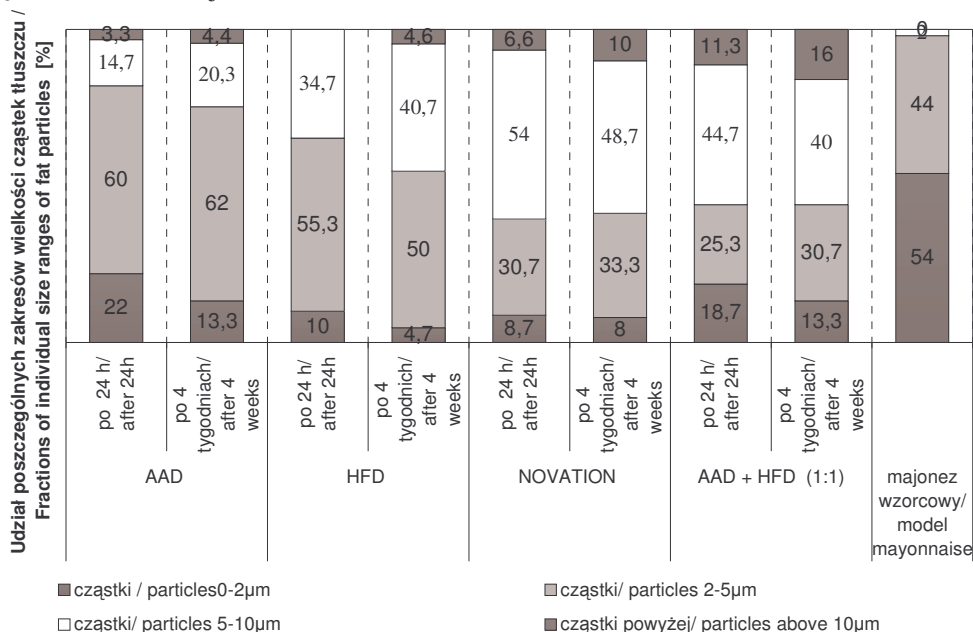
#### *Porównanie stabilności emulsji majonezowych*

Wszystkie emulsje charakteryzowały się bardzo wysoką stabilnością wirówkową (bliską 100%) zarówno 24 h po ich otrzymaniu, jaki i po 4 tygodniach przechowywania w warunkach chłodniczych (8°C) (tab. 1). Stabilność wszystkich emulsji po teście przechowalniczym nie różniła się statystycznie istotnie od stabilności tych emulsji oznaczonej przed testem.

Trwałość niskotłuszczowych emulsji majonezowych zawierających różne preparaty stabilizująco-zagęszczające zależy m.in. od wielkości cząstek tłuszczu. Zestawienie wielkości cząstek w otrzymanych emulsjach majonezowych przedstawiono na rys. 2.

Porównując badane emulsje z majonezem wzorcowym stwierdzono znaczne różnice w udziale poszczególnych zakresów wielkości cząstek, co zapewne wynika z różnej siły mechanicznej użytej przy wytwarzaniu tych produktów, nie zaś z rodzaju dodatku substancji stabilizującej.

Spośród emulsji otrzymanych laboratoryjnie próba zawierająca dodatek AAD charakteryzowała się największym udziałem cząstek tłuszczu z przedziału 0–2  $\mu\text{m}$ . Cząstki o średnicach 2–5  $\mu\text{m}$  najliczniej występowały w emulsji z AAD oraz HFD, gdzie było ich prawie dwa razy więcej niż w emulsjach ze skrobią NOVATION oraz z mieszaniną skrobi modyfikowanych chemicznie. Niskotłuszczowe emulsje majonezowe ze skrobią modyfikowaną fizycznie oraz mieszaniną AAD i HFD zawierały najwięcej cząstek, których średnice zawierały się w przedziale >10  $\mu\text{m}$ . Między tymi emulsjami nie było statystycznie istotnej różnicy. W emulsji z HFD liczba cząstek tłuszczu z tego przedziału stanowiła 34,7% i była ponad dwa razy większa niż w emulsji z AAD.



Rys. 2. Wielkość cząstek tłuszczu w otrzymanych emulsjach majonezowych.

Fig. 2. Fat particle sizes in mayonnaise emulsions produced.

Na stabilność emulsji ma wpływ lepkość fazy ciągłej, emulgator i średnica kuleczek tłuszczu, która z kolei jest zależna m. in. od użytej siły mechanicznej. Jako mniej stabilne majonezy uznawane są te, w których znaczny udział stanowią cząstki większe niż 10  $\mu\text{m}$  [9]. Spośród sporządzonych niskotłuszczowych emulsji najwięcej cząstek tłuszczu tej wielkości zawierały emulsje z mieszaniną skrobi modyfikowanych chemicznie oraz z preparatem NOVATION. Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy między tymi emulsjami. W emulsji z HFD cząstki tłuszczu wielkości powyżej 10  $\mu\text{m}$  nie występowały.

Po 4 tygodniach przechowywania wielkość cząstek tłuszczu zmieniła się nieznacznie. W emulsji z AAD liczba cząstek o wielkości 0–2  $\mu\text{m}$  zmniejszyła się prawie o 10%, zaś liczba cząstek z przedziału 5–10  $\mu\text{m}$  zwiększyła się statystycznie istotnie w porównaniu z liczbą tych cząstek sprzed testu przechowalniczego.

W emulsjach z HFD statystycznie istotnie zwiększyła się tylko liczba cząstek tłuszczu powyżej 10  $\mu\text{m}$ , zaś w pozostałych emulsjach zmiany wielkości cząstek po teście przechowalniczym były nieznaczne. Wzrost zawartości cząstek tłuszczu o większych średnicach po 4 tygodniach przechowywania jest efektem zjawiska koalescencji, tzn. łączenia się cząstek mniejszych w większe aglomeraty. Efekt ten przyczynia się do spadku stabilności emulsji na skutek jej rozwarstwiania [5]. Wszystkie otrzymane emulsje charakteryzowały się dużą trwałością co potwierdzają wyniki stabilności wirówkowej oraz wielkości cząstek tłuszczu.

### **Wnioski**

1. Możliwe jest otrzymanie stabilnych, niskotłuszczowych emulsji majonezowych bez żółtka metodą „na zimno”, stosując skrobię modyfikowaną chemicznie i fizycznie.
2. Stabilność wszystkich emulsji oznaczona metodą wirówkową była bardzo duża; emulsje nie różniły się statystycznie istotnie między sobą pod względem tego parametru. Test przechowalniczy oraz ocena wielkości cząstek tłuszczu w emulsji potwierdził wysoką stabilność emulsji. W czasie przechowywania wielkość cząstek tłuszczu w większości przypadków nie wzrosła statystycznie istotnie.
3. Na podstawie oznaczeń lepkości, płynności oraz sensorycznej oceny konsystencji otrzymanych emulsji majonezowych stwierdzono, że najbardziej zbliżonymi właściwościami reologicznymi do majonezu wzorcowego charakteryzowała się emulsja z hydroksypropylovanym fosforanem diskrobiowym.
4. Gęstość i sprężystość majonezu wzorcowego była zdecydowanie większa niż emulsji niskotłuszczowej, dlatego chcąc osiągnąć parametry wzorca, konieczne jest wzbogacenie emulsji majonezowej innymi hydrokoloidami, bądź zastosowanie większego dodatku skrobi modyfikowanej.

### **Literatura**

- [1] Acton J., Saffle R.: Stability of oil / water emulsion. J. Food Sci., 1971, **36**, 11-18.
- [2] Doniesienia z konferencji PIDŻ: Skrobię modyfikowane – właściwości i zastosowanie (1). Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2003, **3** (47), 16.
- [3] Doniesienia z konferencji PIDŻ: Skrobię modyfikowane – właściwości i zastosowanie (2). Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2003, **5** (47), 31.
- [4] Duszkiewicz–Reinhard W, Grzybowski R, Sobczak E.: Teoria i ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej i technicznej, Wyd. SGGW. Warszawa 1999, s. 28.
- [5] Koj F.: Podstawy technologii potraw. WNT. Warszawa 1980, s. 174, 166.



- [6] Kostyra E.: Zamienniki tłuszczu w serze Cheddar o obniżonej zawartości tłuszczu. *Żywność, Żywnienie a Zdrowie*, 1997, **2 (6)**, 151-152.
- [7] Lewandowicz G., Walkowski A., Gawęcki J.: Fosforany skrobiowe – charakterystyka, funkcje technologiczne i żywieniowe. *Przem. Spoż.* 1999, **3**, 34
- [8] Mart M.: Skrobie modyfikowane - właściwości i stosowanie. *Przeł. Piek. Cuk.*, 2003, **51 (5)**, 12-14.
- [9] Niewiadomski H.: *Technologia tłuszczów jadalnych*. WNT. Warszawa 1993, s. 414.
- [10] Rutkowski A, Gwiazda S, Dąbrowski K: *Kompendium dodatków do żywności*. Wyd. Hortimex, Konin 2003, s. 239.
- [11] Schube V, Kalisz E, Ratusz K.: Skrobie modyfikowane we wsadach owocowych, majonezach i dresingach. *Przem. Spoż.*, 2003, **3 (57)**, 22-26.
- [12] Sikorski Z.E.: *Chemia Żywności*: WNT Warszawa, 2000, s. 532.
- [13] Tyszkiewicz I.: Zamienniki tłuszczu w technologii żywności o obniżonej energetyczności. *Przem. Spoż.*, 1992, **5/6 (46)**, 132.
- [14] PN-ISO 11036: 1999. Analiza sensoryczna. Metodologia. Profilowanie tekstury.

#### A STUDY ON THE APPLICATION OF MODIFIED STARCHES IN THE PRODUCTION OF LOW-FAT AND CHOLESTEROL FREE MAYONNAISE EMULSIONS

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

The first objective of this study was to determine qualitative differences of low-fat emulsions produced using modified starches with a thickening and stabilizing effect on such emulsions; and the second objective was to compare the emulsions produced with a model, 50% fat containing mayonnaise available on the market.

While manufacturing mayonnaise emulsions, the following modified starches were added: 'ADD' acetylated distarch adipate (E 1422); hydroxypropyl distarch phosphate (E 1442), NOVATION – a physically modified starch, and, an emulsifier (0.5%), which was sodium octenyl succinate (E1450). The results obtained proved that it was possible to obtain stable, low-fat mayonnaise emulsions with no yolk using a specific 'cold' procedure of manufacturing with chemically and physically modified starches added. For the purpose of this study, the viscosity and fluidity of the emulsions produced were analyzed; and their consistence was assessed using a sensory assessment procedure. The analysis and assessment results obtained proved that, with regard to rheologic properties, the emulsion with a 5% of hydroxypropyl distarch phosphate added was, most of all, similar to the model mayonnaise (that was classified as a thick mayonnaise).

However, the model mayonnaise had much better thickness and elasticity properties if compared to low-fat emulsions. Thus, it was concluded that for the purpose of producing emulsions having parameters similar to the parameters of the model mayonnaise, it would be necessary to enrich mayonnaise emulsions with other hydrocolloids, or to apply higher amounts of a modified starch.

**Key words:** modified starch, low fat mayonnaise, consistency, sensory evaluation 



RADOSŁAW GRUSKA, MACIEJ WOJTCZAK

## **DYFUZJA WAPNIA DO TKANKI BURAKÓW CUKROWYCH**

### **KOMUNIKAT NAUKOWY**

#### **Streszczenie**

Koagulacyjne i adsorpcyjne właściwości związków wapnia są powszechnie wykorzystywane w przemyśle cukrowniczym. W artykule omówiono dyfuzję wapnia w tkance żywej buraków cukrowych, denaturowanej termicznie oraz poddanej obróbce prądem elektrycznym. Do jego oznaczania zastosowano metodę spektrometrii absorpcji atomowej. Stwierdzono, że w tkance buraczanej wapń dyfunduje maksymalnie na głębokość 5–6 mm. Obliczono współczynniki dyfuzji wapnia w tkance oraz wykonano ich analizę porównawczą, która wykazała, że w procesie dyfuzji wapnia istotną rolę odgrywa nie tylko różnica stężeń, ale też interakcje wapnia z pektynami. Dotyczy to zwłaszcza tkanki poddanej różnym zabiegom fizykochemicznym, zmieniającym stopień zestryfikowania pektyn.

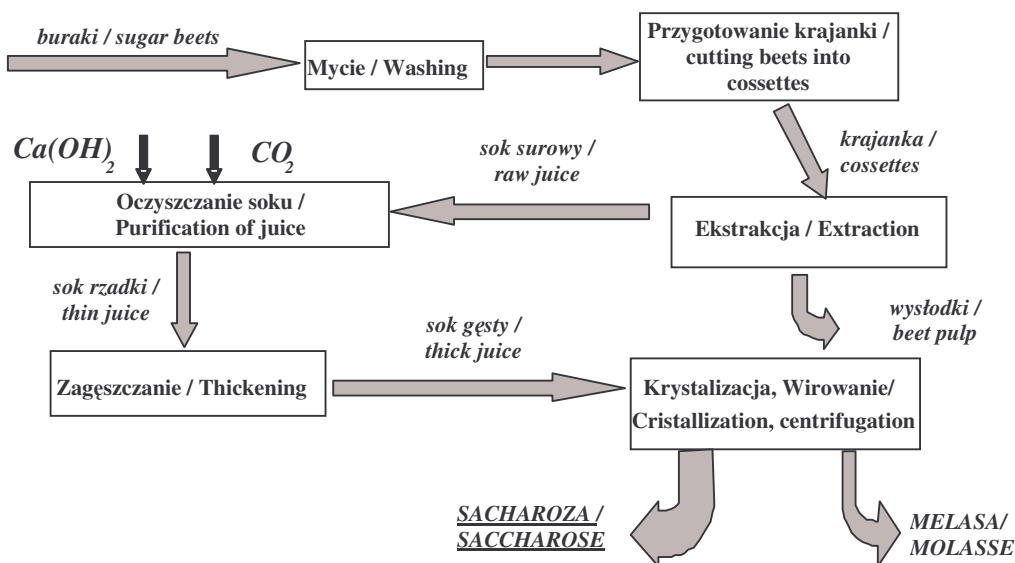
**Słowa kluczowe:** burak cukrowy, cukier biały, sacharoza, atomowa spektrometria absorpcyjna, dyfuzja wapnia.

#### **Wprowadzenie**

Sacharoza jest tanim, odnawialnym surowcem stosowanym w wielu dziedzinach gospodarki. Słodki smak, hydrofobowość, dyspersyjność w tłuszczach, obniżanie aktywności wody i aktywności mikrobiologicznej oraz zdolność do kształtowania właściwości reologicznych czynią sacharozę trudną do zastąpienia w wielu dziedzinach przemysłu spożywczego. Zapotrzebowanie na ten surowiec oraz tendencja do obniżania kosztów produkcji są przyczyną poszukiwania metod usprawnienia tradycyjnego sposobu pozyskiwania sacharozy.

W Polsce sacharozę otrzymuje się z buraków cukrowych. We wszystkich cukrowniach obowiązuje ten sam klasyczny schemat technologiczny, oparty na gorącej ekstrakcji, oczyszczaniu wapnem oraz kilkietapowej krystalizacji (rys. 1). Jednym z ważniejszych etapów w procesie technologicznym otrzymywania sacharozy jest

ekstrakcja, której celem jest wydobycie z tkanki korzeni buraków cukrowych maksymalnej ilości sacharozy, dbając jednocześnie o to, aby otrzymany sok charakteryzował się jak najlepszymi parametrami jakościowymi. Jest to o tyle ważne, że od procesu ekstrakcji zależy efektywność pozostałych etapów technologicznych, a szczególnie etap oczyszczania i krystalizacji.



Rys. 1. Klasyczny schemat technologiczny otrzymywania sacharozy z buraków cukrowych [4].

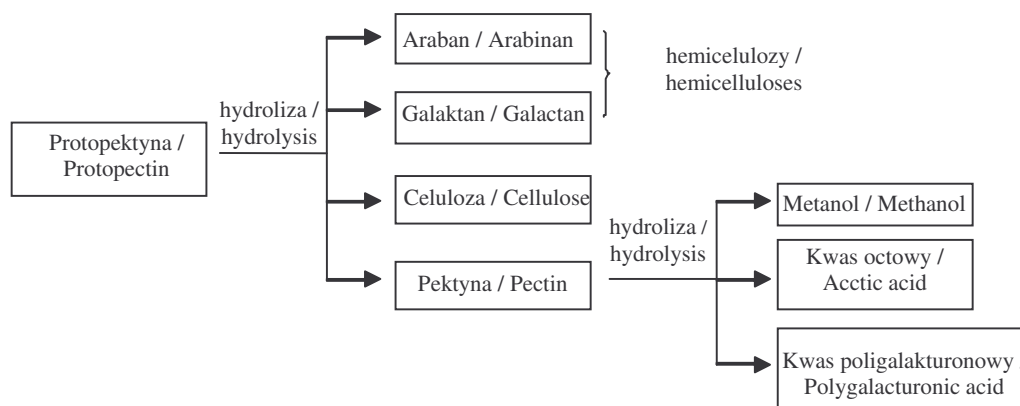
Fig. 1. Typical technological diagram of producing sugar from sugar beets [4].

W klasycznie prowadzonej ekstrakcji sacharoza dyfunduje z tkanki do roztworu ekstrahującego po wcześniejszej termicznej denaturacji białkowych struktur błon komórkowych. Jakkolwiek wysoka temperatura korzystnie wpływa na szybkość dyfuzji, to jej zbyt długie działanie powoduje hydrolizę protopektyn (rys. 2) [4, 10], związków budujących tkankę buraczaną.

Produkty ich hydrolizy razem z sacharozą przedostają się do soku, pogarszając jego czystość, co utrudnia procesy oczyszczania i krystalizacji. Nie bez znaczenia jest również negatywny wpływ wysokiej temperatury i czasu jej działania na pozostające po ekstrakcji wysłodki (wysłodzona krajanka buraczana). Na skutek hydrolizy protopektyn zmniejsza się ich masa oraz odporność mechaniczna, co wpływa niekorzystnie zarówno na efektywność samej ekstrakcji, jak i na późniejsze wyżymanie wysłodków w prasach.

Obecnie prowadzone badania, zmierzające do opracowania sposobów intensyfikowania ekstrakcji, wykorzystują zmiany trzech parametrów procesu: temperatury ekstrakcji, czasu ekstrakcji i ilości wody ekstrahującej. O ile ostatnie dwa

parametry można regulować w dość szerokich zakresach, jednocześnie zapewniając należyte wysłodzenie krajanki, to nie jest możliwe dowolne obniżanie lub podwyższanie temperatury. W pierwszym przypadku nie nastąpi lub wystąpi w niewielkim stopniu denaturacja błon komórkowych, zaś w przypadku nadmiernego podwyższenia temperatury termiczna hydroliza protopektyn w znacznym stopniu pogorszy zarówno jakość soku, jak i jakość otrzymywanych wysłodków.



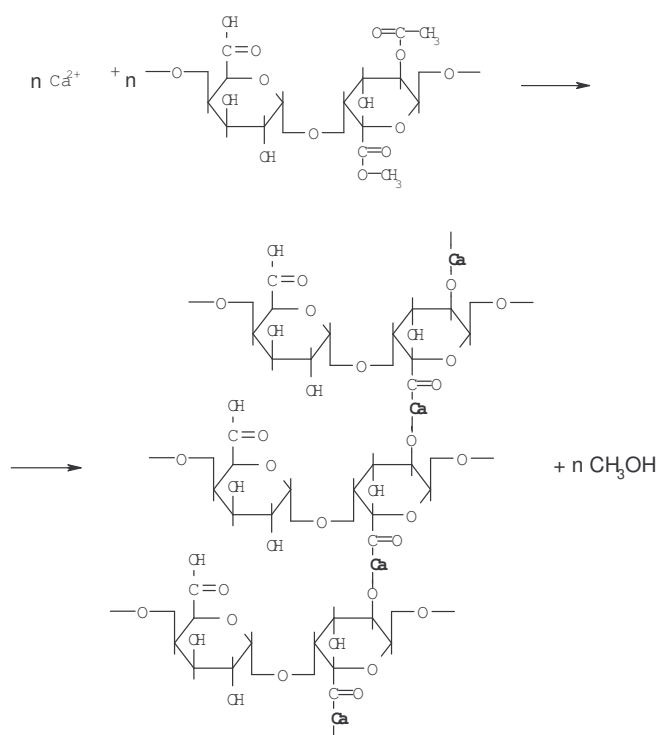
Rys. 2. Produkty hydrolizy protopektyny [4].

Fig. 2. Hydrolysis products of protopectin [4].

Doświadczalnie określono, że w warunkach przemysłowych, przy ekstrakcji trwającej około 100 min, temp. nie powinna przekraczać 75–80°C, przy czym około 70% całkowitego czasu przebywania krajanki w ekstraktorze powinno przypadać na aktywną dyfuzję. Stosując wówczas wodę wysładzającą w ilości około 1:1 na masę buraków otrzymuje się sok o czystości 87–89%, zawierający około 13–14% sacharozy oraz wysłodki o zawartości cukru na poziomie 0,4% [8]. Analizy właściwości tkanki buraczanej i techniki ekstrakcji prowadzą do wniosku, że jednym ze sposobów jej usprawnienia, pozwalającym do pewnego stopnia uniknąć negatywnych skutków działania wysokiej temperatury, może być zastosowanie związków zawierających jony wapnia. Doniesienia literaturowe [1, 2, 3] oraz badania własne [6] wskazują, że w pewnych warunkach dodanie do krajanki związków wapnia pozwala zachować lub nawet, w przypadku przerobu buraków o złej jakości technologicznej, poprawić czystość soku surowego i rzadkiego. Dodatkowo zauważono poprawę wytrzymałości mechanicznej wysłodków, co pozwalało na ich późniejsze wyżęcie nawet do zawartości suchej substancji przekraczającej 30% [1, 2].

Pozytywny wpływ jonów wapnia tłumaczy się jego specyficznym oddziaływaniem ze składnikami tkanki buraczanej, a w szczególności z pektynami, które wraz z białkami, hemicelulozami i celulozą są podstawowymi składnikami ścian komórkowych [7]. W krajance poddanej działaniu wapnia i wysokiej temperatury

następuje deestryfikacja pektyn, co umożliwi powstawanie dodatkowych miejsc sieciowania łańcuchów kwasu poligalakturonowego drogą podstawiania kationów wapnia (rys. 3). Dodatkowo wapń wnika w strukturę krajanki na zasadzie wymiany jonów i również uczestniczy w tworzeniu wiązań między łańcuchami pektyn. Powstały w wyniku deestryfikacji poligalakturonian wapnia jest odporny na degradację alkaliczną, która przebiega głównie w sąsiedztwie grup zestryfikowanych. Tak więc wcześniejsza deestryfikacja chroni pektynę przed późniejszą degradacją w środowisku alkalicznym.



Rys. 3. Deestryfikacja i sieciowanie łańcuchów pektyn pod wpływem jonów wapnia [5].

Fig. 3. Deesterification and linking of pectin chains encouraged by calcium ions [5].

Zaobserwowany, pozytywny wpływ wapnia na tkankę buraka cukrowego można wykorzystać efektywniej dysponując szczegółową wiedzą dotyczącą jego dyfuzji oraz zawartości w tkance korzeni buraków cukrowych.

Celem pracy było zbadanie dyfuzji wapnia do tkanki buraczanej, stosując do oznaczenia jego zawartości metodę spektrometrii absorpcji atomowej.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem badawczym były ogłowione korzenie buraków cukrowych z kampanii 2003 r. Ze względu na wyeliminowanie wpływu pH na tkankę, jako źródła jonów wapnia użyto klarownego, nasyconego roztworu siarczanu wapnia. Zawartość wapnia oznaczano metodą wersenianową. W otrzymanym roztworze  $\text{CaSO}_4$  zanurzano, w zależności od wariantu doświadczenia, odpowiednio spreparowany fragment tkanki o średnicy 40 mm i wysokości 100 mm, pochodzący z buraków żywych, tkankę poddaną denaturacji termicznej oraz tkankę poddaną działaniu prądu elektrycznego. Proces denaturacji prowadzono, przetrzymując przez 120 min fragment tkanki, szczelnie owinięty termoodporną folią, w łaźni wodnej o stałej temp. wody wynoszącej  $75^\circ\text{C}$ . Parametry denaturacji dobrano doświadczalnie tak, aby nie dopuścić do nadmiernego rozluźnienia struktury tkanki.

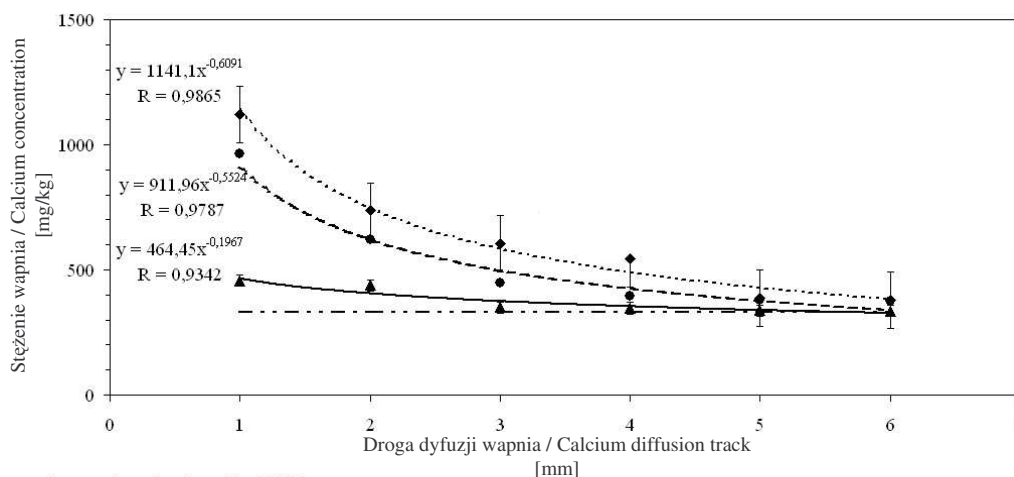
W przypadku działania prądu elektrycznego fragment tkanki umieszczano między dwiema elektrodami i poddawano działaniu pięciu udarów napięciowych o natężeniu pola elektrycznego, jakie wystąpiło przy wartości szczytowej napięcia udarowego, wynoszącym  $4,0 \text{ kV/cm}$  każdy. Udary wytwarzał generator, którego schemat, jak i sposób działania przedstawił Zybert [13]. W badaniach wstępnych wykonanych w Politechnice Łódzkiej [6] wykazano, że prąd elektryczny powoduje w tkance buraczanej efekt podobny do denaturacji termicznej, co w przyszłości może stać się ciekawą alternatywą dla kosztownego procesu z zastosowaniem energii cieplnej.

Kontaktująca się z roztworem siarczanu wapnia tkanka miała kształt walca. Boczną powierzchnię walca owijano samoprzylepną folią. Jedną z podstaw walca zanurzano na głębokość 10 mm w  $200 \text{ cm}^3$  przygotowanego roztworu  $\text{CaSO}_4$ . We wszystkich wariantach dyfuzję prowadzono w temp.  $22,5^\circ\text{C}$ . Po założonym czasie kontaktu próbki wyjmowano, a następnie wzdłuż osi podłużnej wycinano walec o średnicy 18 mm. Dzięki temu zabiegowi oraz uszczelnianiu folią minimalizowano ubytki wody związane z wysychaniem próbki oraz eliminowano wpływ jonów  $\text{Ca}^{2+}$  mogących dyfundować do tkanki przez boczną powierzchnię walca. Z tak przygotowanej tkanki, rozpoczynając od powierzchni kontaktującej się z roztworem  $\text{CaSO}_4$ , wycinano plasterki o grubości 1 mm, które po zważeniu poddawano mineralizacji w 65% kwasie azotowym. W otrzymanych mineralizatach metodą spektrometrii absorpcji atomowej oznaczano zawartość jonów wapnia przy długości fali  $\lambda = 422,7 \text{ nm}$ , stosując płomień powietrze/acetylen oraz chlorek lantanu jako czynnik uwalniający.

### **Wyniki i dyskusja**

Wyniki przedstawiono na wykresach (rys. 4–6). Rozpoczynając omawianie badań należy na wstępie zaznaczyć, że potraktowano je jako badania wstępne, stanowiące przyczynek do szerszego i bardziej szczegółowego zainteresowania się zagadnieniem

dyfuzji wapnia do tkanki buraczanej. Uwaga ta dotyczy również obliczeń, które zostały wykonane dla pojedynczych oznaczeń (bez analizy statystycznej), zaś ich zadaniem jest jedynie poznanie trendów i relacji warunkujących migrację jonów wapnia w tkance.



- ◆ – zawartość wapnia w tkance zdenaturowanej po kontakcie z roztworem siarczanu wapnia / calcium content in denatured beetroot tissue after its contact with a calcium sulphate solution
- – zawartość wapnia w tkance poddanej udarom, po kontakcie z roztworem siarczanu wapnia / calcium content in beetroot tissue after the surge voltage applied to it and after its contact with a calcium sulphate solution
- ▲ – zawartość wapnia w tkance żywej, po kontakcie z roztworem siarczanu wapnia / calcium content in live beetroot tissue after its contact with a calcium sulphate solution
- – zawartość wapnia w tkance żywej, niekontaktującej się z roztworem siarczanu wapnia / calcium content in live beetroot tissue having no contact with a calcium sulphate solution

Temperatura denaturacji / temperature of denaturation = 75°C;

Czas denaturacji / time of denaturation = 120 min

Natężenie pola elektrycznego, jakie wystąpiło przy wartości szczytowej napięcia udarowego / Electric field strength occurring at the peak value of surge voltage = 4 kV/cm;

Liczba udarów / number of surges = 5

Temperatura dyfuzji / temperature of diffusion = 22.5°C

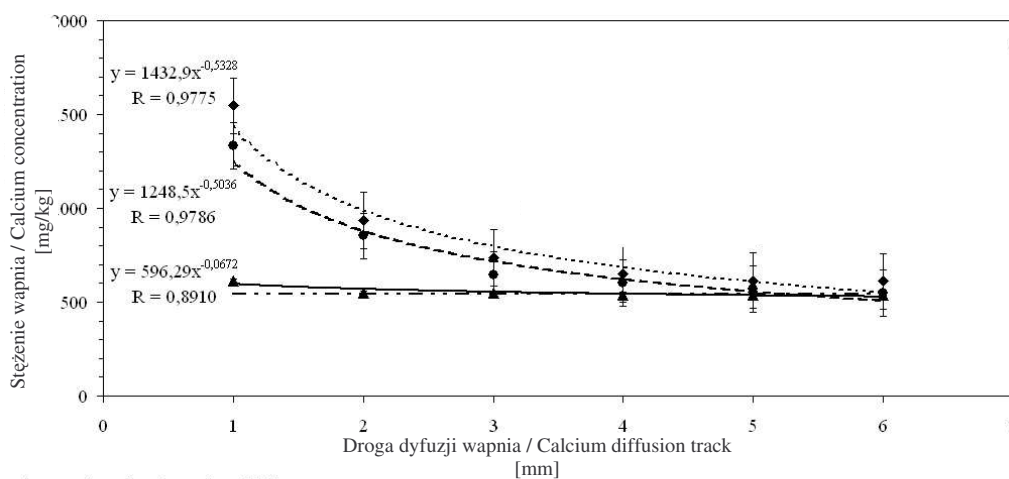
Czas dyfuzji / time of diffusion = 30 min

Rys. 4. Krzywe przedstawiające ilościowy rozkład wapnia w tkance kontaktującej się z nasyconym roztworem siarczanu wapnia przez 30 min.

Fig. 4. Curves showing the content of calcium in beetroot tissue having a 30 minute contact with calcium sulphate solution.

Metodą najmniejszych kwadratów wyznaczono dopasowanie punktów doświadczalnych za pomocą następującego równania:  $y = ax^b$ , gdzie  $a$  oraz  $b$  są stałymi. Poprawność użycia równania potęgowego do opisu punktów potwierdzają wysokie współczynniki korelacji, które dla analizowanych przykładów zawierają się

w granicach od 0,89 do 0,99. Fakt ten można wykorzystywać do obliczania (znając równania krzywych regresji dla danych warunków) spodziewanej zawartości wapnia w tkance, w poszczególnych jej warstewkach począwszy od części bezpośrednio kontaktującej się z nasyconym roztworem  $\text{CaSO}_4$ . Należy przy tym liczyć się z faktem, iż mimo wysokiego współczynnika korelacji otrzymany wynik może być obarczony pewnym błędem, zwanym błędem standardowym. Jest on miarą wielkości błędu przy prognozowaniu wartości  $y$  dla oddzielnej wartości  $x$ . Na wykresach błąd standardowy każdej serii badawczej został graficznie przedstawiony w postaci pionowych słupków zaznaczonych przy każdym punkcie doświadczalnym.



Temperatura denaturacji / temperature of denaturation = 75°C;

Czas denaturacji / time of denaturation = 120 min

Natężenie pola elektrycznego, jakie wystąpiło przy wartości szczytowej napięcia udarowego / Electric field strength occurring at the peak value of surge voltage = 4 kV/cm;

Liczba udarów / number of surges = 5

Temperatura dyfuzji / temperature of diffusion = 22.5°C

Czas dyfuzji / time of diffusion = 60 min

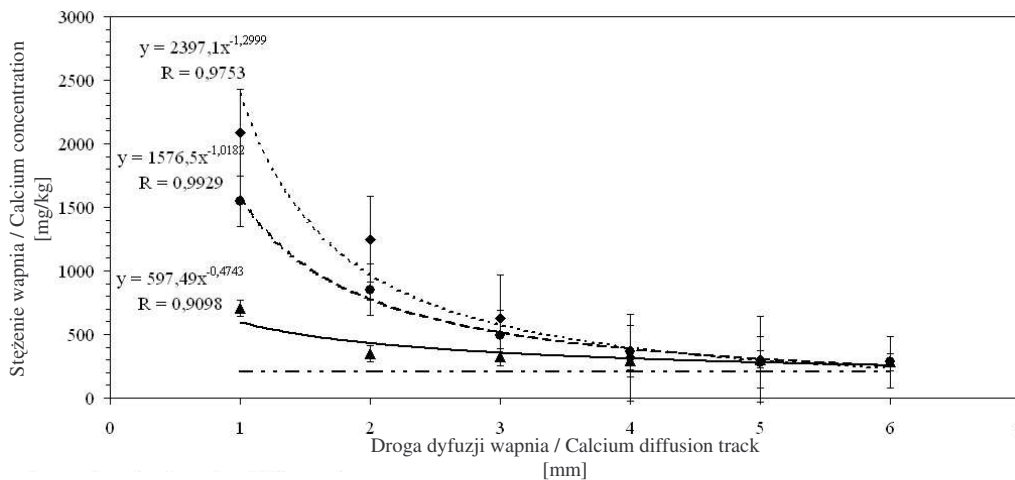
Objaśnienia jak na rys. 4.

Rys. 5. Krzywe przedstawiające ilościowy rozkład wapnia w tkance kontaktującej się z nasyconym roztworem siarczanu wapnia przez 60 min.

Fig. 5. Curves showing the content of calcium in beetroot tissue having a 60 minute contact with calcium sulfate solution.

Na podstawie krzywych regresji charakteryzujących się największymi współczynnikami korelacji, wyznaczono współczynniki dyfuzji wapnia w tkance buraczanej. Współczynnik ten jest wielkością charakterystyczną dla substancji

dyfundującej w danym ośrodku i w danych warunkach (np. w danej temperaturze), zależną jednocześnie od rodzaju ośrodka i warunków. W badanych przypadkach ośrodkiem, w którym badano dyfuzję wapnia była żywa tkanka korzeni buraków cukrowych, poddana denaturacji termicznej oraz działaniu prądu elektrycznego w postaci udarów napięciowych. Sam proces przebiegał w temperaturze 22,5°C.



Temperatura denaturacji / temperature of denaturation = 75°C;

Czas denaturacji / time of denaturation = 120 min

Natężenie pola elektrycznego, jakie wystąpiło przy wartości szczytowej napięcia udarowego / Electric field strength occurring at the peak value of surge voltage = 4 kV/cm;

Liczba udarów / number of surges = 5

Temperatura dyfuzji / temperature of diffusion = 22.5°C

Czas dyfuzji / Time of diffusion = 180 min

Objaśnienia jak na rys. 4.

Rys. 6. Krzywe przedstawiające ilościowy rozkład wapnia w tkance kontaktującej się z nasyconym roztworem siarczanu wapnia przez 180 min.

Fig. 6. Curves showing the content of calcium in beetroot tissue having a 180 minute contact with calcium sulfate solution.

Współczynnik dyfuzji obliczano korzystając z pierwszego prawa Ficka, wg którego ilość substancji ( $m$ ) dyfundującej w czasie ( $t$ ) przez powierzchnię graniczną ( $A$ ) jest proporcjonalna do gradientu stężenia  $dc/dx$  i do współczynnika dyfuzji ( $D$ ).

$$m = D \cdot A \cdot \frac{dc}{dx} \cdot t$$

Znając masy próbek, masy dyfundującej substancji, stężenia, czas oraz powierzchnie graniczne (w rozpatrywanych przypadkach były to powierzchnie kontaktu tkanki z roztworem) obliczono, że wartość współczynnika dyfuzji wapnia w temp. 22°C,



w tkance żywej oscyluje na poziomie  $1,6 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  i jest dwukrotnie mniejsza niż w tkance poddanej działaniu prądu elektrycznego (ok.  $3,3 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) i ponad czterokrotnie mniejsza niż w tkance poddanej obróbce termicznej (ok.  $7,1 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ). Dla porównania: średnia wartość współczynnika dyfuzji sacharozy w temp.  $25^\circ\text{C}$  w zdenaturowanej tkance zdrowych buraków, wg Vukowa [11], wynosi około  $3,1 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , zaś w tkance żywej, wg Richtera [9], współczynnik dyfuzji sacharozy kształtuje się w granicach  $0,6\text{--}0,96 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Obie wartości współczynnika dyfuzji sacharozy są około dwukrotnie mniejsze niż współczynniki dyfuzji wapnia. Dzieje się tak prawdopodobnie dlatego, że kation wapnia ma mniejszą masę cząsteczkową, a co za tym idzie mniejsze wymiary niż cząsteczka sacharozy. Dodatkowo, kation wapnia jest silnie wiązany przez pektyny, co zapewne w dosyć istotny sposób wpływa na współczynnik dyfuzji. Należy zaznaczyć, że zdolność do przyłączania wapnia przez pektyny jest tym większa, im mniej grup karboksylowych zajmują estrowe grupy metylowe. Zaś deestryfikacja pektyn może być wynikiem działania wysokiej temperatury (denaturacja termiczna) lub też energii wydzielanej selektywnie w tkance pod wpływem przepływającego przez nią prądu elektrycznego. Prawdopodobny mechanizm reakcji zaprezentowano na rys. 3. Biorąc pod uwagę interakcję wapnia z pektynami, zwłaszcza w dużym stopniu zdeestryfikowanymi, wy tłumaczenie znajduje fakt, że podczas ekstrakcji sacharozy, prowadzonej w kierunku: z tkanki do roztworu, przeszło połowa wapnia znajdującego się pierwotnie w tkance buraczanej pozostaje w wysłódkach [10].

Dane doświadczalne przedstawione na rys. 4–6 wskazują, że zarówno w przypadku tkanki żywej, jak i poddanej termicznej denaturacji, wapń wnikał maksymalnie na głębokość 5–6 mm. Dotyczy to wszystkich badanych przypadków czasu dyfuzji i pozwala sądzić, że na przebycie tej drogi kation wapnia potrzebuje mniej niż 30 min, co zweryfikowane zostanie podczas kolejnych badań.

## Wnioski

Ze względu na małą próbę analizowanego surowca roślinnego, otrzymanych zależności nie należy traktować jako oszacowania odpowiednich parametrów w zbiorowości generalnej. Sformułowane wnioski dotyczą tylko użytego w badaniach materiału doświadczalnego.

1. Ilościowy rozkład zawartości wapnia dyfundującego z nasyconego roztworu  $\text{CaSO}_4$  do tkanki korzeni buraków cukrowych można przedstawić w postaci krzywych potęgowych.
2. W tkance korzeni buraków cukrowych współczynnik dyfuzji wapnia jest około dwukrotnie większy niż współczynnik dyfuzji sacharozy. Dotyczy to zarówno tkanki żywej, jak i tkanki zdenaturowanej termicznie. Natomiast w tkance

- poddanej działaniu prądu elektrycznego współczynnik dyfuzji wapnia jest zbliżony do współczynnika dyfuzji sacharozy w tkance denaturowanej termicznie.
3. W tkance korzeni buraków cukrowych poddanej obróbce termicznej oraz tkance surowej, pozostającej w kontakcie z roztworem  $\text{CaSO}_4$ , niezależnie od czasu dyfuzji (w przedziale od 30 do 180 min) wapń wnikał maksymalnie na głębokość 5–6 mm od powierzchni kontaktu.
  4. Analiza porównawcza obliczonych współczynników dyfuzji oraz analiza ilościowego rozkładu wapnia w tkance buraczanej żywej i zdenaturowanej termicznie wskazują, że w procesie dyfuzji wapnia istotną rolę odgrywa nie tylko różnica stężeń, ale też interakcje wapnia z pektynami. Dotyczy to zwłaszcza pektyn o wysokim stopniu deestryfikacji grup karboksylowych.

*Praca naukowa finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych w latach 2003–2004 jako projekt badawczy nr 3 P06T 028 24.*

### Literatura

- [1] Acrosi C.A., Zama F.: Alkalische Extraktion von angefaulten Zuckerrüben. Zuckerind., 1993, **118**, 447.
- [2] Buchholz K., Shliephake D.: Über die Kampagne 1988 und neuere technologische Entwicklungen. Zuckerind., 1989, **114**, 275-290.
- [3] Buromski W.W., Butajenko I.F.: Wlijani efekta oczistki na diffuzii i na vychod sachara. Sach. Prom., 1997, 12,
- [4] Dobrzycki J.: Chemiczne podstawy technologii cukru, WNT. Warszawa 1984.
- [5] Grabka J.: Aspekty technologiczne wapnowania krajanki buraczanej. Gaz. Cukr. 1996, **4**, 64-67.
- [6] Gruska R.: Wpływ dodatku wodorotlenku wapnia na czystość soku buraka cukrowego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2002, **3 (32)** Supl., 66-72.
- [7] Heux L., Dinand E., Vignon M.R.: Structural aspects in ultrathin cellulose microfibrils followed by  $^{13}\text{C}$  CP-MAS NMR. Carbohydr. Pol. 1999, **40**, 115-124.
- [8] Poradnik inżyniera-Cukrownictwo – pod red. J. Dobrzyckiego. WNT, Warszawa 1987.
- [9] Richter E., Ehwald R.: Parenchymal transport of  $^{14}\text{C}$  sucrose and  $^{14}\text{C}$  mannitol in sugar beet roots after introduction via xylem vessel. Plant Sci. Lett. 1983, **32**, 177-181.
- [10] Van der Poel P., Schiweck H., Schwartz T.: Sugar technology – Beet and cane sugar manufacture, Verlag Dr. Albert Bartens KG, Berlin 1998.
- [11] Vukov K.: Physics and chemistry of sugar-beet in sugar manufacture. Akad. Kiado, Budapest 1977.
- [12] Wawro S., Gruska R., Zybert R.: Piorunowe udary napięciowe jako alternatywna obróbka korzeni buraków przed procesem ekstrakcji. Artykuł złożony do druku w Gaz. Cukr. 2004 .
- [13] Zybert R.: Układ generatora napięć udarowych piorunowych do badań urządzeń elektrycznych niskiego napięcia. Wiad. Elektrotech., 2003, **6**, 279-280.

### THE STUDY ON CALCIUM DIFFUSION INTO SUGAR BEET TISSUE

### S u m m a r y

Coagulation and adsorption properties of chemical compounds of calcium are commonly used in the sugar industry. The paper presents an analysis of calcium diffusion into live tissue of sugar beetroot and into tissue denatured using the impact of temperature and electric field. A method of atomic absorption spectrometry was used to determine the calcium diffusion. It was stated that the maximum diffusion of calcium into beetroot tissue was 5-6 mm. Calcium diffusion coefficients into sugar beetroot tissue were calculated and comparatively analysed. The results obtained showed that both the calcium concentration levels and the calcium interactions with pectins played the significant role during the calcium diffusion process. In particular, this statement refers to a tissue being processed by various physical and chemical treatment procedures changing the degree of pectin esterification.

**Key words:** sugar beet, white sugar, sucrose, atomic absorption spectrometry, calcium diffusion. ☒

MONIKA JARYCH

## ZMIANY ZAWARTOŚCI ZWIĄZKÓW WĘGLOWODANOWYCH W BULWACH ZIEMNIAKA W ZALEŻNOŚCI OD ODMIANY I DAWEK NAWOŻENIA AZOTEM

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu stosowania różnych dawek nawożenia azotem w uprawie nowych odmian ziemniaka na zawartość w bulwach suchej masy, skrobi, cukrów ogółem i cukrów redukujących.

Badaniom poddano bulwy 4 odmian ziemniaka – Bard, Lord, Cedron i Kuba. W doświadczeniu polowym z odmianami ziemniaka Bard i Lord (przeznaczonych do bezpośredniej konsumpcji) zastosowano 3 dawki nawożenia azotem: 40, 80 i 120 kg/ha, a w przypadku odmian Cedron i Kuba (przeznaczonych do produkcji chipsów lub suszy) 2 dawki: 100 i 140 kg N/ha. W bulwach oznaczono zawartość suchej masy, skrobi oraz cukrów ogółem i redukujących.

Odmiany przeznaczone do bezpośredniej konsumpcji zawierały mniejszą ilość suchej masy i skrobi, a więcej cukrów ogółem i redukujących niż odmiany przeznaczone do produkcji chipsów lub suszy. Wyższa, ze stosowanych w uprawie, dawka nawożenia azotem spowodowała zmniejszenie zawartości suchej masy i skrobi w ziemniakach odmiany Lord. Wyższe dawki nawożenia azotem spowodowały wzrost zawartości cukrów: ogółem i redukujących w ziemniakach odmian Bard, Lord i Cedron. Nie stwierdzono natomiast zmian zawartości tych składników w ziemniakach odmiany Kuba.

**Słowa kluczowe:** ziemniaki, nawożenie azotowe, cukry redukujące i ogółem, skrobia, sucha masa.

### Wstęp

Ziemniak należy do głównych roślin uprawnych w Polsce i jest chętnie spożywany zarówno w postaci bulw ugotowanych, jak i przetworów ziemniaczanych typu: chipsy, frytki czy potrawy przygotowane z suszy (puree, pyzy). Bulwy przeznaczone do bezpośredniej konsumpcji oraz do przetwórstwa spożywczego powinny charakteryzować się wieloma cechami jakościowymi, do których należą między innymi:

- regularny kształt, wyrównana wielkość,

- płytko osadzone oczka,
- brak uszkodzeń, porażen chorobami, brak zazielenienia,
- brak wad ukrytych (komory powietrzne, plamistość),
- niska skłonność do ciemnienia miąższu surowego i po ugotowaniu [6, 11, 12].

Ziemniaki powinny mieć odpowiedni skład chemiczny i wysoką wartość żywieniową. Ważna jest zawartość związków węglowodanowych w bulwach, gdyż decyduje o ich przydatności do przetwórstwa spożywczego i do konsumpcji w gospodarstwach domowych czy gastronomii. Ziemniaki odmian jadalnych kierowane do konsumpcji zawierają zwykle 16–22% suchej masy, 10–16% skrobi oraz nie więcej niż 1% cukrów ogółem, gdyż większa zawartość cukrów nadaje bulwom słodki smak [6]. Wymogi w stosunku do ziemniaka przeznaczonego do przerobu przemysłowego są bardziej rygorystyczne – powinny zawierać nie więcej niż 0,5% cukrów ogółem, a ilość innych składników zależy od kierunku użytkowania. Ziemniaki kierowane do produkcji czipsów powinny zawierać 21–25% suchej masy, 15–19% skrobi i nie więcej niż 0,25% cukrów redukujących. Do produkcji frytek przydatne są ziemniaki o zawartości suchej masy 20–22% i skrobi 14–16% oraz mniej niż 0,3% cukrów redukujących. Natomiast do produkcji suszy przeznaczone są bulwy zawierające 21–25% suchej masy, 15–19% skrobi i nie więcej niż 0,5% cukrów redukujących [12]. Odpowiednia zawartość suchej masy i skrobi kształtują konsystencję wyrobu i pozwalają uzyskać po przetworzeniu produkt o małej zawartości tłuszczu [20]. Natomiast zbyt duże nagromadzenie cukrów redukujących jest przyczyną niepożądanego brązowienia produktu (będącego wynikiem reakcji Maillarda) podczas ogrzewania ziemniaków w wysokich temperaturach, zwłaszcza smażenia [6, 23, 24].

Zawartość suchej masy i związków węglowodanowych w bulwach jest determinowana przede wszystkim przez odmianę ziemniaka oraz modyfikowana przez czynniki glebowe, klimatyczne, meteorologiczne i agrotechniczne, takie jak: termin sadzenia i zbioru, nawadnianie, stosowanie środków ochrony roślin oraz nawożenie [1, 2, 13, 15, 16]. W nawożeniu mineralnym największe znaczenie ma nawożenie azotem. Jest ono najbardziej plonotwórczym składnikiem pokarmowym, kształtuje jakość plonu [21] i w największym stopniu modyfikuje skład chemiczny bulw [9]. Dawka mineralnego nawozu azotowego powinna być odpowiednio dobrana i uwzględniać zapotrzebowanie danej odmiany, kierunek jej użytkowania i warunki glebowe uprawy [18]. Stosowanie wzrastających dawek nawożenia azotowego daje wzrost plonu tylko wtedy, gdy nie będzie przekroczona tzw. maksymalna biologiczna dawka azotu [21]. Stosowanie wyższych dawek nawożenia powoduje zmniejszanie plonu bulw oraz zwykle pogorszenie ich jakości [9, 19]. Przy wzroście ilości stosowanego azotu zmniejszeniu ulega zawartość suchej masy i skrobi w bulwach, wzrastać może ilość cukrów redukujących [15].

Celem pracy było określenie wpływu stosowania różnych dawek nawożenia azotem w uprawie nowych odmian ziemniaka na zawartość w bulwach suchej masy, skrobi, cukrów ogółem i cukrów redukujących.

### Material i metody badań

Badaniom poddano próby bulw 2 wczesnych odmian ziemniaka – Bard i Lord – przeznaczonych do bezpośredniej konsumpcji oraz wczesnej odmiany Cedron i średnio wczesnej Kuba – przeznaczonych do produkcji chipsów lub suszy. Ziemniaki pochodziły z sezonów wegetacyjnych 2002 i 2003 r. Doświadczenie polowe prowadzono w Rolniczym Zakładzie Doświadczalnym w Pawłowicach metodą podbloków w 3 powtórzeniach, na glebie zaliczonej do kompleksu pszennego dobrego, klasy bonitacyjnej III b. Ziemniaki sadzono w kwietniu ręcznie, a następnie przykrywano za pomocą obsypnika. Przed wschodami wykonywano oprysk przeciwko chwastom. W okresie wegetacji stosowano chemiczną ochronę roślin przeciwko stonce ziemniaczanej oraz przeciwko zarazie ziemniaczanej w zależności od nasilenia zagrożenia. W okresie przeprowadzania badań średnia temperatura powietrza była wyższa od średniej wieloletniej (tab. 1), natomiast ilość opadów niższa od średniej wieloletniej.

Tabela 1

Średnia temperatura powietrza i sumy opadów atmosferycznych w okresie wegetacji ziemniaka według Stacji Meteorologicznej w Swojcu.

The mean air temperature and total amounts of rainfall in a period of potato vegetation as registered at the Meteorological Station at Swojec.

Lata Years	Temperatura powietrza [°C] Air temperature [°C]					Opady atmosferyczne [mm] Rainfall amount [mm]				
	IV	V	VI	VII	VIII	IV	V	VI	VII	VIII
2002	9,0	17,4	18,5	20,5	20,9	32,9	39,5	82,4	26,8	103,1
2003	8,3	16,1	20,0	19,9	20,5	15,0	75,5	33,1	57,5	53,8
Średnia wieloletnia 1971–2000 Mean value of many years 1971 -2000	8,2	13,4	16,6	18,4	17,4	35,3	59,4	67,8	68,5	67,6

W doświadczeniu polowym z odmianami ziemniaka Bard i Lord zastosowano 3 dawki nawożenia azotem: 40, 80 i 120 kg N/ha, a w przypadku odmian Cedron i Kuba 2 dawki: 100 i 140 kg N/ha. Ziemniaki były zbierane z pola w pełnej dojrzałości i przechowywane przez 2 tygodnie w temp. około 15°C przy wilgotności względnej powietrza około 85%.

Po przywiezieniu do laboratorium, w bulwach każdej próby oznaczano zawartość suchej masy i skrobi oraz cukrów ogółem i redukujących. W celu oznaczenia zawartości suchej masy i skrobi ziemniaki rozdrabniano w malakserze do uzyskania jednorodnej miazgi. Suchą masę oznaczano metodą wagową przez suszenie miazgi ziemniaczanej z piaskiem do stałej masy w temp. 105°C, po uprzednim podsuszeniu w temp. 60°C przez 2 godziny [4]. Zawartość skrobi oznaczano metodą polarymetryczną Ewersa-Grossfelda w modyfikacji Hadorna i Bifera [7]. Oznaczanie cukrów ogółem i redukujących wykonywano metodą redukcijną Nizowkina-Jemielianowej [10] w materiale zliofilizowanym. Liofilizat uzyskiwano, susząc bulwy pokrojone w plastry o grubości 1 cm, w liofilizatorze typu Modulo 4K II firmy Edwards. Wysuszony produkt mielono w młynku elektrycznym. Sproszkowany produkt przechowywano w szczelnie zamkniętych słoikach.

Otrzymane wyniki badań poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica 6.0, stosując jednoczynnikową analizę waiancji. Grupy homogenne wyznaczono stosując test porównań wielokrotnych Duncana (na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ ).

## Wyniki i dyskusja

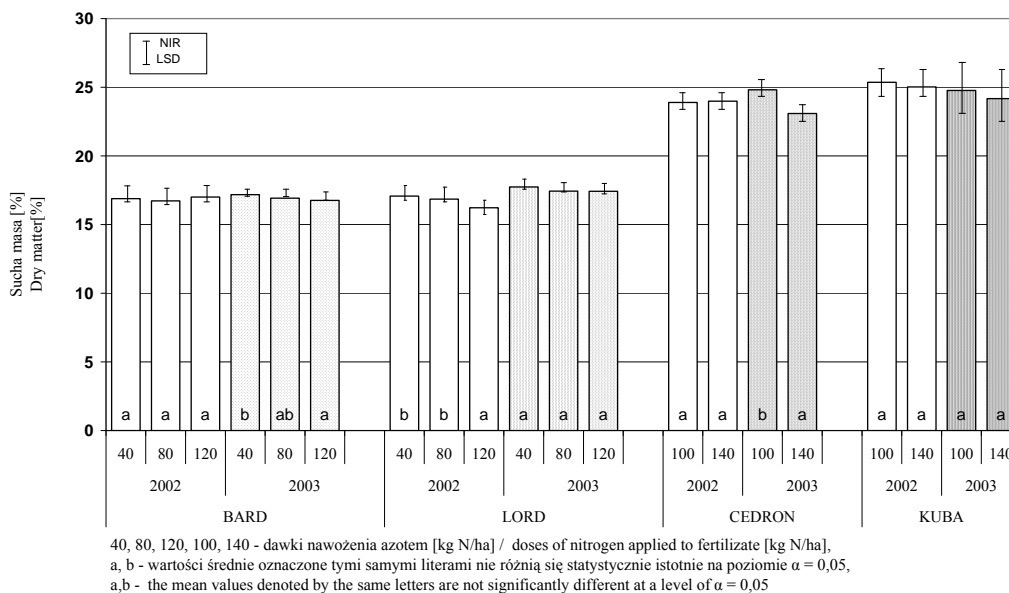
W tab. 2. zamieszczono wyniki zawartości suchej masy i związków węglowodanowych w ziemniakach czterech odmian uprawianych w latach 2002 i 2003, nawożonych dawką podstawową 40 kg N/ha (Bard i Lord) oraz 100 kg N/ha (Cedron i Kuba). Badane odmiany charakteryzowały się różną zawartością suchej masy. Ziemniaki przeznaczone do bezpośredniej konsumpcji zawierały mniej suchej masy – odmiana Bard 17,03%, a Lord 17,40%, – niż odmiany przeznaczone do przetwórstwa – Cedron 24,35%, i Kuba 25,06%. Sezon wegetacyjny nie miał wpływu na kształtowanie się sumarycznej zawartości suchej masy w bulwach (rys. 1). Zastosowanie wzrastających dawek nawożenia azotem spowodowało zmniejszenie zawartości suchej masy tylko w ziemniakach odmiany Lord (rys. 1). Ziemniaki tej odmiany uprawiane z zastosowaniem najwyższej dawki azotu – 120 kg/ha miały mniej suchej masy niż pochodzące z poletek nawożonych 40 kg N/ha. Zmniejszenie zawartości suchej masy w ziemniakach pod wpływem zwiększonych dawek nawożenia azotem stwierdzili także inni autorzy [5, 19, 26]. Odmiana jest wskazywana przez wielu autorów [15, 23, 25] jako czynnik mający największy wpływ na zawartość suchej masy w bulwach. W przeprowadzonych przez Zgórską i Frydecką-Mazurczyk [26] badaniach siedmiu odmian ziemniaka nawożonych azotem w ilości 40, 120 i 200 kg/ha, odmiany Narew, Pola, Sokół, i Sowa zareagowały na zwiększające się dawki nawożenia azotem zmniejszeniem zawartości suchej masy w bulwach, natomiast w ziemniakach odmian Ronda, Ryś i Tarpan nie obserwowano zmian zawartości suchej masy pod wpływem zastosowanych dawek nawozu mineralnego.

Tabela 2

Zawartość suchej masy [%] i związków węglowodanowych [%] w ziemniakach czterech odmian uprawianych w latach 2002 i 2003.  
The dry matter [%] and carbohydrate compounds [%] of four potato varieties cultivated in the year 2002 and 2003.

Składnik Component	Odmiana / Variety											
	Bard			Lord			Cedron			Kuba		
	2002	2003	Wartość średnia Mean value	2002	2003	Wartość średnia Mean value	2002	2003	Wartość średnia Mean value	2002	2003	Wartość średnia Mean value
Sucha masa Dry matter	16,89	17,18	17,03	17,07	17,74	17,40	23,89	24,81	24,35	25,36	24,77	25,06
Skrobia Starch	11,74	11,71	11,72	12,12	12,91	12,51	18,57	19,00	18,78	20,49	19,00	19,74
Cukry ogółem Total amount of sugars	0,75	0,96	0,98	1,03	0,83	0,96	0,27	0,28	0,28	0,42	0,41	0,42
Cukry redukujące Reducing sugars	0,23	0,25	0,24	0,26	0,18	0,22	0,07	0,05	0,06	0,12	0,16	0,14

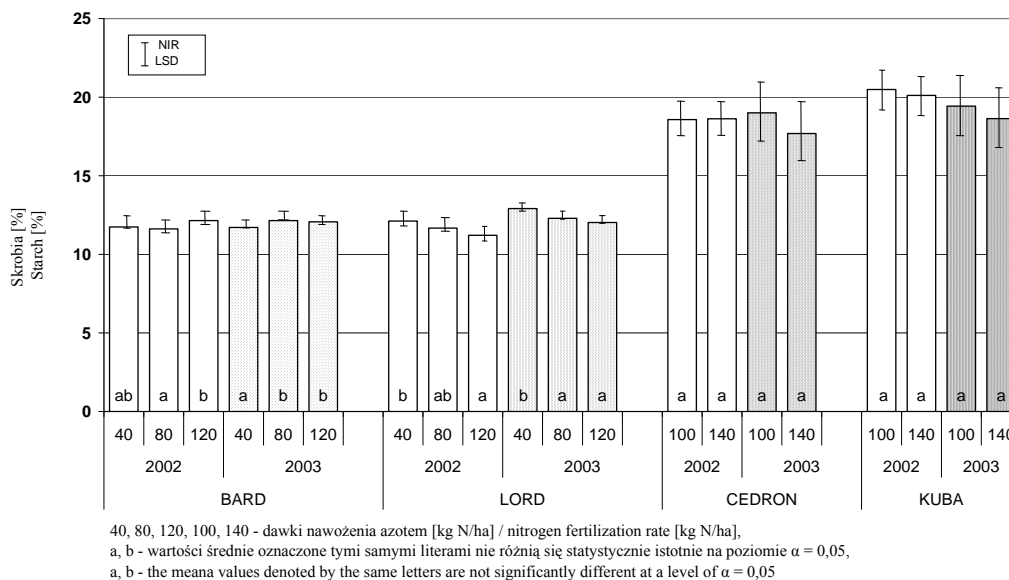




Rys. 1. Zawartość suchej masy w bulwach 4 odmian ziemniaka nawożonego w uprawie różnymi dawkami azotu (sezon wegetacyjny 2002 i 2003).

Fig. 1. The Dry matter content in four potato varieties treated using various doses of N (vegetative seasons 2002 and 2003).

Zawartość skrobi (tab. 2), podobnie jak suchej masy, była mniejsza w ziemniakach odmiany Bard (11,72%) i Lord (12,51%) niż w Cedron (18,78%) i Kuba (19,74%). Ziemniaki odmiany Lord (rys. 2) nawożone dawką 80 i 120 kg N/ha zawierały mniej skrobi niż traktowane w uprawie dawką 40 kg N/ha. W ziemniakach odmiany Cedron i Kuba zawartość skrobi nie uległa zmniejszeniu przy zastosowaniu większej dawki nawożenia azotem (140 kg/ha). Zgórska i Frydecka-Mazurczyk [25], w badaniach przeprowadzonych z użyciem 15 odmian ziemniaka, wykazały, że odmiana miała większy wpływ na zawartość skrobi w bulwach niż sezon wegetacyjny i nawożenie. Jabłoński [3], stosując w doświadczeniu polowym dawki nawożenia azotowego 50, 100, 150 i 200 kg N/ha, stwierdził, że zawartość skrobi w ziemniakach odmiany Danusia, Wigry i Wiking zmniejszała się wraz ze wzrostem dawki nawożenia, natomiast w ziemniakach odmian Wawrzyn i Wolfram nie uległa zmianie. Natomiast Ry-muza [19] odnotowała zmniejszenie zawartości skrobi w ziemniakach wszystkich badanych przez siebie odmian przy zastosowaniu wzrastających dawek nawożenia azotowego (60, 120 i 180 kg N/ha).

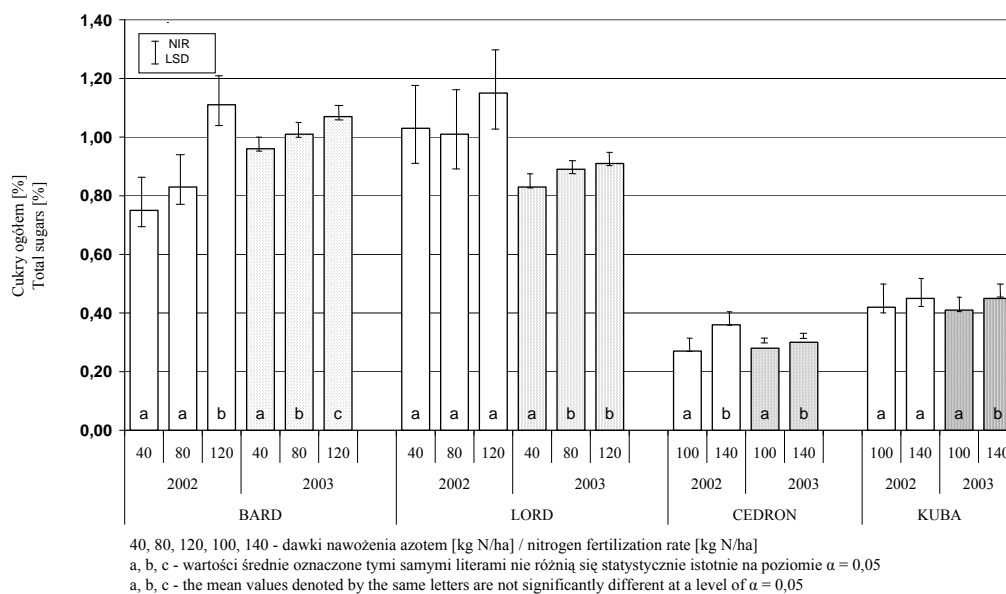


Rys. 2. Zawartość skrobi w bulwach 4 odmian ziemniaka nawożonego w uprawie różnymi dawkami azotu (sezon wegetacyjny 2002 i 2003).

Fig. 2. Starch content of four potato varieties treated various N rates (vegetative seasons 2002 and 2003).

Nowacki i wsp. [15], a także wielu innych autorów [11, 25, 26] wskazują, że zawartość cukrów ogółem w bulwach ziemniaka kształtowana jest w dużej mierze przez genotyp. W przeprowadzonym doświadczeniu zawartość cukrów ogółem (tab. 2) w bulwach zależała przede wszystkim od odmiany i była wyższa w ziemniakach odmian – Bard (0,98%) i Lord (0,96 %), w porównaniu z zawartością w ziemniakach odmian Cedron (0,28%) i Kuba (0,42%). Sezon wegetacyjny nie miał wpływu na kształtowanie się zawartości cukrów ogółem w bulwach (rys. 3) z wyjątkiem odmiany Lord. Ziemniaki tej odmiany w roku 2002 zawierały o 10% więcej cukrów niż w roku 2003. Spośród badanych odmian jedynie ziemniaki odmiany Lord (w roku 2002) zawierały więcej cukrów niż ilość wymagana w ziemniakach odmian konsumpcyjnych (poniżej 1%). Ziemniaki odmian Bard i Lord traktowane w uprawie najwyższą dawką azotu – 120 kg/ha – zawierały najwięcej cukrów ogółem (rys. 3). Wzrostem zawartości cukrów w bulwach pod wpływem nawożenia azotowego reagowała także odmiana Cedron. Nie stwierdzono natomiast zmian zawartości cukrów ogółem w ziemniakach odmiany Kuba pod wpływem nawożenia. Inni autorzy również obserwowali zróżnicowany wpływ nawożenia na zawartość cukrów ogółem w bulwach, w zależności od stosowanych dawek azotu [5, 22]. Pęksa [17] donosi, że nawożenie ziemniaków odmian Bliza i Bóbr wysoką dawką azotu (240 kg N/ha) nie wpłynęło na zawartość cu-

krów ogółem w bulwach w porównaniu z zawartością cukrów w ziemniakach nienawożonych azotem (0 kg N/ha). Z kolei w doświadczeniu Zgórskiej i Frydeckiej-Mazurczyk [26] wszystkie badane odmiany (Narew, Pola, Sokół, Sowa, Ronda, Ryś i Tarpan) reagowały wzrostem zawartości cukrów ogółem w bulwach pod wpływem zwiększających się dawek nawożenia azotem (40,120 i 200 kg/ha).

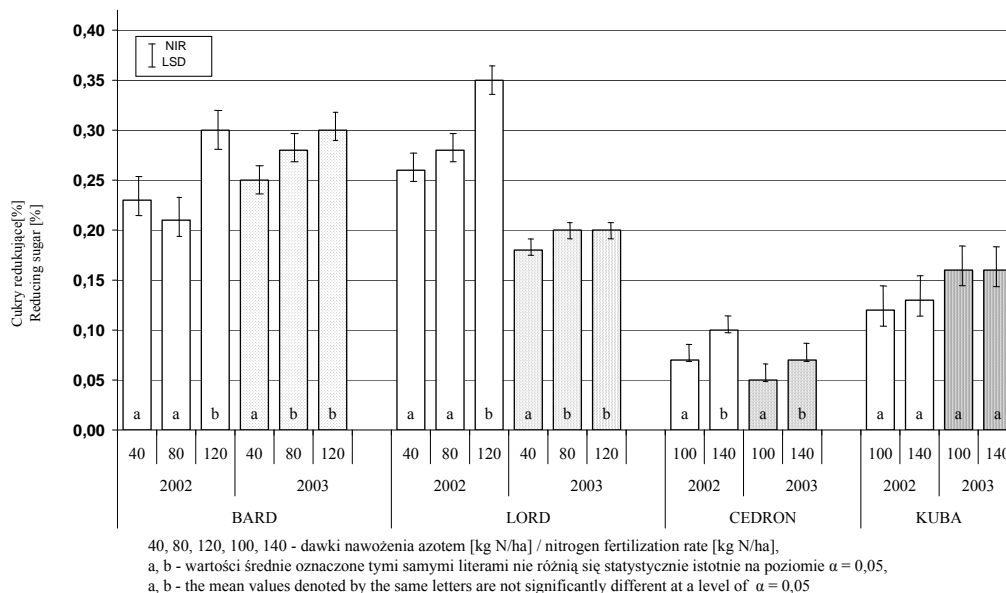


Rys. 3. Zawartość cukrów ogółem w bulwach 4 odmian ziemniaka nawożonego w uprawie różnymi dawkami azotu (sezon wegetacyjny 2002 i 2003).

Fig. 3. Total sugars content of four potato varieties treated various N rates (vegetative seasons 2002 and 2003).

Zawartość cukrów redukujących w bulwach (tab. 2) wszystkich badanych odmian była niska (poniżej 0,25%). Ziemniaki przeznaczone do produkcji chipsów i suszy (Cedron i Kuba) zawierały poniżej 0,15% cukrów redukujących, a Bard i Lord poniżej 0,25%. Zgórska i Frydecka-Mazurczyk [23] podają, że ziemniaki do produkcji chipsów powinny zawierać jak najmniej cukrów redukujących, najlepiej poniżej 0,1%. Sezon wegetacyjny (rys. 4) miał wpływ na kształtowanie się zawartości cukrów redukujących w ziemniakach odmiany Lord, które w roku 2002 zawierały średnio o 35% więcej cukrów niż w roku 2003. Zastosowanie różnych dawek nawożenia azotem spowodowało wzrost zawartości cukrów redukujących w ziemniakach odmian Bard, Lord i Cedron, natomiast nie wpłynęło na zawartość cukrów redukujących w ziemniakach odmiany Kuba (rys. 4). Według Nowackiego i wsp. [15] wzrastające nawożenie azotowe może

w różny sposób kształtować zawartość cukrów redukujących w bulwach, podobne wnioski formułują też inni autorzy [5, 8, 17].



Rys. 4. Zawartość cukrów redukujących w bulwach 4 odmian ziemniaka nawożonego w uprawie różnymi dawkami azotu (sezon wegetacyjny 2002 i 2003).

Fig. 4. Reducing sugar content of four potato varieties treated various N rates (vegetative seasons 2002 and 2003).

W związku z tym, że zawartość cukrów ogółem i redukujących w bulwach przeznaczonych do przetwórstwa spożywczego powinna być jak najmniejsza – korzystniejszy skład chemiczny ziemniaków odmian Cedron i Kuba uzyskano stosując dawkę azotu 100 kg/ha. Zawartość cukrów w bulwach przeznaczonych do bezpośredniego spożycia jest mniej istotna, lecz wzrosła niekorzystnie przy nawożeniu ziemniaków odmian Bard i Lord największą dawką azotu – 120 kg/ha (jednocześnie zmalała zawartość suchej masy i skrobi w ziemniakach odmiany Lord).

## Wnioski

1. Odmiany przeznaczone do bezpośredniej konsumpcji (Bard i Lord) zawierały mniejszą ilość suchej masy i skrobi oraz więcej cukrów ogółem i redukujących w bulwach niż odmiany przeznaczone do produkcji czipsów lub suszy.
2. Zastosowanie największej dawki nawożenia azotem w ilości 120 kg/ha w uprawie ziemniaka odmiany Lord spowodowało zmniejszenie zawartości suchej masy i skrobi w bulwach.

3. Wyższe ze stosowanych dawek nawożenia azotem spowodowały wzrost zawartości cukrów ogółem i redukujących w ziemniakach odmian Bard, Lord i Cedron, nie stwierdzono natomiast zmian zawartości tych składników w ziemniakach odmiany Kuba.

### Literatura

- [1] Cieślík E.: The effect of naturally occurring vitamin C in potato tubers on the levels of nitrates and nitrites. *Food Chem.*, 1994, **49**, 233-235.
- [2] Cieślík E.: The effect of weather conditions on the level of nitrates in tubers of some potato varieties. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1995, **4/45**, **3**, 11-19.
- [3] Jabłoński K.: Wpływ nawożenia azotowego na plon, jego strukturę oraz jakość nowych odmian jadalnych uprawianych na glebach średnio zwięzłych. *Mat. Konf. Nauk.: "Znaczenie odmiany w agrotechnice i przechowalnictwie ziemniaka"*, Jadwisin 2003.
- [4] Krełowska-Kułas M.: *Badanie jakości produktów spożywczych*. PWE. Warszawa 1995.
- [5] Leszczyński W., Lisińska G., Sobkowicz G.: Wpływ różnych dawek nawozów azotowych na jakość bulw ziemniaka. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Technol. Żyw. III*, 1984, **149**, 131-143.
- [6] Leszczyński W.: Jakość ziemniaka konsumpcyjnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 2000, **4 (25) Supl.**, 5-27.
- [7] Leszczyński W.: Krytyczna ocena metod oznaczania zawartości skrobi w bulwach ziemniaka. *Przem. Ferm. Rol.*, 1975, **11**, 22-24.
- [8] Leszczyński W.: Wpływ chemizacji rolnictwa na jakość ziemniaka i właściwości skrobi. *Mat. Konf. Nauk. „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie”*, AR Wrocław, Polanica Zdrój 2002, s. 41-46.
- [9] Leszczyński W.: Wpływ czynników działających w okresie wegetacji ziemniaka na jego jakość. *Post. Nauk Rol.*, 1994, **6**, 55-68.
- [10] Lisińska G., Leszczyński W., Golachowski A., Regiec P., Pęksa A., Kita A.: *Ćwiczenia z technologii przetwórstwa węglowodanów*. Wyd. AR. Wrocław 2002.
- [11] Lisińska G., Leszczyński W.: *Potato science and technology*. Elsevier Applied Science, London 1989.
- [12] Lisińska G.: Ziemniak jako surowiec dla przemysłu spożywczego. *Post. Nauk Rol.*, 1994, **1**, 31-40.
- [13] Mazurczyk W., Lis B.: Variation of chemical composition of potato table cultivars grown under deficit and excess of water. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2001, **10/51**, **2**, 27-30.
- [14] Mondy N. I., Koch R. L., Chandra S.: Influence of nitrogen fertilization on potato discoloration in relation to chemical composition. 2. Phenols and ascorbic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 1979, **27**, **2**, 418-420.
- [15] Nowacki W., Głuska A., Gruczek T., Lis B., Lutomirska B., Roztopowicz S., Zarzyńska K.: Uprawa ziemniaków a wartość konsumpcyjna i technologiczna bulw. *Mat. Konf. Nauk.: „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie”*, AR Wrocław, Polanica Zdrój 2000, s. 23-32.
- [16] Pęksa A., Gołubowska G., Rytel E., Lisińska G., Aniołowski K.: Influence of harvest date on glycol-alkaloid contents of three potato varieties. *Food Chem.*, 2002, **78**, 313-317.
- [17] Pęksa A.: Wpływ czynników uprawowych i warunków przechowywania ziemniaka na skład chemiczny bulw i jakość otrzymanych z nich czipsów. Cz. I. Wpływ nawożenia azotem na skład chemiczny bulw i jakość otrzymanych z nich czipsów. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Technol. Żyw. VI*, 1991, **215**, 11-26.

- [18] Praca zbiorowa pod red. W. Nowackiego: Podręcznik producenta ziemniaków. Wyd. „MIST”, IHAR, Jadwisin 2002.
- [19] Rymuza K.: Wpływ dawki nawożenia mineralnego na plon i jakość bulw ziemniaka jadalnego na glebie lekkiej. Materiały Konferencji Naukowej: „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie”, AR Wrocław, Polanica Zdrój 2002, s. 99-100.
- [20] Tajner-Czopek A.: Konsystencja frytek ziemniaczanych w zależności od zawartości i składu polisacharydów w surowcu. Praca doktorska, AR we Wrocławiu, 1999.
- [21] Wojcieszka U.: Fizjologiczna rola azotu w kształtowaniu plonu roślin. Część I. Oddziaływanie azotu na wielkość plonu roślin. Post. Nauk Rol., 1994, **1**, 115-126.
- [22] Wojdyła T.: Smakowitość bulw ziemniaka w zależności od zastosowanych fungicydów i nawożenia azotem. Fragm. Agr., 1997, **4 (56)**, 4-17.
- [23] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk A.: Przydatność nowych polskich odmian ziemniaka do przetworstwa spożywczego. Zesz. Prob. Post. Nauk Rol., 2002, **489**, 347-354.
- [24] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk A.: Rozmieszczenie suchej masy i sacharydów w różnych częściach bulw ziemniaka. Zesz. Prob. Post. Nauk Rol., 2002, **489**, 327-334.
- [25] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk A.: Warunki agrotechniczne i przechowalnicze a cechy użytkowe bulw ziemniaka. Biul. Inst. Ziem., 1985, **33**, 109-120.
- [26] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk A.: Wpływ wzrastających dawek nawożenia azotem i temperatury przechowywania na ubytki i zmiany zawartości niektórych składników chemicznych bulw ziemniaka 7 nowych odmian. Biul. Inst. Ziem., 1981, **26**, 75-93.

#### CHANGES IN THE CONTENT OF CARBOHYDRATE COMPOUNDS PRESENT IN POTATO TUBERS DEPENDING ON THE POTATO VARIETY AND NITROGEN RATES

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

The purpose of the study was to determine the effect of the doses of N applied to treat new potato varieties on the content of dry matter, starch, total amount of sugars, and the reducing sugar in potato tubers.

The experiments were conducted on four potato varieties: Bard, Lord, Cedron, and Kuba. The experimental field with Bard and Lord varieties (which were planned for direct consumption) was treated with three doses of N: 40, 80, and 120 kg of N/ha, while the Cedron and Kuba varieties were treated with two doses of N: 100 and 140 kg of N/ha. In the potato tubers investigated, the following parameters and the content of the following components were determined: dry matter, starch, total amount of sugars, and the reducing sugar.

The potato varieties for direct consumption showed a lower dry matter and starch content, whereas the total amount of sugars in them, as well as the content of reducing sugar were higher if compared with the potato varieties planned for production of chips and dehydrated products. Higher doses of N used for the Lord variety resulted in a lower content of dry matter and starch in the potatoes, and higher doses of N used for the Bard, Lord, and Cedron varieties increased the total amount of sugars and the content of reducing sugar in potato tubers of these varieties. As for the Kuba variety, no changes in the total amount of sugars and in the content of reducing sugar were stated.

**Key words:** potatoes, doses of N, reducing sugars, total amount of sugars, starch, dry matter. ☒

KATARZYNA JUREK, JÓZEF BŁAŻEWICZ, AGNIESZKA PETRÓW

**WŁAŚCIWOŚCI PIW WYTWARZANYCH Z DODATKIEM  
PRODUKTÓW PRZEMIAŁU ZIARNA KUKURYDZY  
W WARUNKACH UPROSZCZONEJ TECHNOLOGII**

Streszczenie

Materiał doświadczalny stanowiły piwa wyprodukowane z brzeczki laboratoryjnych, otrzymanych ze słodu jęczmiennego typu pilzneńskiego, z 40% udziałem grysu kukurydzianego o granulacji 500–1250 µm oraz kaszek o granulacji 250–500 µm lub 250–750 µm. Punktem odniesienia było piwo wytworzone ze słodu jęczmiennego bez surowców niesłodowanych. Grys i kaszki kleikowano z 10% dodatkiem słodu w temp. 90°C przez 10 min. Brzeczki wytwarzano metodą kongresową. W trakcie chmielenia brzeczki, trwającego 70 min, zastosowano chmiel aromatyczny w postaci granulatu zawierającego 10% alfa-kwasów. Granulat (typ 90) dozowano w dwóch dawkach zapewniających zawartość alfa-kwasów na poziomie 25 mg/l piwa. Po chmieleniu przeprowadzono korektę zawartości ekstraktu brzeczki nastawnej do poziomu 12% (m/m). Użyto drożdży fermentacji dolnej (pobranej z Browaru Piastowskiego), stosując dawkę inokulum, zapewniającą stężenie komórek rzędu  $30 \times 10^6$  aktywnych komórek/1ml brzeczki. Fermentacja główna, w temp. 8–9°C, trwała 10 dni. Podczas fermentacji określano zmiany zawartości ekstraktu. Kontrolowano także pH. Leżakowanie piwa w butelkach w temp. 5–6°C trwało 4 tygodnie. W piwach oznaczono: zawartość etanolu i odfermentowanie rzeczywiste. Oznaczono także: barwę, pH, pienistość oraz zawartość azotu alfa-aminowego. Piwa poddano ocenie sensorycznej metodą „Ranking Test”.

Stwierdzono, że przebieg fermentacji głównej nie był zmieniony przez zastąpienie części słodu produktami przemiału ziarna kukurydzy. W odniesieniu do piwa otrzymanego bez surowców niesłodowanych, piwa wyprodukowane z użyciem produktów przemiału kukurydzy w ilości 40% charakteryzowały się słabszą pienistością i mniejszym pH. Piwa otrzymane z 40% dodatkiem grysu lub kaszek postrzegane były przez oceniających za mniej atrakcyjne niż piwo wyprodukowane ze słodu jęczmiennego bez surowców niesłodowanych.

**Słowa kluczowe:** sól, kaszka kukurydziana, piwo.

## Wprowadzenie

---

*Mgr inż. K. Jurek, dr inż. J. Błażewicz, Katedra Technologii Rolnej i Przechowalnictwa, Zakład Technologii Fermentacji, Akademia Rolnicza, ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław, e-mail: kjurek@wnoz.ar.wroc.pl, Jblaz@wnoz.ar.wroc.pl, mgr inż. A. Petrów, Browary Dolnośląskie Piast, ul. Jedności Narodowej 204/210, 50-302 Wrocław*

W grupie zbożowych surowców niesłodowanych produkty przemiału ziarna kukurydzy stanowią najważniejszy substytut w skali światowej [3, 13]. Stosowane są przeważnie w Stanach Zjednoczonych oraz w Europie, ponieważ w tych rejonach kukurydza jest powszechnie dostępna i jest to surowiec stosunkowo tani. Do produkcji piwa w polskim piwowarstwie stosuje się zarówno importowane produkty przemiału ziarna kukurydzy, jak i wyprodukowane na terenie naszego kraju [5]. Granulacja grysów i kaszek kukurydzianych jest zróżnicowana, ale zawiera się w przedziale 250–1350  $\mu\text{m}$  [13]. Użycie grysów i kaszek kukurydzianych w dawkach do 20% zasypu jest stosowane w wielu krajach od dawna [11, 12]. Użycie do produkcji piwa dużych dawek produktów przemiału kukurydzy (40–50%) wprowadza do brzezki niewielkie ilości związków azotowych i jednocześnie rozcieńcza niejako pozostałe składniki słoðu [1, 8]. W rezultacie otrzymuje się piwa lżejsze, bardziej stabilne, o dłuższym okresie trwałości niż piwa produkowane z brzeczek słodowych [12]. Wprowadzenie tak dużej ilości surowca niesłodowanego najczęściej powoduje zmiany sensoryczne piwa wynikające ze zmian składu brzezki i trudnych do przewidzenia reakcji drożdży piwowarskich na zmianę składu pożywki [3]. Autorzy określający skutki substytucji słoðu grysem i kaszkami kukurydzianymi wskazują na niedobór produktów hydrolizy białek w brzeczках otrzymywanych z dużymi (przekraczającymi 20% zasypu) dodatkami produktów przemiału kukurydzy [9].

Celem badań było określenie wpływu 40% dodatku produktów przemiału ziarna kukurydzy o różnej granulacji na wybrane cechy fizykochemiczne i sensoryczne piw wytwarzanych w warunkach uproszczonej technologii.

### **Materiał i metody badań**

Materiał doświadczalny stanowiły piwa otrzymane w warunkach uproszczonej technologii z brzeczek laboratoryjnych wyprodukowanych ze słoðu jęczmiennego typu pilzneńskiego z 40% udziałem grysu kukurydzianego o granulacji 500–1250  $\mu\text{m}$  oraz kaszek o granulacji 250–500  $\mu\text{m}$  lub 250–750  $\mu\text{m}$ . Produkty przemiału kukurydzy pobrano z firmy Eurofarm dostarczającej surowiec niesłodowany do browarów.

Surowiec niesłodowany w ilości 40% zasypu poddano wstępnemu przygotowaniu w celu przekształcenia skrobi kukurydzianej w formę podatną na działanie enzymów słoðu. Produkty przemiału ziarna kukurydzy kleikowano w obecności słoðu jęczmiennego, stanowiącego 10% zacieranej masy słoðu, i surowców niesłodowanych. Słód i produkty przemiału ziarna kukurydzy łączono z wodą w stosunku 1:5 i podgrzewano do temp. 90°C, utrzymując ją przez 10 min. Dodatek słoðu stosowano w celu rozplawienia kleikowanej masy. Upłynnioną masę łączono z resztą słoðu w temp. 45°C i zacierano metodą kongresową [2]. Podczas chmielenia brzeczek, trwającego 70 min, zastosowano dodatek granulatu chmielu aromatycznego zawierającego 10% alfa-kwasów. Był to granulát wyprodukowany w Lublinie.

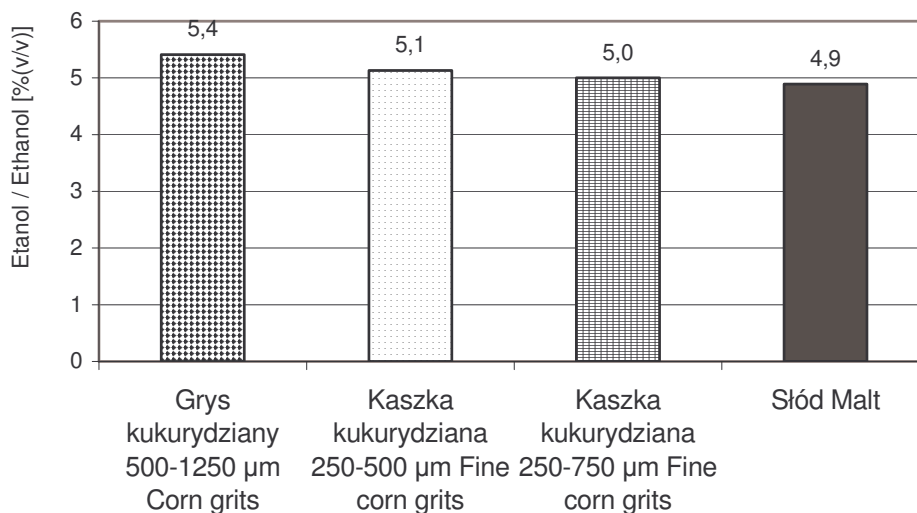


Dodawano go w dwóch dawkach zapewniających zawartość alfa-kwasów na poziomie 25 mg/l piwa. Po ochłodzeniu i filtracji przeprowadzono korektę zawartości ekstraktu brzezki nastawnej do poziomu 12% (m/m). Brzezki poddano fermentacji z udziałem drożdży fermentacji dolnej, stosując dawkę inokulum, zapewniającą stężenie komórek rzędu  $30 \times 10^6$  aktywnych komórek/ml brzezki. Drożdże pobrano z fermentowni Browaru Piastowskiego. Fermentacja główna prowadzona w temp. 8–9°C trwała 10 dni. Podczas fermentacji kontrolowano zmiany zawartości ekstraktu oraz pH. Dofermentowanie przeprowadzono w butelkach przetrzymując je w temp. 5–6°C przez tydzień, a następnie piwo leżakowało jeszcze kolejne 3 tygodnie w temp. 0–4°C. Po tym czasie, przy użyciu analizatora SCABA<sup>TM</sup>5610, w piwach oznaczano zawartość etanolu oraz określano odfermentowanie rzeczywiste. Stosując procedury analityczne zgodne z EBC [2] oznaczano w piwach: czas utrzymywania piany, zawartość azotu alfa-aminowego, barwę i pH. Dodatkowo piwa zostały poddane ocenie sensorycznej metodą „Ranking Test” zalecaną przez EBC [2]. Piwa oceniane były pod względem wyglądu, smaku i zapachu przez 15 osób. Zespół oceniający stanowili studenci i doktoranci Wydziału Nauk o Żywności Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Każdy z oceniających miał za zadanie uszeregować 4 zaszyfrowane próby piwa od najbardziej do najmniej pożądanej smakowitości. Każdej pozycji w szeregu przyporządkowywano odpowiednią liczbę punktów. W tej metodzie im mniejsza jest liczba punktów tym lepsza jest jakość piwa.

### **Wyniki i dyskusja**

Wyniki przedstawiono w formie 7 rysunków umożliwiających określenie wpływu 40% dodatku produktów przemiału kukurydzy na wybrane cechy piw otrzymanych uproszczoną technologią, stosowaną w warunkach laboratoryjnych w Zakładzie Technologii Fermentacji Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Otrzymywanie piw w warunkach uproszczonej technologii stosuje się przy ocenie piw otrzymywanych z ekstraktów słodowych [6], z brzeczek wyprodukowanych z udziałem słodu pszenżytniego [7] lub z brzeczek z udziałem różnych surowców niesłodowanych. Podstawową zasadą stosowaną w trakcie otrzymywania piw w warunkach uproszczonej technologii jest maksymalne ujednoczenie i jednocześnie uproszczenie procedur otrzymywania piwa, aby zwiększyć możliwość porównywania badanych zmiennych. W tej pracy czynnikiem różnicującym był rodzaj produktów przemiału kukurydzy w formie grysu lub kaszek o określonej granulacji, wyprodukowanych w warunkach przemysłowych w młynie kukurydzianym firmy Eurofarm [5].

Na rys. 1–7 zilustrowano wpływ tych surowców niesłodowanych na wybrane cechy piw porównywanych z piwem otrzymanym bez udziału surowców niesłodowanych.

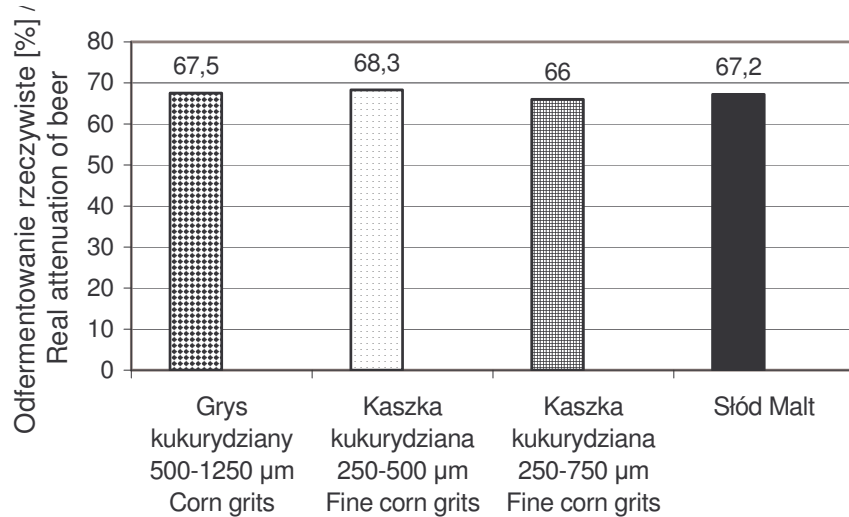


Rys. 1. Wpływ 40% dodatku produktów przemiału kukurydzy na zawartość etanolu w piwie.

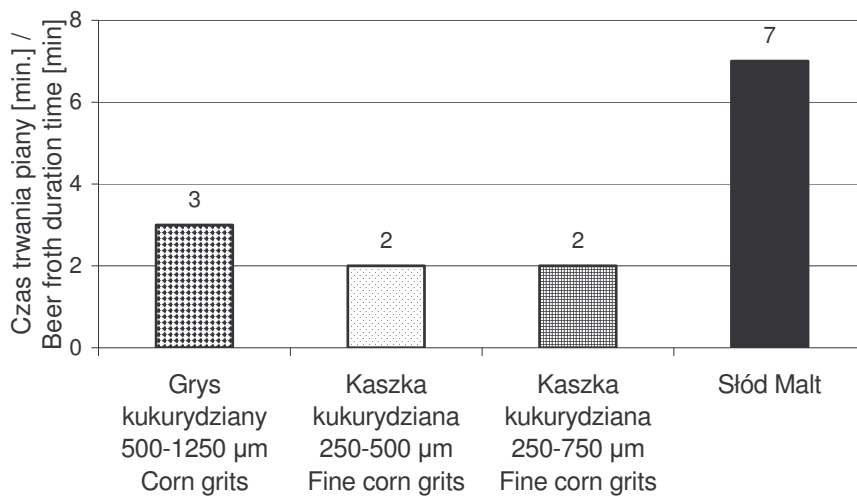
Fig. 1. The effect of 40% milled corn products added on the content of ethanol in beer.

Zawartość etanolu w piwie otrzymanym bez oraz z udziałem produktów przemiału kukurydzy świadczy o tym, że niezależnie od rodzaju zastosowanego surowca zawartość etanolu zawierała się w granicach od 4,9% (v/v) (piwo z samego słodu) do 5,4% (v/v) etanolu w piwie z 40% udziałem grys kukurydzianego o granulacji 500–1250 µm. Rozpiętość zawartości etanolu w zakresie 4,9–5,4% (v/v) etanolu w piwach o ekstrakcie brzezki podstawowej 12% (m/m) jest dopuszczalna [11] i wskazuje, że proces fermentacji etanolowej w brzezkach otrzymanych z dużym (40%) udziałem surowca niesłodowanego przebiegał bez zakłóceń (rys. 1).

Poziom odfermentowania składników brzezki (rys. 2) otrzymanej z samego słodu (67,2%) oraz brzeczek wyprodukowanych ze słodu zacieranego z 40% udziałem surowców niesłodowanych zawierał się w wąskim przedziale od 66,0 do 68,3% odfermentowania rzeczywistego. Dane dotyczące zawartości etanolu i stopnia odfermentowania rzeczywistego wskazują, że kleikowanie skrobi kukurydzianej i zacieranie w warunkach kongresowych zaowocowało takim składem cukrów fermentujących w brzezkach, który nie spowodował zasadniczych zmian stopnia odfermentowania brzezki (rys. 2).



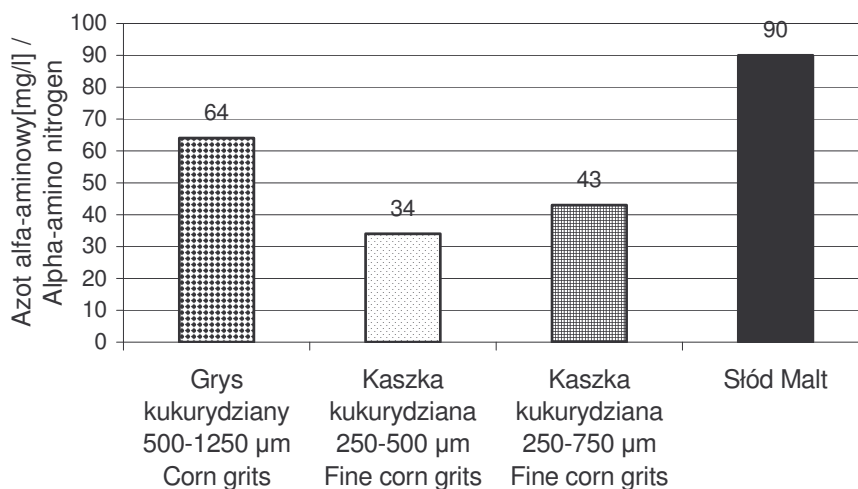
Rys. 2. Wpływ 40% dodatku produktów przemiału kukurydzy na odfermentowanie rzeczywiste piwa.  
 Fig. 2. The effect of 40% milled corn products added on the real attenuation of beer.



Rys. 3. Wpływ 40% dodatku produktów przemiału kukurydzy na czas utrzymywania się piany.  
 Fig. 3. The effect of 40% milled corn products added on the beer froth duration.

Na rys. 3. przedstawiono czas utrzymywania się piany na piwie w trakcie oceny sensorycznej. W odniesieniu do piwa z brzeczki uzyskanej z samego słodu, 40% dodatek grysu o granulacji 500–1250 µm skrócił czas utrzymywania piany z 7 do 3 min. Kaszki o granulacji 250–500 µm i 250–750 µm powodowały skrócenie tego

czasu do 2 min. Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że bardzo ważnym elementem przygotowania ziarna kukurydzy do przerobu w piwowarstwie jest uniemożliwienie przedostania się tłuszczów roślinnych z zarodka do bielma w czasie zbioru, suszenia i przechowywania ziarna oraz w trakcie produkcji grysów i kaszek [4, 5, 10, 12, 13]. Wydaje się, że skrócony czas utrzymywania się piany na piwach z dużym udziałem produktów przemiału kukurydzy nie jest efektem gaszenia piany przez tłuszcze wprowadzone z surowcem niesłodowanym. Grys i kaszki zostały wyprodukowane w nowoczesnym młynie kukurydzianym wytwarzającym produkty przemiału ziarna kukurydzy zgodnie z wymaganiami piwowarskimi. Przyczyną skróconego czasu utrzymywania się piany może być brak odpowiedniej ilości produktów hydrolizy enzymatycznej białek [9], produktów hydrolizy polisacharydów nieskrobiowych lub innych składników powierzchniowo czynnych (uczestniczących w tworzeniu piany), których nie ma w niesłodowanym ziarnie kukurydzy [11]. Częściowym potwierdzeniem tej teorii jest stosunkowo długi czas utrzymywania piany (2–3 min) i niski poziom zawartości azotu alfa-aminowego w piwach (rys. 4) otrzymanych z 40% udziałem kaszek najbardziej pogarszających trwałość piany (rys. 3).

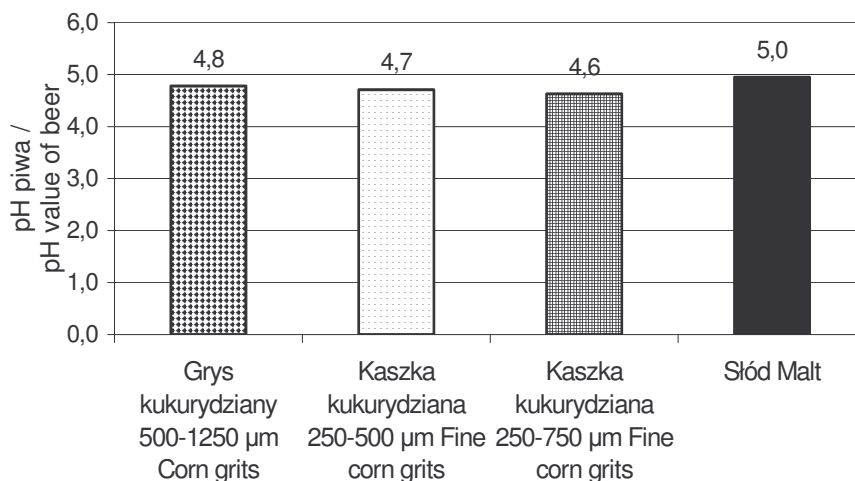


Rys. 4. Wpływ 40% dodatku produktów przemiału kukurydzy na zawartość azotu alfa-aminowego w piwie.

Fig. 4. The effect of 40% milled corn products added on the content of alpha-amino nitrogen contained in beer.

Zastosowanie kaszek kukurydzianych w ilości 40% zasypu spowodowało ponad dwukrotne zmniejszenie zawartości azotu alfa-aminowego w piwach (rys. 4). Użycie 40% dawki grysu zmniejszyło zawartość azotu alfa-aminowego z 90 mg/l piwa do poziomu o około 1/3 mniejszego, wynoszącego 64 mg azotu alfa-aminowego/l piwa.

Przy założeniu, że użycie 40% dawki surowca niesłodowanego zmniejsza także odpowiednio zawartość innych składników uczestniczących w tworzeniu i stabilizacji piany, skracanie czasu utrzymywania piany przez piwa otrzymane z dużą ilością przetworów kukurydzianych wydaje się efektem nieuniknionym.



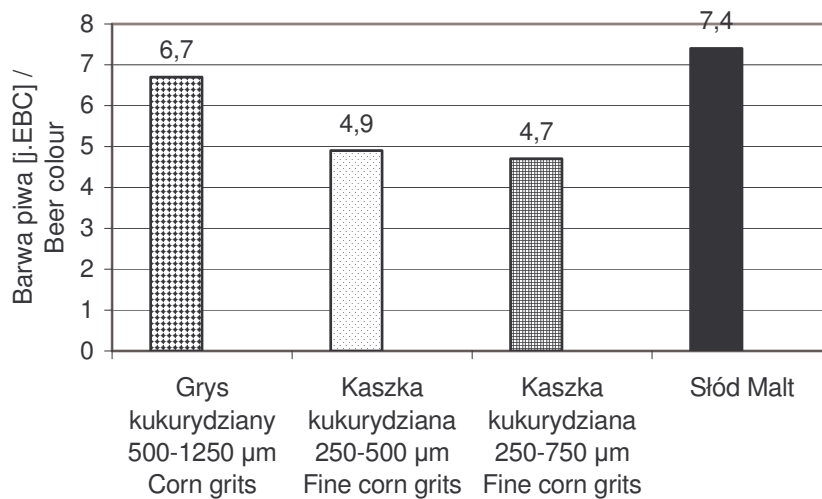
Rys. 5. Wpływ 40% dodatku produktów przemiału kukurydzy na pH piwa.

Fig. 5. The effect of 40% milled corn products added on the pH value of beer.

Z danych przedstawionych na rys. 5. wynika, że produkty przemiału kukurydzy stosowane w dawce 40% powodują zmniejszenie pH piwa o 0,2 do 0,4 jednostki. Zarówno w trakcie otrzymywania brzezek, jak i otrzymywania piwa w warunkach uproszczonych nie korygowano pH. Piwo ze słodu bez dodatków niesłodowanych miało pH 5,0, podczas gdy piwa z dodatkiem produktów przemiału kukurydzy charakteryzowały się pH w zakresie od 4,6 do 4,8 jednostek.

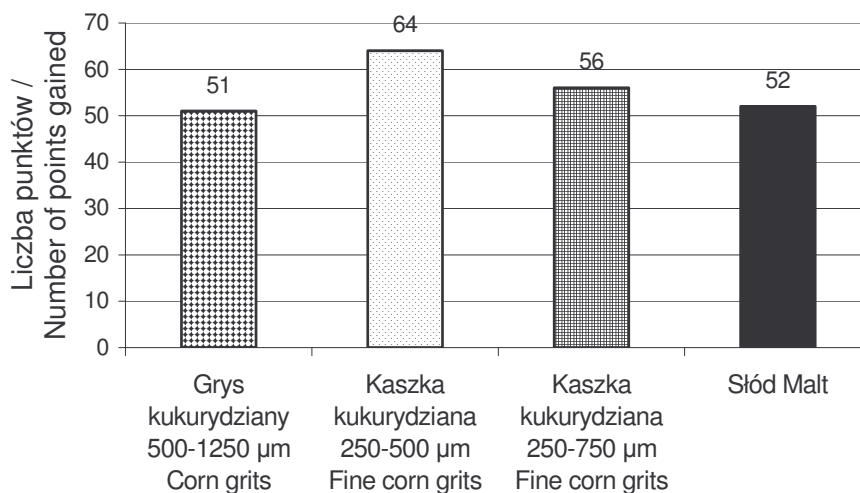
Barwa piwa (rys. 6) jest wypadkową wielu czynników, ale na podstawie wyników tego doświadczenia można stwierdzić, że zależy głównie od sposobu przemiału surowca niesłodowanego i ilości związków barwnych wnoszonych do brzecki.

Duże zróżnicowanie barwy piwa, otrzymanego z brzecek z 40% udziałem kaszek (4,7–4,9 j. EBC), w odniesieniu do barwy piwa z samego słodu (7,4 j. EBC) lub z udziałem grysu (6,7 j. EBC) świadczy o tym, że zróżnicowane zabarwienie piw nie jest wynikiem gotowania brzecki z granulatem chmielowym, ale wynika z ilości związków barwnych wprowadzonych do zacierów ze słodem i surowcami niesłodowanymi.



Rys. 6. Wpływ 40% dodatku produktów przemiału kukurydzy na barwę piwa.

Fig. 6. The effect of 40% milled corn products added on the beer colour.



Rys. 7. Wpływ 40% dodatku produktów przemiału kukurydzy na ocenę sensoryczną piwa.

Fig. 7. The effect of 40% milled corn products added on the sensory evaluation of beer.

Na rys. 7. przedstawiono wyniki oceny sensorycznej piw. Można stwierdzić, że najbardziej zbliżonym pod względem sensorycznym do wzorcowego piwa z samego słodu było piwo otrzymane z 40% udziałem grysu kukurydzianego o granulacji 500–1250 µm. Udział kaszek w ilości 40% powodował pogorszenie oceny o 4 pkt (kaszka

o granulacji 250–750  $\mu\text{m}$ ) lub o 12 pkt po zastosowaniu kaszki o granulacji 250–500  $\mu\text{m}$ . Zmiany cech piw spowodowane 40% zastąpieniem słołu produktami przemiału kukurydzy wydają się niewspółmiernie małe w stosunku do użytej dawki zamiennika. Świadczy to o dużych możliwościach wykorzystania grysu i kaszek w technologii piwowarskiej.

### Wnioski

1. Na podstawie kontroli przebiegu fermentacji głównej stwierdzono, że proces ten nie był zaburzony przez zastąpienie części słołu produktami przemiału ziarna kukurydzy.
2. W odniesieniu do piwa kontrolnego, piwa wyprodukowane z dodatkiem grysu i kaszek kukurydzianych charakteryzowały się gorszą pienistością i mniejszą zawartością azotu alfa-aminowego oraz niższym pH.
3. Dodatek produktów przemiału ziarna kukurydzy spowodował rozjaśnienie barwy piw. Efekt ten był bardziej zauważalny po zastosowaniu kaszek niż grysu.
4. Piwa wyprodukowane z użyciem produktów przemiału kukurydzy postrzegane były przez oceniających za mniej atrakcyjne niż piwo wyprodukowane bez surowców niesłodowanych.

### Literatura

- [1] Agu R.C.: A comparison of maize, sorghum and barley as brewing adjuncts. *J. Inst. Brew.*, 2002, **108/1**, 19-22.
- [2] Analytica-EBC: Verlag Hans Carl Getraenke-Fachverlag, Nuernberg 1998.
- [3] Antkiewicz P., Poreda A., Kuchciak T.: Modyfikacje procesu zacierania różnych surowców w celu uzyskania normatywnej brzezki. *Mat. VIII Szkoły Technol. Ferm.*, Jamrozowa Polana 2003. Wyd. AR we Wrocławiu, s. 77-101.
- [4] Baca E.: Rola surowców niesłodowanych w kształtowaniu cech sensorycznych piwa, *Mat. VI Szkoły Technol. Ferm.*, Szczyrk 2001, Wyd. AR w Krakowie, s. 113-125.
- [5] Błażewicz J.: Możliwości zastosowania produktów przemiału polskiej kukurydzy w piwowarstwie. *Mat. VIII Szkoły Technol. Ferm.*, Jamrozowa Polana 2003, Wyd. AR we Wrocławiu, s. 102-117.
- [6] Błażewicz J., Rytel E.: Wpływ warunków hydrolizy enzymatycznej polisacharydów nieskrobiowych na cechy piwa pszenżytniego. *Acta Sci. Pol., Technol. Alim.*, 2003, **2(1)**, 75-82.
- [7] Foszczyńska B., Dziuba E.: Wpływ słołu pszenżytniego na fizykochemiczne i organoleptyczne właściwości piw. *Acta Sci. Pol., Biotechnologia*, 2003, **2(1-2)**, 105-116.
- [8] Grujic O.: Application of unconventional raw materials and procedures in wort production. *J. Inst. Brew.*, 1999, **105/5**, 275-278.
- [9] Jurek K., Petrów A.: Wpływ substytucji słołu przetworami kukurydzianymi na zawartość azotu  $\alpha$ -aminowego w brzezkach laboratoryjnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **2(35) Supl.**, 49-60.
- [10] Jurga R.: Możliwości wykorzystania produktów przemiału kukurydzy, *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2003, **3**, 9-12.


- [11] Kunze W.: *Technologia piwa i słoðu*. Piwochmiel Sp. z o.o. Warszawa 1999.
- [12] Palmer G. H.: *Dodatki niesłodowane w piwowarstwie i gorzelnictwie*, Mat. III Szkoły Technol. Ferm. Kraków-Zakopane 1998, Wyd. AR w Krakowie, s. 64-77.
- [13] Pawlikowska-Mandziak M.B.: *Możliwości zastosowania kukurydzy w przemyśle piwowarskim*. Przem. Ferm. Owoc. Warz. 1997, **11**, 12-14.

#### PROPERTIES OF BEER TYPES PRODUCED WITH MILLED CORN PRODUCTS ADDED AND USING A SIMPLIFIED TECHNOLOGY

##### Summary

The experimental materials in the study were beers produced from laboratory worts. The worts were manufactured from barley malt of a Pilsen type. In the beers studied, corn grits and corn constituted 40% and the corn grains sizes ranged between 500 and 1250  $\mu\text{m}$ , and finer corn grains between 250 and 500  $\mu\text{m}$  or 250 and 750  $\mu\text{m}$ . The reference material was beer produced from barley malt without non-malted ingredients. The corn grits and 10% of malt added were gelatinized at a temperature of 90°C during a period of 10 minutes. The worts were produced using a congress mash method, and hopped for 70 minutes using a granulated aromatic hop containing 10% of alpha-acids. Hop pellets, type '90', were added in two portions in order to ensure the alpha-acid content level of 25 mg/l beer. Upon the completion of the hopping process, the extract content in the pitching wort was corrected to a level of 12% (m/m). There was used an inoculum dose of low fermentation yeast (received from the Piastowski Brewery) in order to ensure the concentration rate of cells at a level of approximately  $30 \cdot 10^6$  viable cells per mL of the test wort. The major fermentation process was performed at 8–9°C for a period of 10 days. During this fermentation, both the pH value and changes in the content of the extract were monitored and also determined. The beer was stored in bottles at a temperature between 0°C and 4°C during 4 weeks. In the beers investigated, a content of ethanol and a real attenuation level were determined. Additionally, the following parameters were determined: beer colour, pH value, frothability, and content of alpha-amino nitrogen. The beer was sensory evaluated using a "Ranking Test" method.

It was stated that when part of barley malt was replaced by milled corn products, no changes in the course of major fermentation process. In comparison with a beer product without non-malted ingredients, the beers produced using 40% milled corn products showed a lower frothability level and a lower pH value. Additionally, according to the evaluators, beers with 40% corn grits added were less attractive if compared with the beer produced from malt barley without non-malted ingredients.

**Key words:** malt, corn grits, beer 



STANISŁAW KALISZ, MICHAŁ WOLNIAK, MARTA MITEK

## **ZMIANY WYBRANYCH SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH W DŻEMACH TRUSKAWKOWYCH W TRAKCIE ICH PRZECHOWYWANIA**

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian zawartości antocyjanów i polifenoli ogółem oraz aktywności przeciwutleniającej dżemów truskawkowych, przechowywanych w temp. 4°C.

Zawartość antocyjanów, oznaczonych w dżemach bezpośrednio po ich wytworzeniu, wynosiła średnio 31,2 mg/100 g produktu. Dominującym monomerem był pelargonidyno-3-glukozyd, który stanowił 92,5% składu antocyjanowego; 4,4% przypadało na cyjanidyno-3-glukozyd, zaś pozostałe 3,1% to pelargonidyno-3-arabinozyd. W porównaniu z próbkami wyjściowymi, po 30 dniach przechowywania dżemy zawierały 1,2 razy mniej antocyjanów, a po 60 dniach 1,6 razy mniej. Stwierdzono zróżnicowane zmiany zawartości składników biologicznie czynnych w niskosłodzonych dżemach truskawkowych w trakcie ich przechowywania. Wykazano, że aktywność przeciwutleniająca była wypadkową zawartości wielu związków, w tym barwników antocyjanowych i łącznej zawartości wszystkich związków polifenolowych. Długotrwałe przechowywanie badanych produktów było niekorzystne ze względu na niestabilność antocyjanów, zwłaszcza pelargonidyny. W okresie 60-dniowego przechowywania dżemów indeks degradacji analizowanych składników wzrósł z 1,4 do 1,7. Szybkość degradacji oraz zmniejszenie właściwości przeciwutleniających miało bardziej intensywny przebieg w drugim okresie przechowywania.

**Słowa kluczowe:** truskawki, dżemy, polifenole, antocyjany, aktywność przeciwutleniająca

### **Wprowadzenie**

Spośród krajowych owoców jagodowych truskawki cieszą się niezmiennym popytem wśród nabywców. Z uwagi na aromat i charakterystyczny smak są chętnie kupowane zarówno w formie świeżej, jak i przetworzonej, zwłaszcza w postaci dżemów. Dżemy wraz z marmoladami i powidłami plasują się na czwartym miejscu w strukturze produkcji sprzedanej przetworów owocowych. Od roku 1990 produkcja dżemów, marmolad i powideł wrosła z 40 do 80 tysięcy ton rocznie w ostatnim

---

*Dr inż. S. Kalisz, dr hab. M. Mitek prof. SGGW, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Wydział Technologii Żywności, SGGW, ul. Nowoursynowska 159C, 02-787 Warszawa, mgr M. Wolniak, Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny Akademii Medycznej w Warszawie, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa*

okresie, co świadczy o niestabnącej ich popularności wśród konsumentów. Szczególnie duży popyt odnotowuje się na niskosłodzone produkty tego typu [7].

Dżemy truskawkowe należą do produktów, które oprócz walorów sensorycznych charakteryzują się wieloma związkami biologicznie aktywnymi w swym składzie, decydującymi o ich prozdrowotnym charakterze. Do tych cennych składników zaliczamy między innymi związki polifenolowe. Ich zawartość w dżemach zależy od składu recepturowego, technologii produkcji oraz warunków i czasu przechowywania.

Polifenole są naturalnie występującą w roślinach grupą związków różniących się między sobą budową strukturalną, właściwościami fizykochemicznymi oraz aktywnością biologiczną [9, 11]. Steward [10] podaje, że flawonoidom zawartym w truskawkach przypisuje się poniżej 5% całkowitej aktywności przeciwutleniającej, natomiast katechinom ponad 50%.

Truskawki zawierają dużą grupę związków polifenolowych: fenolokwasów, flawonoli i flavan-3-oli i innych związków bioaktywnych [3]. Jak podają Macheix i wsp. [5], wśród fenolokwasów i ich pochodnych dominuje p-kumaroilo-glukoza. Ponadto w grupie tej można wyróżnić kwas: protokatechowy, wanilinowy, p-hydroksybenzoesowy, 5'-gallochinowy, p-kumarowy, glukozyd kwasu p-kumarowego, kawoilo glukozę oraz feruilo glukozę. W składzie chemicznym truskawek wśród flawonoli dominują 3-glukuronid kamferolu, 3-glukozyd kamferolu i 3-glukuronid kwercetyny. Pozostałe flawonole decydujące o właściwościach i przemianach zachodzących w truskawkach i uzyskanych z nich przetworach to: 3-galaktozyd kamferolu, 3-ksylozylglukoronid kamferolu, 3-ksylozylglukozyd kamferolu, 7-glukozyd kamferolu, 7-glikozyd kamferolu, 3-glukozyd kwercetyny, 3-galaktozyd kwercetyny i 3-ksylozylglukoronid kwercetyny. W składzie chemicznym truskawek na uwagę zasługują także flavan-3-ole: dominująca (-)epikatechina, a także występujące w mniejszych ilościach (+)epikatechina, (+)galloKatechina. Na pojemność przeciwutleniającą tych owoców bez wątpienia wpływają wyodrębnione w kilku odmianach pochodne tanin. Aktywność przeciwutleniająca polifenoli zawartych w truskawkach, jak i w przetworach z nich uzyskanych, ma potwierdzony korzystny wpływ na organizm między innymi w profilaktyce chorób serca i blokowaniu komórek nowotworczych [3].

Celem podjętych badań było określenie zmian zawartości antocyjanów i polifenoli ogółem w niskosłodzonych dżemach truskawkowych w trakcie ich przechowywania.

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły, przygotowane w skali laboratoryjnej, dżemy niskosłodzone z truskawek odmiany Honeoye. Do odważonej partii owoców dodano część cukru i wody. Całość doprowadzono do wrzenia, a następnie gotowano około 30 min do momentu wysycenia truskawek cukrem. Następnie do gorącej mieszaniny owoców z cukrem dodano roztwór preparatu pektynowego. Całość ogrzewano

w temperaturze wrzenia przez około 10 min. Pod koniec gotowania dodano roztworu kwasu cytrynowego. Po uzyskaniu 39% ekstraktu dżem rozlano na gorąco do słoje o poj. 200 ml. Schłodzone do temperatury pokojowej słoje przechowywano w temp. 4°C w chłodziarce. Badaniom poddano dżemy zaraz po wytworzeniu oraz po 30 i 60 dniach przechowywania.

Zakres badań obejmował oznaczanie: zawartości związków antocyjanowych, indeksu degradacji antocyjanów, zawartości polifenoli ogółem oraz właściwości przeciwutleniających.

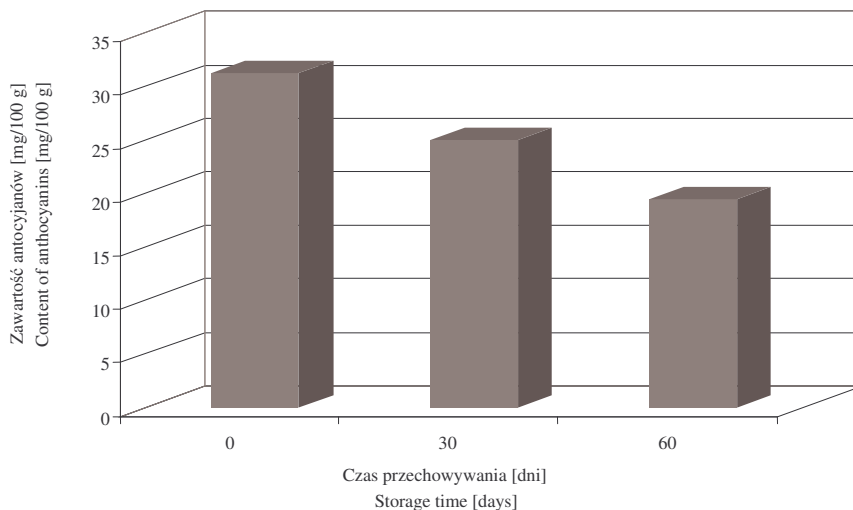
Zawartość antocyjanów oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w zestawie firmy Shimadzu wyposażonym w detektor UV-VIS SPD-10A VP, pompę chromatograficzną LC-10AT VP, piec chromatograficzny CTO-10AS VP, degazer DEGASEX™ model DG-400 (firmy Phenomenex), współpracujący z programem do zbierania danych Chromax 2003. Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny Luna 5 µm C18(2) 250 x 4,6 mm firmy Phenomenex. Analizy wykonywano metodą izokratyczną przy przepływie 1 ml/min. Temp. termostatowania kolumny wynosiła 25°C. Prowadząc chromatograficzne oznaczanie zawartości antocyjanów, jako eluent zastosowano mieszaninę woda : acetonitryl : kwas mrówkowy w proporcjach 810 : 90 : 100. Rejestrację widma prowadzono przy 520 nm.

Ponadto celem obliczenia indeksu degradacji antocyjanów oznaczano ich zawartość ogółem metodą Fuleki'ego i Francisa [2] oraz polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteu'a [8].

Właściwości przeciwutleniające dżemów badano metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego EPR, z użyciem trwałego rodnika 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu (DPPH). Pomiary wykonywano w spektrometrze firmy Bruker ELEXSYS E 500 pracującym metodą fali ciągłej. Do badań użyto komory rezonansowej SHQE - Super High Q cavity. Rejestracji widm dokonywano przy założeniu podstawowych parametrów na następującym poziomie: parametr Q (stosunek  $v_{rez}$  do  $\Delta v$ ) = 7000, częstotliwość – 9,45 GHz, moc – 20 mW, indukcja magnetyczna B – 33701 G, szerokość przemiatania – 200 G, czas przemiatania – 42 s, częstotliwość modulacji – 100 kHz, amplituda modulacji – 1 G, czułość odbiornika – 55 dB. Sygnał wzorca DPPH stanowił roztwór DPPH w metanolu o stężeniu 2,9316 mmol/dm<sup>3</sup>.

## Wyniki i dyskusja

W wyniku analiz niskosłodzonych dżemów truskawkowych przeprowadzonych z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC określono ilościowy i jakościowy skład antocyjanowy. W próbkach bezpośrednio po wytworzeniu przetworu stwierdzono 31,2 mg antocyjanów w 100 g dżemu (rys. 1).



Rys. 1. Zmiany zawartości antocyjanów w dżemach truskawkowych w trakcie ich przechowywania.  
 Fig. 1. Changes in contents of anthocyanins in strawberry jams occurring while storing them.

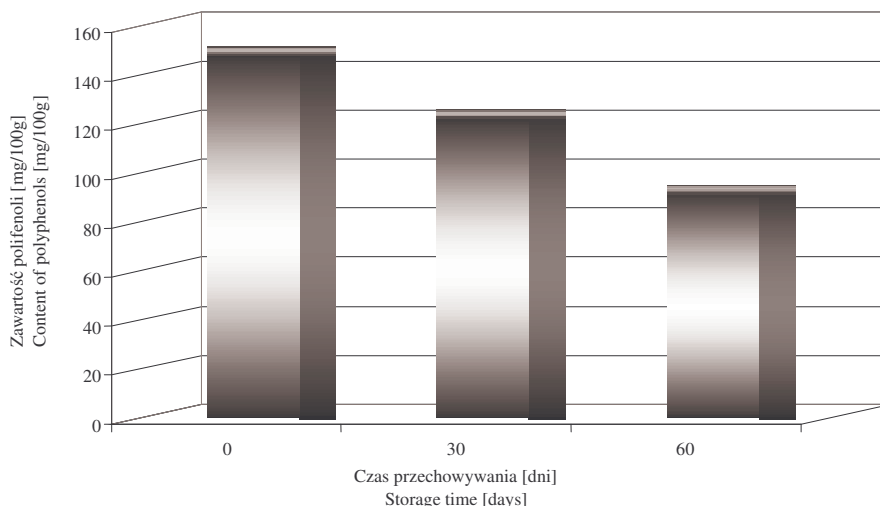
Dominującym monomerem był pelargonidyno-3-glukozyd, który stanowił 92,5% ogólnego składu antocyjanowego; 4,4% przypadało na cyjanidyno-3-glukozyd, zaś pozostałe 3,1% to pelargonidyno-3-arabinozyd. Badając dżemy po 30 i 60 dniach przechowywania odnotowano ogólny spadek zawartości antocyjanów, przy czym szybkość tych zmian była wyższa w drugim okresie przechowywania. W porównaniu z próbkami wyjściowymi, po 30 dniach dżemy zawierały 1,2 razy mniej antocyjanów, a po 60 dniach 1,6 razy mniej. Analizując zmiany jakościowe składu antocyjanowego w trakcie wydłużonego okresu składowania zaobserwowano nieznaczny spadek pelargonidyno-3-glukozydu, przy jednoczesnym wzroście udziału cyjanidyno-3-glukozydu, i pelargonidyno-3-arabinozydu. Jest to tym istotniejsze, że zróżnicowanie składu antocyjanowego, odmienna budowa i stabilność poszczególnych monomerów decydują o właściwościach przeciwutleniających, które badano w dalszej pracy. Jak podaje Steward [10], antocyjany w truskawkach odpowiadają za 20% właściwości przeciwutleniających. Należy również pamiętać, że trwałość antocyjanów zależy m.in. od ich budowy chemicznej, obecności podstawników cukrowych, ilości i rodzaju podstawników w pierścieniu B, a dominujące w składzie antocyjanowym truskawek pelargonidyny w porównaniu z innymi monomerami są mniej stabilne. Przemiany antocyjanów zależą także od warunków środowiskowych, stężenia i rodzaju związków towarzyszących [1, 4, 6].

Wraz ze zmianami składu antocyjanowego podczas przechowywania następował wzrost indeksu degradacji barwników antocyjanowych. W świeżo wytworzonych dżemach niskosłodzonych wynosił on 1,4, po 30 dniach 1,5 a po 60 wzrósł do 1,7. Analiza zmian indeksu degradacji antocyjanów w powiązaniu z pozostałymi

parametrami omawianymi w dalszej części pracy potwierdziła, że w drugim okresie przechowywania zmiany degradacyjne miały charakter bardziej intensywny.

Analizując zawartość składników bioaktywnych w dżemach, dokonano także pomiaru zawartości polifenoli ogółem. Coraz większe zainteresowanie polifenolami wynika z roli, jaką pełnią w tworzeniu cech jakościowych produktów spożywczych, a także z ich zdolności przeciwutleniającej.

Zawartość polifenoli ogółem w dżemach truskawkowych bezpośrednio po ich wytworzeniu wynosiła 148,5 mg/100 g dżemu (rys. 2). W czasie pierwszych 30 dni przechowywania zawartość związków polifenolowych zmniejszyła się do 122,6 mg/100 g produktu. Analogicznie jak w przypadku antocyjanów, w drugim okresie przechowywania nastąpił jeszcze większy spadek zawartości polifenoli do 91,9 mg/100 g. Jak dowodzą badania Stewarda i wsp. [10], szeroko rozpatrywane związki polifenolowe dają możliwość dokładnego określania pochodzącego od nich potencjału przeciwutleniającego pod warunkiem uwzględniania wielu specyficznych cech. Dlatego też w przypadku złożonych układów biologicznych nie można rozpatrywać działania przeciwutleniającego pojedynczych związków, lecz oddziaływanie całej grupy z uwzględnieniem zachodzących między nimi interakcji. Szczególnie w przypadku produktów roślinnych należy pamiętać, że określone grupy związków kumulują się w poszczególnych częściach, co z jednej strony decyduje o ich przydatności technologicznej lub farmaceutycznej, zaś z drugiej wspomaga proces wyjaśnienia złożoności naturalnych neutralizatorów wolnych rodników.

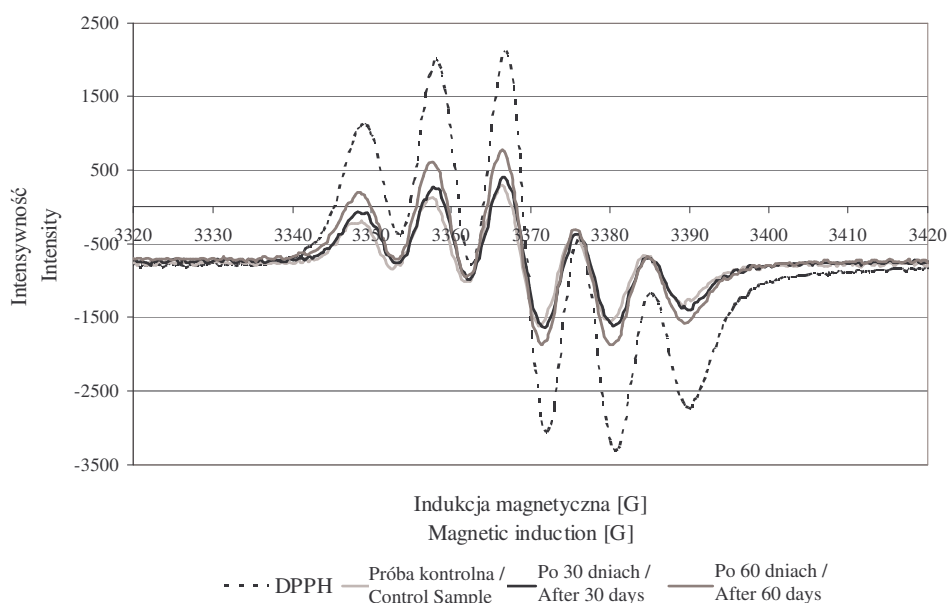


Rys. 2. Zmiany zawartości polifenoli ogółem w dżemach truskawkowych w trakcie ich przechowywania.

Fig. 2. Changes in contents of polyphenols in strawberry jams occurring while storing them.

Uwzględniając fakt, że zmiany ilościowe i jakościowe składników bioaktywnych w produkcie decydują o jego dobroczynnych właściwościach dla zdrowia, dokonano pomiaru właściwości przeciwutleniających metodą elektronowego rezonansu

paramagnetycznego z użyciem trwałego rodnika 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu (DPPH). Rodnik ten reaguje ze związkami wykazującymi aktywność przeciwutleniającą w ten sposób, że ubytek stężenia rodnika jest ściśle zależny od zawartości przeciwutleniacza w próbce. Po dodaniu niskosłodzonego dżemu truskawkowego obserwowano silne zmniejszenie intensywności sygnału, co świadczy o właściwościach przeciwutleniających badanych produktów.



Rys. 3. Widmo elektronowego rezonansu paramagnetycznego EPR rodnika DPPH i rodnika DPPH po dodaniu dżemu truskawkowego nieprzechowywanego i przechowywanego 30 i 60 dni.

Fig. 3. Electron Paramagnetic Resonance Spectrum of a 'DPPH' and DPPH radicals upon the addition of a fresh strawberry jam and a strawberry jam stored for a period of 30 and 60 days.

Redukcja sygnału rodnika DPPH po dodatku niskosłodzonego dżemu truskawkowego wyniosła 1828 jednostek. Dodatek dżemów przechowywanych również wykazywał redukcję sygnału DPPH, lecz była ona nieco niższa i w przypadku dżemu przechowywanego 30 dni wynosiła 1754 jednostki, natomiast po dodatku dżemu przechowywanego 60 dni różnica ta zmniejszyła się do 1424 jednostek, co świadczy o znacznym spadku właściwości przeciwutleniających wraz z wydłużaniem okresu przechowywania.

Wyniki przeprowadzonych badań niskosłodzonych dżemów truskawkowych potwierdziły obecność w ich składzie dobroczynnych dla zdrowia składników. Jednocześnie stwierdzono, że wydłużenie okresu przechowywania dżemów jest niekorzystne, m.in. w związku z postępującym zmniejszeniem zawartości antocyjanów, zarówno w ujęciu ilościowym, jak i składu jakościowego antocyjanów,

szczególnie ze względu na stosunkowo małą stabilność pelargonidyny, która dominuje w składzie antocyjanowym truskawek.

Należy również pamiętać, że w przypadku truskawek za blisko 40% właściwości przeciwutleniających odpowiada witamina C. Dlatego też wpływ witaminy C i pozostałych składników będzie wyjaśniany w trakcie dalszych badań. Do pełnej charakterystyki przeciwutleniających właściwości dżemów konieczne jest wyznaczenie parametrów kinetycznych tej reakcji. W korelacji ze składem pozwoli to ocenić udział i oddziaływanie poszczególnych frakcji (synergizm lub antagonizm).

### Wnioski

1. Niska temperatura przechowywania dżemów truskawkowych nie zapobiegła stratom zawartych w nich polifenoli, w tym antocyjanów. Po 60 dniach składowania w temp. 4°C pozostało około 60% początkowej ilości tych związków.
2. Widma EPR potwierdzają dużą zdolność neutralizowania rodników DPPH przez składniki biologicznie aktywne dżemów truskawkowych, co świadczy o ich dobrych właściwościach przeciwutleniających.
3. Zmniejszenie zawartości polifenoli, w tym antocyjanów, wpłynęło na obniżenie właściwości przeciwutleniających składowanego przez dłuższy czas produktu.

### Literatura

- [1] Brouillard R.: The in vivo expression of anthocyanins colour in plant. *Phytochem.*, 1983, **22**, 1311-1323.
- [2] Fuleki T., Francis F.J.: Quantitative methods for anthocyanins. *J. Food Sci.*, 1968, **33**, 72.
- [3] Hannum S.: Potential impact of strawberries on human health: A review of the science. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 2004, **44**, 1-17.
- [4] Horubała A.: Zmiany barwy soków owocowych w procesie technologicznym ich otrzymywania i przechowywania. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1996, **8**, 31-34.
- [5] Macheix J., Fleuriet A., Billot J.: *Fruit phenolic*. CRC Press, Boca Raton FL 1990, pp. 84-90, **105**, 116-117.
- [6] Mazza G., Brouillard R.: The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solution. *Phytochem.*, 1990, **29**, **4**, 1097-1102.
- [7] Nosecka B., Bugała A., Mierwiński J., Strojewska I., Szczepaniak I., Świetlik J.: Rynek owoców i warzyw. Stan i perspektywy. IERiGŻ, Warszawa 2003, s. 22.
- [8] Peri C., Pompei G.: An assay different phenolic fraction in wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1971, **22**, **2**, 55.
- [9] Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W.: Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **66**, 401-436.
- [10] Stewart D., Deighton N., Davies H. V.: Antioxidants in soft fruit. <http://www.scri.sari.ac.uk/Document/AnnReps/01Indiv/15Antiox.pdf>. *Plant Biochem. Cell Biol.*, 94-98.
- [11] Wang H., Cao G., Prior R. L.: Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 701-705.



## CHANGES IN SOME SELECTED BIOACTIVE COMPONENTS IN STRAWBERRY JAMS IN STORAGE

### S u m m a r y

The objective of this study was to determine changes in the level of anthocyanins, polyphenols, and antioxidant activity of strawberry jams stored at a temperature of 4°C. The antioxidant activity of freshly manufactured strawberry jams amounted to 31.2 mg per 100 g of fresh product. The pelargonidyne-3glucosid was a dominant monomer, its per cent content was 92.5% of the total anthocyanin content, the cyanidyno-3-glucosid per cent content was 4.4%, and the pelargonidyne-3-arabinosid: 3.1%. It was stated that the content of anthocyanins in strawberry jams after their having being stored for 30 days was by 1.2 times lower if compared with the initial samples, and 1.6 times lower after the 60 day storage. Furthermore, the investigation showed that changes in the contents of biologically active components of low-sweetened jams in storage varied. The antioxidant activity was proved to be the resultant effect of content levels of many components, including anthocyanin dyes, and of the total amount of all the polyphenol compounds. A long-time storage of products under investigations appeared to be unfavourable because of the instability of anthocyanins, in particular the pelargonidyne. When jams were stored during a period of 60 days, the degradation index of the components analyzed increased from 1.4 to 1.7. The degradation rate and the decrease in antioxidant potential of jams showed a more intense profile during a 60-day storage period.

**Key words:** strawberries, jams, anthocyanins, polyphenols, antioxidant activity ☒



MAGDALENA KOPERA, MARTA MITEK, EWA ŚWIECA

## ZAWARTOŚĆ SUBSTANCJI PEKTYNOWYCH W OWOCACH TRZECH ODMIAN GRUSZY AZJATYCKIEJ (*PYRUS PYRIFOLIA*)

### Streszczenie

Celem badań była charakterystyka ilościowa i jakościowa substancji pektynowych w owocach gruszy azjatyckich. Materiałem badawczym były owoce trzech odmian: Shinseiki, Hosui, Chojuro pochodzące z sadu doświadczalnego Katedry Sadownictwa i Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa SGGW. Badaniom poddano owoce bezpośrednio po zbiorze (w stadium dojrzałości zbiorczej) i po trzech miesiącach przechowywania w chłodni.

Z miazgi owocowej otrzymywano preparat substancji nierozpuszczalnych w alkoholu, tzw. AIS (Alcohol Insoluble Solids). W wyniku ekstrakcji pektyn zawartych w AIS różnymi czynnikami ekstrahującymi, tj. wodą, szczawianami, kwasem solnym i wodorotlenkiem sodu otrzymano cztery frakcje pektyn, w których oznaczano zawartość kwasu galakturonowego.

Otrzymany AIS stanowił od 2,1 do 3,2% świeżej masy owoców użytych do badań, co w przeliczeniu na pektyny wynosi od 0,61 do 0,78%. W stadium dojrzałości zbiorczej najmniejszą ilość AIS otrzymano z owoców odmiany Shinseiki (20,6 g/1000 g), najwięcej zaś z miazgi odmiany Chojuro (28,8 g/1000 g). Owoce odmian Shinseiki i Chojuro charakteryzował wzrost ilości otrzymanego AIS po trzymiesięcznym przechowywaniu.

Zawartość kwasu galakturonowego, podstawowego składnika pektyn, kształtowała się w zależności od odmiany na poziomie od 171 mg/g AIS do 211,8 mg/g AIS – w stadium dojrzałości zbiorczej owoców. W wyniku przechowywania nastąpił zróżnicowany spadek zawartości kwasu galakturonowego w AIS, przy czym największe zmiany zaobserwowano w gruszkach odmiany Shinseiki, a najmniejsze w odmianie Hosui.

**Słowa kluczowe:** gruszka azjatycka, pektyny, AIS, kwas galakturonowy.

### Wprowadzenie

Substancje pektynowe są ważnym składnikiem roślin. Pełnią one w tkance roślinnej wiele funkcji, m.in. strukturotwórczą oraz regulującą gospodarkę wodną. Spełniają w roślinach jeszcze inną, nie mniej ważną rolę, a mianowicie są międzykomórkową

---

*Mgr inż. M. Kopera, dr hab. M. Mitek, prof. SGGW, mgr inż. E. Świeca, SGGW, Wydział Technologii Żywności, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, ul. Nowoursynowska 159C, 02-787 Warszawa, e-mail: kopera@alpha.sggw.waw.pl*

substancją sklejącą. Substancjom pektynowym przypisywane są również właściwości lecznicze. Udowodniono, że zapobiegają miażdżycy poprzez obniżenie poziomu cholesterolu we krwi, chelatują metale szkodliwe dla zdrowia oraz regulują perystaltykę jelit. Zawartość substancji pektynowych w tkankach roślinnych jest różna i zależy od takich czynników, jak: gatunek, odmiana, część anatomiczna rośliny.

Znajomość zawartości substancji pektynowych w tkankach roślinnych ma duże znaczenie w technologii żywności. Wiedza ta pozwala na ekonomiczne prowadzenie maceracji miążg owocowych i warzywnych przy produkcji nektarów i soków naturalnie mętnych, klarowaniu soków i win, jak również przy pektynolizie moszczów owocowych przed zagęszczaniem. W swej fizycznej naturze pektyny wykazują powinowactwo do wody i w tym środowisku tworzą żele. Wpływa to bezpośrednio na podwyższenie lepkości soku i utrudnia proces zagęszczania.

Wiedza na temat występowania substancji pektynowych i przemian jakim podlegają w owocach w czasie ich dojrzewania oraz przechowywania przyczynić się może do ustalenia optymalnych warunków przechowywania owoców i do poprawy jakości otrzymanych z nich produktów.

W dotychczasowych pracach poświęconych charakterystyce substancji pektynowych owoców gruszy azjatyckiej przedstawiano różne metody ekstrakcji tych substancji. Moriguchi i wsp. [3] badali zawartość związków poliuronidowych w gruszcze azjatyckiej odmiany Chojuro w czasie dojrzewania owoców na drzewie. Z przedstawionych badań wynika, że we frakcjach izolowanych z AIS wodą i chlorkiem sodu ilość związków poliuronidowych wzrasta w czasie dojrzewania owoców na drzewie. Yamaki i wsp. [8] badali natomiast zmiany substancji pektynowych w czasie przechowywania owoców w chłodni. Z badań tych wynika, że podczas przechowywania gruszek następuje wzrost zawartości pektyn rozpuszczalnych w wodzie i związków chelatujących przy jednoczesnym spadku zawartości frakcji rozpuszczalnej w kwasie solnym. Sirisomboon i wsp. [6, 7] zaobserwowali z kolei, że istnieje zależność pomiędzy teksturą owoców i zawartością substancji pektynowych. Wykazali oni, że pektyny rozpuszczalne w szczawianach odgrywają większą rolę w kształtowaniu tekstury niż pektyny rozpuszczalne w wodzie.

Celem podjętych badań była charakterystyka substancji pektynowych zawartych w owocach gruszy azjatyckiej z zastosowaniem ekstrakcji tych związków za pomocą różnych czynników.

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły owoce gruszy azjatyckiej trzech odmian: Shinseiki, Hosui, Chojuro, które pochodziły z sadu doświadczalnego Katedry Sadownictwa i Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu SGGW.

Owoce odmiany Shinseiki zebrano 27 sierpnia zaś Hosui i Chojuro 2 września 2002 r.

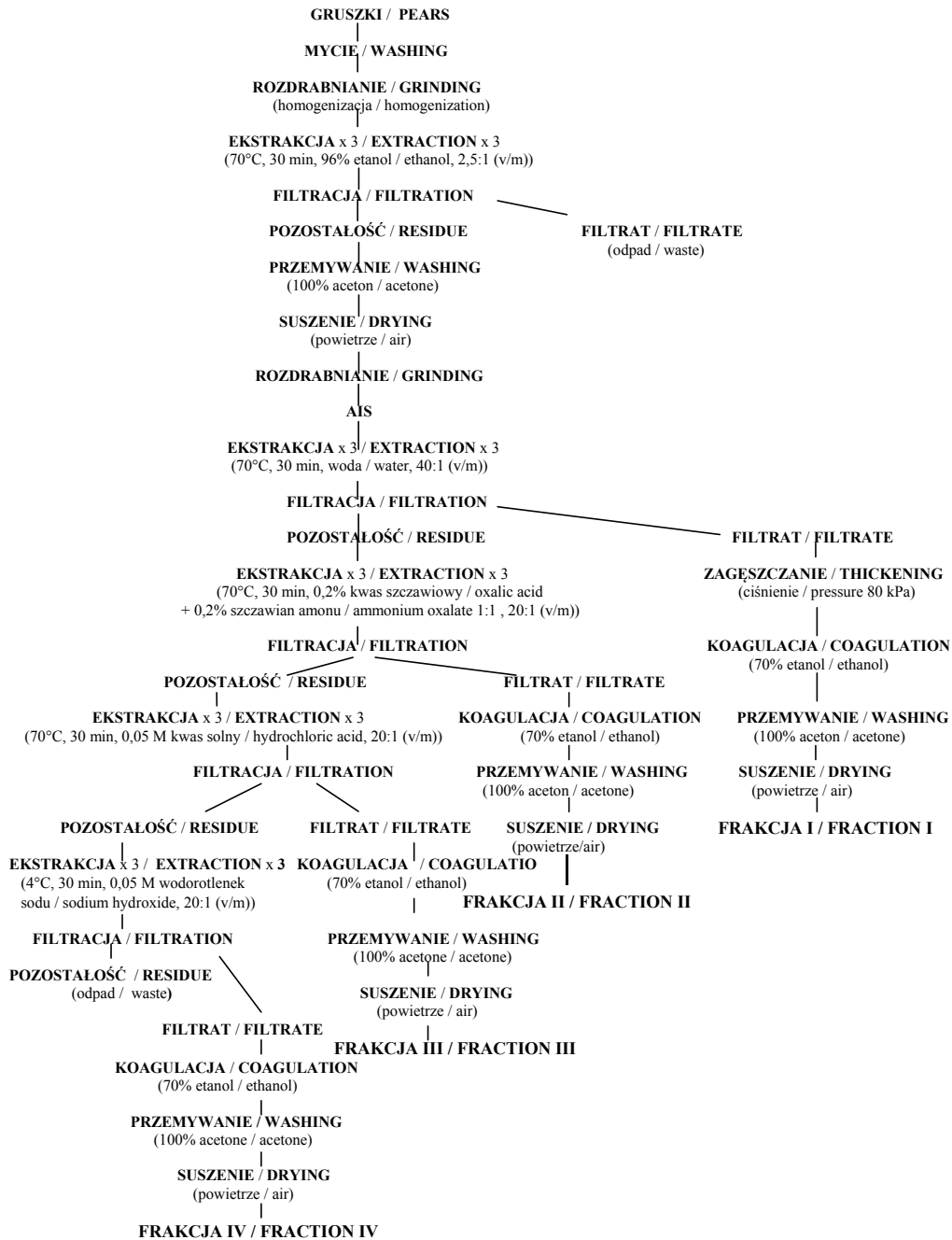
Badania przeprowadzono bezpośrednio po zbiorze owoców (w stadium dojrzałości zbiorczej) i po trzech miesiącach przechowywania w chłodni zwykłej (w temp. 0°C i wilgotności względnej powietrza 95%). Przed przystąpieniem do analiz owoce przetrzymywano w temp. 20°C przez 24 godz.

Z miazgi owocowej izolowano substancje nierozpuszczalne w alkoholu (AIS), a następnie stopniowo wydzielano cztery frakcje substancji pektynowych: hydratopektyn (rozpuszczalne w wodzie), rozpuszczalnych w szczawianach, rozpuszczalnych w kwasie solnym, rozpuszczalnych w wodorotlenku sodu wg schematu przedstawionego na rys. 1.

Materiał badawczy stanowiły owoce gruszy azjatyckiej trzech odmian w stadium dojrzałości zbiorczej i po trzech miesiącach przechowywania w chłodni zwykłej. Z każdej odmiany pobierano porcję owoców o masie 1 kg. Surowiec myto pod bieżącą wodą, krojono w ósemki, a następnie zanurzano na 15 min w 0,2% roztworze kwasu L-askorbinowego w celu zapobieżenia procesom brunatnienia, po czym rozdrabniano przy użyciu homogenizatora. Otrzymaną miazgę owocową poddawano trzykrotnej ekstrakcji 96% alkoholem etylowym, w temp. 70°C, w ciągu 3 x 30 min, przy stosunku alkoholu etylowego do miazgi 2,5:1 (v/m). Następnie całość sączono przez sączek z bibuły filtracyjnej umieszczony na lejku Büchnera. Otrzymaną na lejku pozostałość po trzeciej ekstrakcji przemywano trzykrotnie 100% acetonem w celu lepszego jej odwodnienia. Otrzymaną w ten sposób fazę stałą, określaną jako AIS, pozostawiano do wysuszenia w warunkach otoczenia. Końcowym etapem obróbki otrzymanego AIS było rozdrobnienie w młynku. Otrzymany AIS przechowywano w hermetycznym naczyniu w temp. pokojowej do czasu dalszych badań.

#### *Frakcja I*

Próbkę AIS o masie 10 g poddawano trzykrotnej ekstrakcji w wodzie, w temp. 70°C, w ciągu 3 x 30 min, w stosunku ilościowym wody do preparatu AIS 40:1 (v/m). Po ekstrakcji zawiesinę sączono przez sączek z bibuły filtracyjnej umieszczony na lejku Büchnera. Filtrat z trzech kolejnych ekstrakcji łączono ze sobą i poddawano procesowi zagęszczania w wyparce próżniowej firmy Buchii-Vacuum Controller B-721 przy ciśnieniu 80 kPa. Otrzymany koncentrat wlewano do 2,5-krotnie większej objętości 96% alkoholu etylowego w celu koagulacji pektyn (stężenie alkoholu w mieszaninie 70%). Koagulat oddzielano na sączku umieszczonym na lejku Büchnera. Otrzymany w ten sposób koagulat przemywano 100% acetonem celem odwodnienia i suszono w powietrzu.



Rys. 1. Schemat postępowania technologicznego.

Fig. 1. Diagram of a technological procedure.

### *Fracja II*

Pozostałość po trzykrotnej ekstrakcji wodnej poddawano trzykrotnej ekstrakcji w mieszaninie równych objętości roztworu 0,2% kwasu szczawiowego i 0,2% szczawianu amonu w temp. 70°C, w ciągu 3 x 30 min, w stosunku ilościowym 20:1 (v/m). Filtrat z trzech kolejnych ekstrakcji łączono i wlewano do 2,5-krotnie większej objętości 96% alkoholu etylowego (stężenie alkoholu w mieszaninie 70%). Otrzymany koagulat oddzielano na sączku umieszczonym na lejku Büchnera, a następnie przemywano 100% acetonem celem odwodnienia i suszono w powietrzu.

### *Fracja III*

Pozostałość po trzykrotnej ekstrakcji w mieszaninie szczawianów poddawano następnie trzykrotnej ekstrakcji w 0,05 M roztworze kwasu solnego, w temp. 70°C, w ciągu 3 x 30 min, w stosunku ilościowym 20:1 (v/m). Otrzymane filtry doprowadzono do pH 4,5 za pomocą 1 M roztworu wodorotlenku sodu, po czym łączono je i wlewano do 2,5-krotnie większej objętości 96% alkoholu etylowego (stężenie alkoholu w mieszaninie 70%). Koagulat oddzielano na sączku umieszczonym na lejku Büchnera, i następnie przemywano 100% acetonem celem odwodnienia i suszono w powietrzu.

### *Fracja IV*

Pozostałość po trzykrotnej ekstrakcji kwasowej poddawano trzykrotnej ekstrakcji w 0,05 M roztworze wodorotlenku sodu, w temp. 4°C, w ciągu 3 x 30 min, w stosunku ilościowym 20:1 (v/m). Otrzymane filtry doprowadzono do pH 4,5 za pomocą 1 M roztworu kwasu solnego, po czym łączono je i wlewano do 2,5-krotnie większej objętości 96% alkoholu etylowego (stężenie alkoholu w mieszaninie 70%). Koagulat oddzielano na sączku umieszczonym na lejku Büchnera, przemywano 100% acetonem i suszono go w powietrzu.

W otrzymanym preparacie AIS oraz poszczególnych frakcjach pektyn oznaczano zawartość kwasu galakturonowego w AIS i we wszystkich frakcjach pektyn wg PN-A-75113 [5].

## **Wyniki i dyskusja**

W tab. 1. przedstawiono wyniki zawartości substancji nierozpuszczalnych w etanolu (AIS) w owocach trzech odmian gruszy azjatyckiej: po zbiorze i po trzech miesiącach przechowywania w chłodni zwykłej. Otrzymany AIS stanowił 2,06-3,21% miazgi owocowej użytej do badań. W owocach bezpośrednio po zbiorze najmniejszą ilość AIS otrzymano z miazgi odmiany Shinseiki (2,06%), a najwięcej z miazgi odmiany Chojuro (2,88%). Po trzymiesięcznym przechowywaniu owoców wydajność

otrzymanego AIS wzrosła w obu odmianach. W odmianie Hosui wydajność AIS kształtowała się na tym samym poziomie bezpośrednio po zbiorze i po przechowywaniu, wynosząc odpowiednio 2,34% i 2,32%. Podobną wydajność AIS uzyskali de Vries i wsp. [1, 2] w badaniach prowadzonych na jabłkach.

Tabela 1

Zawartość substancji nierozpuszczalnych w etanolu (AIS) w owocach trzech odmian gruszy azjatyckiej.  
The content of ethanol-insoluble (AIS) substances in fruit of three Asian pear cultivars.

Partia gruszek Control lot of pears	AIS [%]	Kwas galakturonowy Galacturonic acid [mg/g AIS]
Shinseiki I	2,06	211,8
Shinseiki II	2,72	188,0
Hosui I	2,34	173,4
Hosui II	2,32	172,9
Chojuro I	2,88	171,1
Chojuro II	3,21	153,1

Objaśnienia / Explanatory notes:

I – termin badania – bezpośrednio po zbiorze / date of experiment – immediately after the fruit harvest accomplished;

II – termin badania – po trzech miesiącach przechowywania w chłodni zwykłej / date of experiment – after the three month cold storage in the ambient air atmosphere.

Zawartość kwasu galakturonowego, podstawowego składnika pektyn, po zbiorze owoców kształtowała się w zależności od odmiany na poziomie od 211,8 mg/g AIS do 171,1 mg/g AIS. Po przechowywaniu nastąpił spadek zawartości kwasu galakturonowego w AIS, przy czym największe zmiany zaobserwowano w owocach odmiany Shinseiki, a najmniejsze w odmianie Hosui. W gruszkach odmiany Shinseiki zawartość kwasu galakturonowego w AIS, uzyskanego z owoców w stadium dojrzałości zbiorczej, wynosiła 211,8 mg/g AIS, co stanowiło ok. 21% masy AIS. Po przechowywaniu zaś wartość ta wynosiła 188 mg/g AIS, co stanowiło ok. 19% masy AIS. Analogicznie w AIS uzyskanym z odmiany Chojuro wartości te kształtowały się na poziomie 171,1 mg/g AIS po zbiorze i 153,1 mg/g AIS po 3 miesiącach, co stanowiło odpowiednio 17 i 15% masy AIS. Natomiast zawartość kwasu galakturonowego w AIS wyizolowanym z tkanki owoców odmiany Hosui wynosiła około 173 mg/g AIS w momencie zbioru owoców, jak i po trzech miesiącach przechowywania.

W tab. 2. przedstawiono charakterystykę ilościową poszczególnych frakcji pektynowych zawartych w owocach gruszy azjatyckiej.

Tabela 2

Charakterystyka ilościowa poszczególnych frakcji pektynowych zawartych w owocach trzech odmian gruszy azjatyckiej.  
The quantitative profile of individual pectin fractions as contained in the fruit of three Asian pear cultivars.

Rodzaj frakcji– czynnik ekstrahujący Fraction type – extracting agent	Odmiana gruszy i termin badania Pear tree cultivar and date of experiment											
	Shinseiki I		Shinseiki II		Hosui I		Hosui II		Chojuro I		Chojuro II	
	Pektyny Pectins [g/100g]*	[%]**	Pektyny Pectins [g/100g]	[%]	Pektyny Pectins [g/100g]	[%]	Pektyny Pectins [g/100g]	[%]	Pektyny Pectins [g/100g]	[%]	Pektyny Pectins [g/100g]	[%]
Zawartość pektyn ogółem Total content of pectins	0,66	100	0,78	100	0,62	100	0,61	100	0,75	100	0,75	100
Woda / Water	0,03	4,55	0,03	3,84	0,04	6,45	0,09	14,75	0,04	5,33	0,07	9,33
Szczawiany Oxalates	0,12	18,18	0,17	21,79	0,09	14,52	0,11	18,03	0,13	17,33	0,17	22,67
Kwas solny Hydrochloric acid	0,10	15,15	0,07	8,97	0,12	19,35	0,06	9,84	0,11	14,67	0,07	9,33
Wodorotlenek sodu Sodium hydroxide	0,08	12,12	0,07	8,97	0,08	12,90	0,08	13,11	0,09	12,00	0,09	12,00
Suma czterech frakcji Sum of four fractions	0,33	50,00	0,34	43,57	0,33	53,22	0,34	55,73	0,37	49,33	0,40	53,33

Objaśnienia: / Explanatory notes:

I – termin badania bezpośrednio po zbiorze / I – date of experiment immediately after the fruit harvest accomplished;

II – termin badania po trzech miesiącach przechowywania w chłodni zwykłej / II – date of experiment after the three months of cold storage in the ambient air atmosphere;

\* – Zawartość pektyn w przeliczeniu na świeżą masę owoców / Content of pectins expressed in fresh mass of fruit;

\*\* – Procentowa zawartość poszczególnych frakcji pektyn w ogólnej ich masie / Per cent content of individual fractions of pectins in their total mass.

Ogólna zawartość pektyn w owocach odmiany Shinseiki w stadium dojrzałości zbiorczej wynosiła 0,66%, a po trzech miesiącach przechowywania 0,78%. W czasie przechowywania stwierdzono, że zawartość pektyn w poszczególnych frakcjach zmieniła się. Nastąpił wzrost zawartości pektyn we frakcji wyizolowanej przy użyciu szczawianów, a zmniejszenie ilości pektyn we frakcjach uzyskanych przy użyciu rozтворów kwasu solnego i wodorotlenku sodu.

Ogólna zawartość pektyn w gruszkach odmiany Chojuro w stadium dojrzałości zbiorczej i po przechowywaniu wynosiła 0,75%. W czasie przechowywania następują zmiany ilościowe substancji pektynowych w poszczególnych frakcjach, a mianowicie, obserwuje się wzrost ilości pektyn rozpuszczalnych w wodzie i szczawianach, przy jednoczesnym spadku zawartości substancji pektynowych rozpuszczalnych w kwasie solnym.

Ogólna zawartość pektyn w owocach odmiany Hosui, w stadium dojrzałości zbiorczej wynosiła 0,62%, a po przechowywaniu 0,61%. W owocach tej odmiany, podobnie jak w przypadku odmiany Chojuro, nastąpił spadek zawartości pektyn rozpuszczalnych w kwasie solnym, natomiast ilość hydratopektyn i pektyn wyizolowanych przy użyciu szczawianów wzrosła.

Biorąc pod uwagę procentowy udział poszczególnych frakcji w ogólnej zawartości pektyn obecnych w trzech badanych w pracy odmianach gruszki azjatyckiej można stwierdzić, że największa pod względem ilościowym była frakcja szczawiano-rozpuszczalna, stanowiąca od 14,5% ogólnej zawartości pektyn (odmiana Hosui) do 22,67% (Shinseiki) (tab. 2). Od ilości tej frakcji pektyn występujących w tkance pod postacią pektynianów i pektanów wapnia zależy w dużej mierze jędrność owoców.

Yamaka i wsp. [8] wykazali podobne tendencje zmian zawartości substancji pektynowych w poszczególnych frakcjach uzyskanych z owoców gruszy azjatyckiej.

Zmiany ilościowe substancji pektynowych w gruszkach azjatyckich w czasie przechowywania są wynikiem działania enzymów rodzimych zawartych w owocach. Przemiany substancji pektynowych są następstwem działania enzymów protopektynazy, pektynmetyloesterazy, poligalakturonazy, które katalizują rozkład substancji pektynowych [4].

Podsumowując można stwierdzić, że zastosowane metody ekstrakcji substancji pektynowych umożliwiły ekstrakcję od ok. 44% do ok. 56% pektyn zawartych w owocach. Pozostała zawartość pektyn nie była możliwa do wyizolowania bez zastosowania metod enzymatycznych. Otrzymane wyniki są porównywalne z tymi, jakie uzyskali de Vries i wsp. [1, 2] w przypadku jabłek odmiany Golden Delicious.

## **Wnioski**

1. Owoce gruszy azjatyckiej odmian Shinseiki, Chojuro, Hosui zawierają od 0,61% do 0,78% substancji pektynowych, co stanowi wartość porównywalną z innymi odmianami gruszek.



2. W czasie przechowywania owoców gruszy azjatyckiej zachodzą istotne zmiany zawartości poszczególnych frakcji pektynowych. Następuje wzrost zawartości frakcji hydratopektyn oraz frakcji rozpuszczalnej w związkach chelatujących (szczawianach) przy jednoczesnym spadku ilości frakcji rozpuszczalnej w kwasie solnym. Należy to tłumaczyć zmianami biochemicznymi zachodzącymi w czasie powolnego dojrzewania owoców w chłodni.
3. Zastosowanie chemicznych metod ekstrakcji pektyn z owoców gruszy azjatyckiej umożliwi wyizolowanie od ok. 44% do ok. 56% ich ilości zawartej w AIS. Pozostała ilość pektyn nie jest możliwa do wyizolowania bez zastosowania metod enzymatycznych.

### Literatura

- [1] De Vries J.A., Voragen A.G.J., Rombouts F.M., Pilnik W.: Extraction solids from ripe and unripe apples. *Carbohydr. Polymers.*, 1981, **1**, 117-127.
- [2] De Vries J.A., Voragen A.G.J., Rombouts F.M., Pilnik W.: Enzymatic degradation of apple pectins. *Carbohydr. Polymers.*, 1982, **2**, 25-33.
- [3] Moriguchi T., Abe K., Tanaka K., Sanada T.: Polyuronides changes in Japanese and Chinese pear fruits during ripening on the tree. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 1998, **63** (3), 375-377.
- [4] Pieniążek S.A.: *Sadownictwo*. PWRiL, Warszawa 1995.
- [5] PN-A-75113:1996. Preparaty pektynowe.
- [6] Sirisomboon P., Tanaka M., Fujita S., Kojima T.: Relationship between the texture and pectin constituents of Japanese pear. *J. Texture Studies*, 2000, **31**, 679-690.
- [7] Sirisomboon P., Tanaka M., Fujita S., Akinaga T., Kojima T.: A simplified method for the determination of total oxalate-soluble pectin content in Japanese pear. *J. Food Comp. Anal.*, 2001, **14**, 83-91.
- [8] Yamaki S., Kajiura I., Omura M., Matsuda K.: Watercore in Japanese pear (*pyrus serotina* rehder var. 'cultura' rehder). II Chemical changes in watercored tissue. *Sci. Horticulturae*, 1976, **4**, 271-277.

### THE CONTENT OF PECTIN SUBSTANCES IN FRUIT OF THREE ASIAN PEAR CULTIVARS /PYRUS PYRIFOLIA/

#### S u m m a r y

The objective of this study was a quantitative and qualitative profile of pectin substances in fruit of the Asian pear trees. An investigation material for the study was fruit of the three pear cultivars: Shinseiki, Hosui, and Chojuro from an experimental orchard of the Horticulture Department of PPO – SGGW. The study was conducted using fruit instantly after the harvest (during a phase of the fruit harvest ripeness) and after the three months of cold storing in an ambient air atmosphere.

A preparation of alcohol-insoluble substances was made of fruit tissues (the so-called AIS – Alcohol Insoluble Solids). Pectins contained in AIS were extracted with use of different extracting agents, i.e. water, oxalates, hydrochloric acid, and NaOH; the four pectin fractions were obtained from the extractions performed. For those four fractions of pectins, galacturonic acid content was determined.

The AIS obtained constituted 2.1% to 3.2% of fresh fruit pulp used in the investigations, i.e. 0.61% to 0.78% of pectins. In the phase of the harvest ripeness, the lowest amount of AIS was obtained from the Shinseiki cultivar fruit (20.6 g/1000 g) and the highest amount was obtained from the Chojuro cultivar fruit (28.8 g/1000 g). As for the Shinseiki and Chojuro fruit, it was stated an increase in AIS obtained after the three month storage.

The galacturonic acid content, a basic component of the pectins, oscillated between 211.8 mg/g AIS and 171 mg/g AIS (in the phase of the harvest ripeness) and depended on the cultivar. Owing to the storage, the amount of galacturonic acid in the AIS dropped, and this drop was different for each cultivar. The highest changes were stated in the Shinseiki cultivar fruit and the lowest – in the Hosui cultivar pears.

**Key words:** Asiatic pear, pectin, AIS, galacturonic acid. ☒

MARTA KOSTIČOVÁ, LUCIA GÜLLOVÁ, ALEXANDER DANDÁR

## EVALUATION OF ANALYTICAL METHODS OF MICROBIAL ACTIVITY DURING SUCROSE EXTRACTION FROM SUGAR BEET

### S u m m a r y

The aim of our research was to verify selected methods to determine microbial activity during extraction process in term of speed, simplicity and accuracy of the analysis. Indirect methods – enzymatic determination of L-lactic acid, isotachophoretic determination of lactic acid, pH, as well nitrite amounts determination were verified. The results of these methods were compared with those of direct one – determination of bacteria counts (mesophilic and thermophilic bacteria). The determination of L-lactic acid by enzymatic device MICROZYM – L is very simple and rapid. But in some cases L-lactic acid does not indicate a true microbial situation in extractor. The determination of total lactic acid (L + D isomers) is more adequate for detection of contamination in extractor. The results of the nitrite amount determination did not confirm the sanitary situation found out by measurement of lactic acid, pH and bacteria counts in some cases.

**Key words:** microbial contamination, lactic acid, nitrite.

### Introduction

The aim of the extraction process in sugar production is to extract the maximum amount of sucrose with the minimum amount of impurities.

Microbial infection in extractor connected with sugar decomposition causes unknown sugar losses and other serious problems. There are two major types of microorganisms according to their optima temperature [1, 14]. Mesophilic which grow at 15–45°C and thermophilic which grow at 45–80°C. Early identification of microbial state in extractor with following application of disinfectans has a great effect to decrease sucrose losses due to eliminate many problems during sugar production.

L-lactic acid is the main product of microbial decomposition of sucrose in diffusion (raw) juice [2]. Several methods of lactic acid determination are used at present.

The determination of lactic acid (L- and D-) in juice and processing products by an enzymatic method are accepted in the sugar industry [5]. Reduced nicotinamid-adenine di-nucleotide (NADH), formed by oxidation of lactate, is measured photometrically by its characteristic absorbance at 340 nm. Another enzymatic method is the determination of L-lactic acid by device MICROZYM-L analyzer using enzymatic sensor [9]. The determination of non – sugars ( anions and cations ) by capillary isotachopheresis (ITP) is a new tool in sugar factory analysis. ITP is able to determine a wide range of quickly and simply ions, usually without sample pre-treatment [6, 7, 8, 10, 11]. HPLC and ionic HPLC are successfully used to determine some organic acids and inorganic anions in sugar factory products [12, 13, 20].

A certain bacteria thriving at higher temperatures reduce nitrates to nitrites. Because nitrates and not nitrites are only founded in soil, the reducing power of the bacteria to nitrites in the extractor can be used as a measure of their activity [14]. But the reduction of nitrates can be suppressed in presence of increased amount of oxygen during extraction [15].

Nitrites can be detected by capillary isotachopheresis [10, 11], by ionic HPLC [13, 20] as well as by photometric method [3].

The object of our investigation was to compare various methods of contamination in extractor – the enzymatic method of L-lactic acid determination, determination of total lactic acid by capillary ITP, determination pH and nitrites and determination of bacteria counts as a measure of microbial activity during the extraction of sucrose from sugar beet.

## **Material and methods**

### *Samples*

The juices were sampled from the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> chambers of the slope extractor in sugar factory Eastern Sugar Slovensko, a.s. Dunajská Streda during the campaign 2002. L-lactic acid (L-LA) and pH were measured in the factory's laboratory. Further samples were sampled in sugar factory Trnavský cukrovar, a.s. Trnava, i.e. fresh cossettes (FC), juices from the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> chambers of the slope extractor, raw juice (RJ) and press water (PW) during the campaigns 2002, and 2003. Aliquots of juices were cooled, refrigerated and transported to the laboratory of faculty for bacteria counts determination and isotachopheretic analyses.

L-lactic acid was determined by enzymatic device MICROZYM-L, which was provided by company Jako, s.r.o., Líbeznice, Czech Republic. It is an analyzer with enzymatic electrode, that measures L-lactic acid in mg/l [4].

Total lactic acid (D+L isomers) was determined by capillary isotachopheresis [6, 7, 8]. Measurements were realised on the isotachophoretic analyzer ZKI 01 VILLA LABECO, Spišská Nová Ves with conductivity detector. Applied electrolyte systems of following composition: LE (leading electrolyte) – 10 mmol/dm<sup>3</sup> HCl, 0.1% MHEC, aminocaproic acid, pH 4.25, TE (terminating electrolyte) – 5 mmol/dm<sup>3</sup> caproic acid. The current in the prepreparation column was 250 µA.

Nitrite concentrations (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) were determined by photometric method with α-naphthylamine and sulphanilic acid [3].

pH was measured with the aid of digital pH meter RADELKIS with combine pH electrode OP 0808.

Determination of bacteria counts was realised by pour plate technique with plate count agar (PCA) from diluted juices. Plates were incubated at 35°C for mesophiles and at 55°C for thermophiles per 48 hours. The results were reported as CFU/ml (colony forming unit) [19].

## Results and discussion

### *Sugar factory Dunajská Streda (DS)*

The results of L-lactic acid amounts and pH values indicated good sanitary situation in both extractors (A, B). This statement was consequently confirmed by microbial analysis of mesophilic and thermophilic counts. The values of bacteria counts did not reached the critical value of 10<sup>4</sup> CFU/ml [18]. Average values of bacteria counts – mesophiles (M), thermophiles (T), L-lactic acid, pH and nitrite concentration are presented in Table 1 and 2.

L-lactic acid amounts varied from 28 to 246 mg/l in the 1<sup>st</sup> chamber and from 33 to 367 mg/l in the 3<sup>rd</sup> chamber. Increased amounts of this acid were detected on 20.11.02 in both chambers of extractor B, pH varied 5.33-5.98; pH value of the feed water was about 5.1 during this day. The values of L-lactic acid 300–350 mg/l can be consider as limiting values indicating good sanitary situation in this factory. For example Austrian factories are satisfied with a maxima of 400 mg/l of lactic acid in the raw juice [16]. According to the information of the company Jako s.r.o, that supplies biocides SUCAZUR, values up to 250–300 mg/l L-lactic acid in raw juice and press water did not correspond to infection [9].

As for nitrites determination, increased amounts were measured on 20.11.02 and on 6.12.02 in the 1<sup>st</sup> chamber (13.81–27.27 mg/l) and (11.1–14.08 mg/l) in the 3<sup>rd</sup>

chamber. Higher values of nitrites (above 10 mg/l) indicated infection in extractor but according to the L-lactic acid increased infection was found out only on 20.11.02.

Table 1

Average values of bacteria counts, pH, L-lactic acid and nitrite level in the 1<sup>st</sup> chamber of extractor (DS 2002).

Średnia liczba bakterii, pH i stężenie kwasu L-mlekowego oraz azotanów(III) w pierwszej komorze dyfuzora (DS 2002).

Date	16.10.02	23.10.02	13.11.02	20.11.02	6.12.02	Campaign averages
Extractor	A	B	A	B	B	A+B
CFU/ml – M	$1.32 \cdot 10^3$	$1.08 \cdot 10^3$	$1.13 \cdot 10^3$	$0.92 \cdot 10^3$	$1.15 \cdot 10^3$	$1.12 \cdot 10^3$
CFU/ml – T	$3.52 \cdot 10^2$	$4.94 \cdot 10^2$	$7.11 \cdot 10^2$	$5.77 \cdot 10^2$	$5.42 \cdot 10^2$	$5.36 \cdot 10^2$
L-LA [mg/l]	94.1	91.9	62.4	271.4	89.8	116.6
pH	6.02	6.12	6.03	5.90	6.32	6.07
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> [mg/l]	3.56	5.05	0.68	13.96	15.42	9.17

Table 2

Average values of bacteria counts, pH, L-lactic acid and nitrite level in the 3<sup>rd</sup> chamber of extractor (DS 2002).

Średnia liczba bakterii, pH i stężenie kwasu L-mlekowego oraz azotanów(III) w trzeciej komorze dyfuzora (DS 2002).

Date	16.10.02	23.10.02	13.11.02	20.11.02	6.12.02	Campaign averages
Extractor	A	B	A	B	B	A+B
CFU/ml – M	$1.26 \cdot 10^3$	$1.12 \cdot 10^3$	$1.30 \cdot 10^3$	$1.11 \cdot 10^3$	$0.92 \cdot 10^3$	$1.10 \cdot 10^3$
CFU/ml – T	$3.76 \cdot 10^2$	$3.44 \cdot 10^2$	$4.84 \cdot 10^2$	$4.95 \cdot 10^2$	$4.80 \cdot 10^2$	$4.29 \cdot 10^2$
L-LA [mg/l]	72.7	98.7	58.5	294.7	209.3	141.7
pH	5.92	5.79	5.89	5.51	6.15	5.84
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> [mg/l]	4.87	2.11	0.31	8.93	10.63	5.79

### *Sugar factory Trnava (TA)*

The measurements in this sugar factory were carried out to determine L-lactic acid, total lactic acid, pH and nitrite concentrations. Average values of L-lactic acid and pH measured during campaign in factory's laboratory are given in the table 3.

To compare the results, decreasing amounts of L-lactic acid (raw juice, juices in the chambers of extractor) and subsequently increasing values of pH were measured during campaign 2003. In the campaign 2002 biocide SUCAZUR 1410 in average quantity of 16.7 ppm/day (12.4 ppm to the extractor and 4.3 ppm to the press water) and 23.7 ppm/day of formalin was applied.

In the campaign 2003 higher amounts of disinfectans i.e. SUCAZUR 1410 18 ppm/day, formalin 48 ppm/day were used. During this campaign biocide SUCAZUR 1451 in cold area (washed beet and fress cossettes) in average amount of 3 ppm /day was also used. Increased amounts of biocides had positive effect with regard to the L-lactic acid amount and pH.

Table 3

Average values of L-lactic acid and pH in fresh cossettes (FC) and in juices of extraction process measured during campaigns 2002 and 2003 (TA).

Średnie stężenie kwasu L-mlekowego oraz pH świeżej krajanki i soku dyfuzyjnego podczas kampanii w latach 2002 i 2003 (TA).

Campaign	L – LA [mg/l] FC	L – LA [mg/l] RJ	pH RJ	L – LA [mg/l] “1“	pH “1“	L – LA [mg/l] “3“	pH “3“	L – LA [mg/l] PW	pH PW
2002	35.9	328.9	5.93	526.1	5.34	244.0	5.22	95.5	5.25
2003	81.1	200.5	6.15	311.1	5.82	178.9	5.73	121.7	5.43

In selected samples we have measured L-lactic acid, total lactic acid, pH and nitrites. The samples were sampled and refrigerated during the campaigns 2002 and 2003 in sugar factory Trnava. Measurements were realised in the laboratory of the faculty from refrigerated samples. The results are presented in tables 4 and 5.

Table 4

Amounts of L-lactic, D+L-lactic acid, pH and nitrites in selected samples of extraction process (TA 2002). Całkowita zawartość kwasu mlekowego (D+L) i jego izomeru L, oraz stężenie azotanów(III) w wybranych próbkach pobranych podczas procesu ekstrakcji (TA 2002).

Average values (2002)	RJ	1. chamber	3. chamber	PW
L-lactic acid L – LA [mg/l]	369.3	635.1	188.0	40.0
Total lactic acid (D+L)-LA [mg/l]	463.3	717.0	312.8	148.1
Ratio L-LA / (D+L-LA) [%]	79.7	88.6	60.1	27.0
pH	5.9	5.3	5.2	5.3
Nitrites [mg/l]	35.20	29.60	0.11	0.13

The results indicate increased amounts of D-lactic acid. In the campaign 2002 high values of D-lactic acid were found out in the press water and subsequently in the

3<sup>rd</sup> chamber of extractor, where the press water is returned to the extraction process. The press water was not heated /sterilised/ enough and according to the investigation of American researchers [17] increased amounts of D-lactic acid were caused by *Leuconostoc mesenteroides* that produced almost exclusively D-lactic acid. The results of total lactic acid measured in 2003 indicated infection in the whole extractor, on the other hand L-lactic acid, nitrite amounts and pH /except press water/ indicated good sanitary situation.

Table 5

Amounts of L-lactic, D+L-lactic acid, pH and nitrites in selected samples of extraction process (TA 2003). Całkowita zawartość kwasu mlekowego (D+L) i jego izomeru L oraz stężenie azotanów(III) w wybranych próbkach pobranych podczas procesu ekstrakcji (TA 2003).

Average values (2003)	RJ	1. chamber	3. chamber	PW
L-lactic acid L – LA [mg/l]	182.6	204.3	80.5	88.1
Total lactic acid (D+L)–LA [mg/l]	568.5	887.1	719.4	325.3
Ratio L-LA / (D+L-LA) [%]	32.1	23.0	11.2	27.1
pH	6.2	5.7	5.6	5.3
Nitrites [mg/l]	0.56	0.52	0.11	0.16

As for nitrite amounts determination – according to the results measured in 2002, increased values that indicated contamination were found out in the juice end of extractor, while in the water their amounts indicated good sanitary state.

Nitrite amounts measured in 2003 indicated good sanitary situation in the whole extraction process. These results were not confirmed by previous results of lactic acid high values in the whole extractor.

## Conclusion

1. Determination of L-lactic acid by enzymatic device MICROZYM-L is simple and fast. It must be realised together with measurement of pH. The extraction process must be, however realised in the way which avoids production of D-lactic acid as the major metabolite (e.g. by strict following the temperature conditions in extractor, sterilisation of press water etc.).
2. Determination of nitrite amounts can be used as an informative method. It must be taken into consideration that some microorganism can further reduce nitrites to



ammonia eventually to nitrogen and nitrite is only intermediate product. In this case the negative result does not mean good microbial state.

### Literature

- [1] Bretschneider, R.: Technologie cukru. SNTL, Alfa, Praha 1980.
- [2] de Bruijn, J.M., van der Poel, P.W., Heringa, R., van den Blik, M.: Sugar degradation in sugar beet extraction – a model study. *Zuckerind.*, 1991, **8 (116)**, 729-732.
- [3] Cox, L., Tveit, M.: Der Nitritgehalt von Diffusionssäften als Mass zur Bewertung der Mikrobentätigkeit. *Zucker*, 1964, **22 (17)**, 625-627.
- [4] Durant, H.G.: Microzym–L. L–lactate and/or D–glukose biosensory analyzer. Operating Instructions. Biotrade, Toulouse, France, 1999.
- [5] ICUMSA, International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis, Method Book 1994, Method GS8/4/6-13. Bartens, Berlin.
- [6] Karovičová, J., Kohajdová, Z., Šimko, P., Lukáčová, D.: Using of capillary isotachopheresis for determination of biogenic amines and D-isocitric acid in food products. *Nahrung/ Food*, 2003, **3 (47)**, 188-190.
- [7] Karovičová, J., Kohajdová, Z., Hybenová, E.: Using of multivariate analysis for evaluation of lactic acid fermented cabbage juices. *Chem. Pap.*, 2002, **4 (56)**, 267-274.
- [8] Karovičová, J., Kohajdová, Z., Greif, G.: The use of PCA, CA, FA for evaluation of vegetable juices processed by lactic acid fermentation. *Czech J. Food Sci.*, 2002, **4 (20)**, 135-143.
- [9] Kopecký, J., Dandár, A., Bubník, Z., Pawlowski, B.: Microbiology Control of Sucrose Extraction, Incrustation Control of Evaporation and Continuous Ionic Separation Process ISEP. In: CITS, Madrid, 2003, pp. 173-179.
- [10] Kvasnička, F., Parkin, G., Harvey, C.: Capillary isotachopheresis as a new tool in sugar factory analysis. *Int. Sugar J.* 1993, **95 (1139)**, 451- 458.
- [11] Kvasnička, F., Blatný, P.: Application of capillary isotachopheresis and capillary zone electrophoresis to the determination of inorganic ions in food and feed samples. *J. Chromatogr. A*, 1999, **(834)**, 419-431.
- [12] Lodi, S., Rossin, G.: Determination of some organic acids in sugar factory products. *J. Chromatogr. A*, 1995, **(706)**, 375-383.
- [13] Magne, V., Mathlouthi, M., Robilland, B.: Determination of some organic acids and inorganic anions in beet sugar by ionic HPLC. *Food Chemistry*, 1998 **61 (4)**, 449-453.
- [14] McGinnis, R.A.: Beet –Sugar Technology. Beet Sugar Development Foundation, Fort Collins 1982.
- [15] Nickish, A., Mauch, W.: Das Redoxpotential als Kriterium zur Früherkennung von Infektionen in Extraktionsanlagen. *Zuckerind.*, 1981, **6 (106)**, 521-528.
- [16] Pollach, G., Hein, W., Beddie, D.: Application of hop  $\beta$ -acids and rosin acids in the sugar industry. *Zuckerind.*, 2002, **12 (127)**, 921-930.
- [17] Samaraweera, I. S. et al: Is L –lactic acid a true indicator of microbial infection ? *Int.Sugar J.*, 1995, **97 (1162)**, 566-570.
- [18] Smolík, J.: Detekce mikrobiální kontaminace v potravinářství a její možnosti při těžení šťávy II. *Listy cukrov. a řep.*, 1996, **9 (112)**, 267-271.
- [19] STN ISO 4833. Microbiology – General guidance for enumeration of micro-organisms – Colony count technique at 30 °C, 1997.

- [20] Trifiró, A., Saccani, G., Gherardi, S., Vicini, E., Spotti, E., Previdi, M.P., Ndagijimana, M., Cavalli, S., Reschiotto, C.: Use of ion chromatography for monitoring microbial spoilage in the fruit juice industry. *J. Chromatogr. A*, 1997, (770), 243-252.

## OCENA METOD BADANIA AKTYWNOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ PODCZAS EKSTRAKCJI SACHAROZY Z BURAKÓW CUKROWYCH

### Streszczenie

W pracy dokonano oceny wybranych metod służących do określania poziomu aktywności mikrobiologicznej podczas ekstrakcji sacharozy z buraków cukrowych. Jako kryterium przydatności badanych metod przyjęto łatwość ich stosowania, szybkość oraz dokładność. Stosowano pośrednie metody polegające na: enzymatycznym oznaczeniu kwasu L-mlekowego, izokataforetycznym badaniu stężenia kwasu mlekowego oraz na oznaczeniu azotanów(III). Wyniki uzyskane przy stosowaniu powyższych metod porównano z rezultatami bezpośredniego oznaczania poziomu bakterii mezo- i termofilnych. Jakkolwiek oznaczenie kwasu L-mlekowego metodą enzymatyczną w aparacie MICROZYM-L jest bardzo proste i szybkie, to jednak w niektórych przypadkach jego zawartość nie odzwierciedla rzeczywistej sytuacji mikrobiologicznej w ekstraktorze. Podobnie poziom azotanów(III) nie reprezentuje dobrze stanu sanitarnego podczas badanego procesu. Oznaczenie natomiast obu izomerów kwasu mlekowego (L+D) okazało się tu najlepszym wskaźnikiem zanieczyszczenia mikrobiologicznego.

**Słowa kluczowe:** zanieczyszczenia mikrobiologiczne, kwas mlekowy, azotany(III) 

JAROSŁAW KOWALIK, SYLWIA TARCZYŃSKA, STEFAN ZIAJKA

## PRÓBA ZASTOSOWANIA IMPEDYMETRII DO SZACOWANIA WZROSTU DROBNOUSTROJÓW

### KOMUNIKAT NAUKOWY

#### Streszczenie

Na rozwój metody szacowania ryzyka mikrobiologicznego (MRA) miały wpływ takie czynniki, jak: stosowanie systemu HACCP w zakładach branży spożywczej; preferowanie przez konsumentów świeżych, mniej przetworzonych produktów żywnościowych; określenie bezpiecznego okresu przechowywania różnych rodzajów produktów żywnościowych; zmiana epidemiologii zatruc i zakażeń pokarmowych ze względu na pojawienie się zagrożenia nowymi rodzajami drobnoustrojów oraz obniżona odporność u coraz większej liczby ludzi.

Do analizowania wzrostu drobnoustrojów w surowcach i produktach mleczarskich można zastosować, oprócz klasycznej metody płytkowej, również zjawisko impedancji. Zasada oznaczeń z wykorzystaniem impedymetrii polega na ocenie zmiany oporności elektrycznej pożywek hodowlanych, wywołanej wzrostem różnych mikroorganizmów lub specyficznej ich grupy.

Celem pracy było określenie przydatności systemu monitorującego Bactometer M 64 do analizy wzrostu i przeżywalności drobnoustrojów w modyfikowanych pożywkach mikrobiologicznych.

W badaniach wykorzystano modelowe produkty uzyskane przez modyfikację pożywki (bioMerieux), stosując dodatek kwasu mlekowego, soli kuchennej i azotanu(V) sodu. Doświadczenie wykonano z udziałem gramujemnych pałeczek *Escherichia coli* 22. Analizy mikrobiologiczne przeprowadzono metodą z zastosowaniem impedymetrycznego systemu monitorującego. Uzyskiwane wyniki (czas detekcji) mogą być przydatne w mikrobiologii prognostycznej umożliwiając określenie reakcji mikroorganizmów na zmieniające się warunki w żywności.

**Słowa kluczowe:** mikrobiologia prognostyczna, system impedymetryczny, szacowanie ryzyka mikrobiologicznego.

#### Wprowadzenie

Wzrastająca zapadalność na choroby spowodowana jest w wielu krajach występowaniem drobnoustrojów chorobotwórczych w żywności [1, 6]. W związku z tym

---

*Mgr inż. J. Kowalik, dr inż. S. Tarczyńska, prof. dr hab. S. Ziajka, Instytut Rozwoju Mleczarstwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Oczapowskiego 7, 10-957 Olsztyn -Kortowo*

Światowa Organizacja ds. Rolnictwa i Wyżywienia (FAO) i Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) podjęły problematykę bezpieczeństwa żywności na poziomie narodowym, jak i międzynarodowym. Ocena ryzyka związanego ze spożywaną żywnością dostarcza informacji, które pozwalają lepiej zrozumieć wzajemne oddziaływanie między drobnoustrojami, żywnością i chorobami ludzkimi. Dzięki niej istnieje możliwość stworzenia narzędzi pozwalających na identyfikację i zoptymalizowanie ryzyka mikrobiologicznego [1].

Oszacowanie ryzyka mikrobiologicznego (ang. Microbiological Risk Assessment –MRA) jest metodą umożliwiającą:

- oszacowanie ryzyka (identyfikacja zagrożeń, charakterystyka zagrożeń, oszacowanie narażenia i charakterystyka ryzyka),
- zarządzanie ryzykiem (wyważona polityka konsultacji między wszystkimi zainteresowanymi stronami, rozważającymi oszacowanie ryzyka i innymi czynnikami związanymi z ochroną zdrowia konsumentów oraz promowaniem uczciwych praktyk handlowych, mająca na celu opracowanie i wprowadzenie w życie strategii kontrolujących ryzyko),
- komunikację ryzyka (wymiana informacji i opinii przez proces analizy ryzyka dotyczący zagrożeń i ryzyka oraz czynników wpływających na ryzyko, pomiędzy odpowiedzialnymi za analizę i zarządzanie ryzykiem, konsumentami, przemysłem, społecznościami naukowymi oraz innymi zainteresowanymi stronami) [1, 5, 9, 10].

Analizy mikrobiologiczne prowadzone w celu kontroli wzrostu drobnoustrojów są bardzo długotrwałe, kosztowne i nie w pełni skuteczne. Metodyka badań kontrolnych pozwala ocenić zmiany sensoryczne, chemiczne i fizykochemiczne nie udzielając odpowiedzi do momentu, gdy w produkcji nie będzie wystarczająco dużej liczby drobnoustrojów niepożądanych, czyli gdy zepsucie produktu jest ewidentne. Rozwiązaniem może być prognozowanie mikrobiologiczne umożliwiające przewidywanie rozwoju, przeżywalności lub inaktywacji mikroorganizmów w produktach spożywczych [7].

Określenie reakcji mikroorganizmów na czynniki wpływające na wzrost drobnoustrojów w żywności umożliwia przewidywanie ich zachowania w żywności na podstawie wykonanych w przeszłości badań [2]. Mikrobiologia prognostyczna jest obiecującym i szybko rozwijającym się obszarem nauki o żywności, który nabrał znaczącej naukowej wagi w ostatnich latach. Łączy ona w sobie takie dziedziny nauki, jak: matematyka, technologia, chemia i mikrobiologia, które dają możliwość przewidywania zachowań mikroorganizmów w żywności w danych warunkach [10].

Do badań mikrobiologicznych produktów spożywczych wykorzystuje się oprócz klasycznych metod także metodę impedymetryczną. Zasada oznaczania polega na ocenie zmiany impedancji pożywek hodowlanych, wywołanej wzrostem wszystkich mikroorganizmów lub specyficznej ich grupy [3]. Żywe komórki w czasie wzrostu i namnażania powodują zmianę składu pożywki, przekształcając słabo zdysocjowane

lub niezdysocjowane związki wielkocząsteczkowe (polisacharydy, tłuszcze, białka) do dobrze dysocjujących związków o mniejszej masie molekularnej, takich jak: kwasy organiczne, kwasy tłuszczowe, aminokwasy. W miarę gromadzenia produktów metabolizmu następuje obniżenie oporu medium w czasie przepływu prądu elektrycznego pomiędzy elektrodami zanurzonymi w hodowli mikroorganizmów, co zostaje zarejestrowane przez instrument pomiarowy [8].

Celem pracy było określenie przydatności systemu monitorującego Bactometer M 64 do analizy wzrostu i przeżywalności drobnoustrojów w modyfikowanych pożywkach mikrobiologicznych.

### Material i metody badań

W badaniach zastosowano mikrobiologiczny system monitorujący Bactometer M64 firmy bioMerieux. Impedymetr ten składa się z jednej jednostki pomiarowej – inkubatora sprzężonego z komputerem. Jednostka pomiarowa składa się z dwóch oddzielnych komór o indywidualnym systemie grzewczo-chłodniczym i regulowanej temperaturze w zakresie od 8 do 55°C, z dokładnością do 0,1°C. W każdej komorze są gniazda na wprowadzenie dwóch lub czterech modułów hodowlanych. Zapisywane zmiany parametrów elektrycznych tworzą krzywą impedancji analogiczną do krzywej wzrostu bakterii. Czas liczony od rozpoczęcia hodowli drobnoustrojów do pojawienia się tej istotnej zmiany określa się pojęciem czasu detekcji – czasu wykrycia (DT – Detection Time) [4, 7].

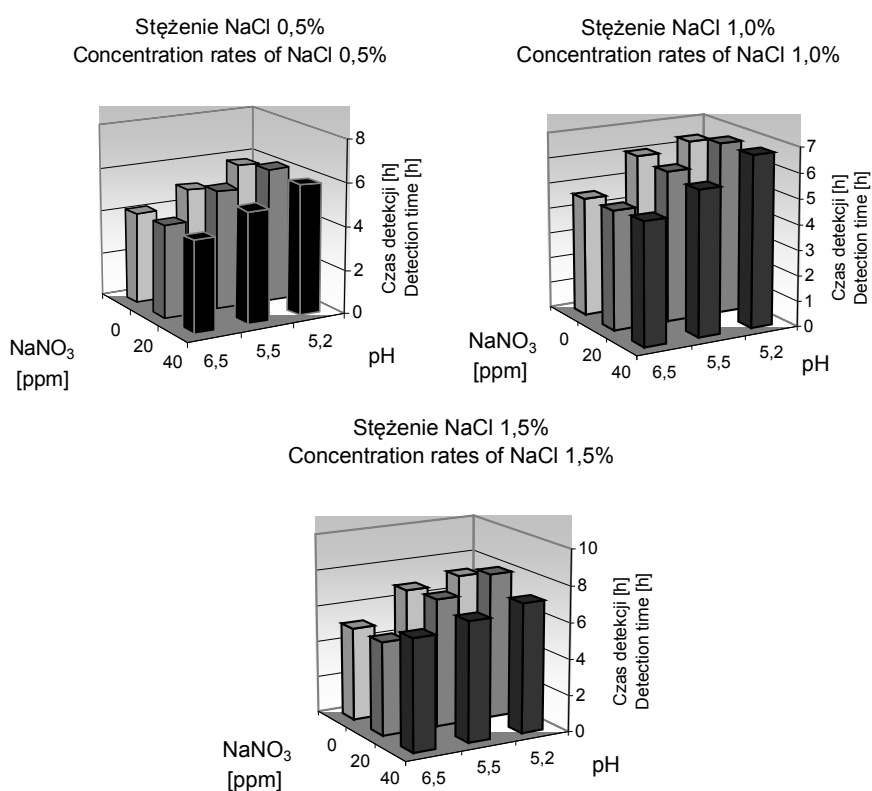
Badania przeprowadzono wykorzystując szczep *Escherichia coli* 22 (wyizolowany z materiału klinicznego z laboratorium bakteriologicznego Szpitala Wojewódzkiego w Olsztynie) pozyskany z kolekcji Katedry Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności, Wydziału Nauki o Żywności, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Bakterie przechowywano na skosie agarowym. Przed przystąpieniem do badań szczep pasażowano w bulionie odżywczym w temp. 37°C/18h (czas po którym liczba jednostek tworzących kolonie jest rzędu  $1,5-2 \times 10^9$  w  $\text{cm}^3$ ). Prowadzono kontrolę liczby bakterii (posiew na płytce Petriego z agarem odżywczym) w pożywce namnażającej do uzyskania zbliżonej liczby j.t.k. w  $1 \text{ cm}^3$  w każdym dniu. Analizowano zachowanie się bakterii *Escherichia coli* 22 w 27. zmodyfikowanych pożywkach wykonanych na bazie pożywki selektywnej (CM – firmy bioMerieux) (tab. 1). Pożywkę modyfikowano w celu zróżnicowania warunków wzrostu drobnoustrojów. Modyfikacji dokonano przez dodatek NaCl i  $\text{NaNO}_3$  w różnych stężeniach oraz kwasu mlekowego (do uzyskaniażądanego pH). Przygotowany „produkt” zaszczepiono bakteriami do poziomu  $1,5-2 \times 10^4$  j.t.k./ $\text{cm}^3$ . Do celek modułu baktometru wprowadzono po  $2 \text{ cm}^3$  zmodyfikowanych pożywek ze stałą liczbą bakterii (około  $3-4 \times 10^4$  j.t.k./ $\text{cm}^3$ ). Przygotowane pożywki przed zaszczepieniem poddawano sterylizacji w autoklawie w temp. 121°C/15 min.

Zaszczepione pożywki w celkach modułów umieszczonych w baktometrze inkubowano w temp. 37°C przez 48 h.

Doświadczenie wykonano pięciokrotnie. Każdą próbę przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

### Omówienie wyników

W poszczególnych niezależnie pracujących celkach modułów uzyskano różny czas detekcji (tab. 1). Zależności pomiędzy składnikami pożywki wpływającymi na czas wykrycia przedstawiono w postaci wykresów słupkowych (rys. 1–3) wyliczając średnie arytmetyczne DT z pięciu wykonanych doświadczeń. Świadczy to o różnym stopniu wzrostu drobnoustrojów w stworzonych warunkach. W próbkach o stężeniu 0,5% NaCl czas detekcji był odwrotnie proporcjonalny do wartości pH pożywki



Rys. 1. Wpływ pH i NaNO<sub>3</sub> na czas detekcji *Escherichia coli* przy trzech stężeniach NaCl: 0,5; 1,0; 1,5 [%].

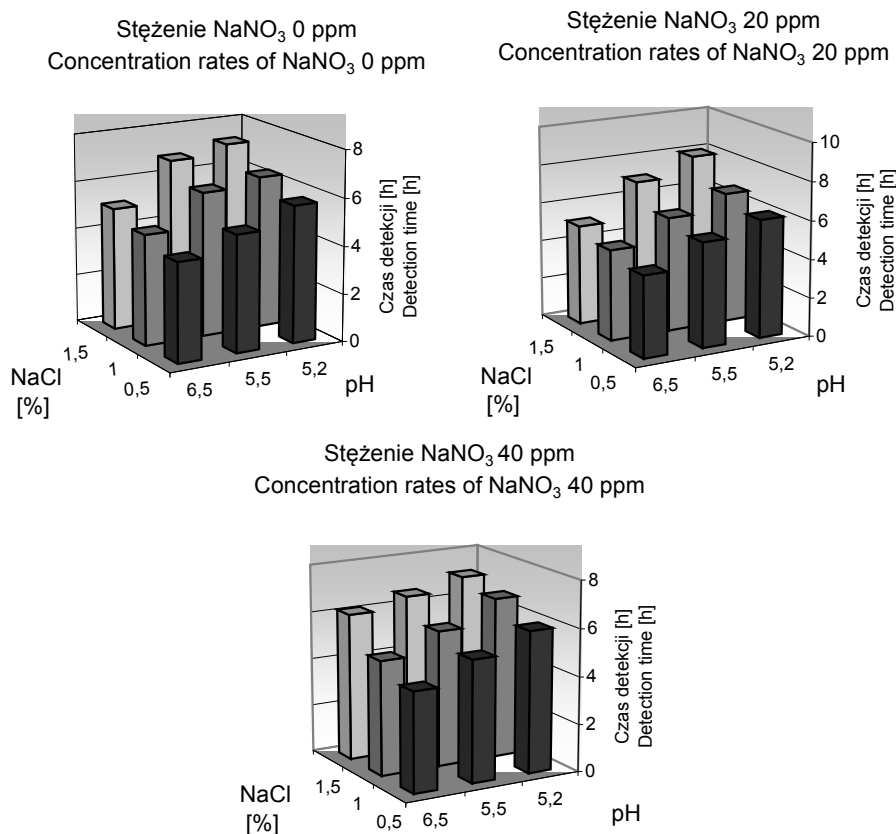
Fig. 1. The effect of pH and NaNO<sub>3</sub> on the detection time of *Escherichia coli* for the three concentration rates of NaCl: 0,5; 1,0; and 1,5 [%].

Tabela 1

Średni czas detekcji [h], uzyskany na podstawie wyliczonej średniej arytmetycznej z pięciu kolejnych powtórzeń doświadczenia.  
The Mean Detection Time [h] obtained on the basis of a computed arithmetic average of five successive repetitions of the experiment.

Parametry Parameters	Nr pożywki modyfikowanej / Number of the modified medium													
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	
pH	6,5	5,5	5,2	6,5	5,5	5,2	6,5	5,5	5,2	6,5	5,5	5,2	6,5	
NaCl [%]	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0	1,0	1,0	1,0	
NaNO <sub>3</sub> [ppm]	40	40	40	20	20	20	0	0	0	40	40	40	20	
Czas detekcji [h] Detection time [h]	4,21	5,14	5,97	4,24	5,44	6,13	4,17	4,92	5,76	4,82	5,71	6,75	4,69	
Parametry Parameters	Nr pożywki modyfikowanej / Number of the modified medium													
	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.
pH	5,5	5,2	6,5	5,5	5,2	6,5	5,5	5,2	6,5	5,5	5,2	6,5	5,5	5,2
NaCl [%]	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
NaNO <sub>3</sub> [ppm]	20	20	0	0	0	40	40	40	20	20	20	0	0	0
Czas detekcji [h] Detection time [h]	5,91	6,74	4,64	6,05	6,37	6,16	6,62	7,15	5,15	7,05	8,02	5,12	6,84	7,24

(rys. 1). Przy pH 6,5, stężenie  $\text{NaNO}_3$  (w przedziale 0–40 ppm) nie miało wpływu na wzrost bakterii. W tym przypadku czas detekcji kształtował się na poziomie około 4,2 h. Stosując pożywkę o pH 5,5 nastąpiło wydłużenie DT w zakresie 0,8–1,2 h. Najkrótszy czas detekcji (4,92 h) wystąpił w pożywce bez dodatku  $\text{NaNO}_3$ , najdłuższy (5,44 h) w próbce o stężeniu 20 ppm  $\text{NaNO}_3$ .



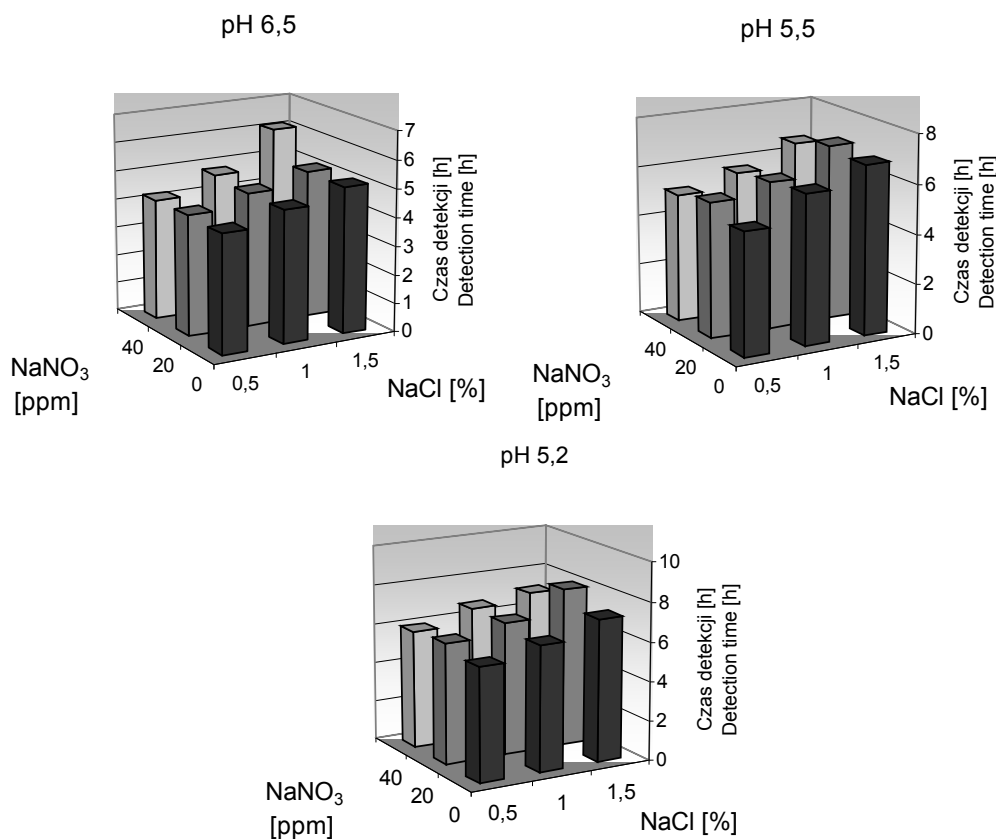
Rys. 2. Wpływ pH i NaCl na czas detekcji *Escherichia coli* przy trzech różnych stężeniach  $\text{NaNO}_3$ : 0; 20; 40 [ppm].

Fig. 2. The effect of pH and NaCl on the detection time of *Escherichia coli* for the three concentration rates of  $\text{NaNO}_3$ : 0; 20; and 40 [ppm].

Przy 1,5% stężeniu NaCl i pH 6,5 czas detekcji bakterii kształtował się w zakresie 5,12–5,15 h zarówno w próbce bez  $\text{NaNO}_3$ , jak i przy stężeniu 20 ppm, zaś przy stężeniu 40 ppm  $\text{NaNO}_3$  nastąpił wyraźny wzrost DT od 1 h do 6,16 h. Zmniejszając pH pożywki do 5,5 czas detekcji wzrastał do 6,62 h przy stężeniu 40 ppm, 6,84 h w próbce bez  $\text{NaNO}_3$  i 7,05 h przy stężeniu 20 ppm. Dalszy wzrost kwasowości powodował



wzrost DT do 8,02 h w przypadku stężenia 20 ppm oraz do 7,15 h przy 40 ppm i 7,24 h w próbce bez dodatku  $\text{NaNO}_3$ .



Rys. 3. Wpływ NaCl i  $\text{NaNO}_3$  na czas detekcji *Escherichia coli* przy trzech wartościach pH: 6,5; 5,5; 5,2.

Fig. 3. The effect of NaCl and  $\text{NaNO}_3$  on the detection time of *Escherichia coli* for the three values of pH: 6,5; 5,5; 5,2.

### Wnioski

1. System impedymetryczny Bactometer M64 z powodzeniem może być używany do określania czasu detekcji drobnoustrojów w produktach spożywczych.
2. Urządzenie daje możliwość obserwacji zachowania drobnoustrojów w różnych warunkach środowiska.
3. Zastosowanie systemu impedymetrycznego może stać się narzędziem technik modelowania mikrobiologicznego, pozwalającym szybko określić reakcje mikroorganizmów na zmieniające się warunki w żywności.

### Literatura

- [1] Brown M., M. Stringen.: Microbiological risk assessment in food processing: Woodhead Publishing Limited, Cambridge 2002.
- [2] Buchanan R.L.: Predictive food microbiology. Trends Food Sci. Technol., 1993, **4**, 1-6.
- [3] Czajkowska D., Witkowska-Gwiazdowska A.: Metoda impedymetryczna w wykrywaniu drożdży bakterii fermentacji mlekowej w sokach z owoców cytrusowych. Przem. Spoż., 1998, **12**, 14-18.
- [4] Czajkowska D., Witkowska-Gwiazdowska A.: Postęp w analizach mikrobiologicznych żywności II. Zastosowanie metod instrumentalnych. Przem. Spoż., 1997, **4**, 39-42.
- [5] General Risk Analysis [http://www.foodriskclearinghouse.umd.edu/risk\\_analysis.cfm](http://www.foodriskclearinghouse.umd.edu/risk_analysis.cfm) (styczeń, 2004)
- [6] Kłossowska A., Malinowski E.: Drobnoustroje patogenne dla człowieka w mleku zbiorczym. Med. Wet. 2001, **57**(1), 28-29.
- [7] Kołożyn-Krajewska D., Jałosińska-Pieńkowska M.: Prognozowanie mikrobiologiczne jako narzędzie kształtowania bezpieczeństwa żywności. Przem. Spoż., 2003, **2**; 32-34, 48.
- [8] Kunicka A.: Wykorzystanie metody impedymetrycznej w analizie mikrobiologicznej: Laboratoria Aparatura Badania, 2000, **5** (5), 18-21.
- [9] Tyszkiewicz S.: Zasady analizy ryzyka i zasady ostrożności w prawie żywnościowym. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2000, **1** (22), 5-17.
- [10] Zwietering M., de Koos J., Hasenack B., de Wit J., van't Riet K.: Modelling of the bacterial growth curve. Appl. Envir. Biol., 1991, **57**, 1094-1101.

### AN ATTEMPT AT ASSESSING MICROBIAL GROWTH USING IMPEDIMETRY

#### Summary

The development of Microbiological Risk Assessment (MRA) was conditioned by the following factors: application of HACCP system in food industrial plants; fact that consumers prefer fresh and less processed food products, prerequisite to determine the duration of safe storage of various types of food products; changes in the epidemiology of food poisoning and food infections owing to risks resulting from the occurrence of new microorganisms; and lower immunity of more and more people.

Besides the classic plate method of analysing the growth of microorganisms in raw materials and dairy products, a method using the phenomenon of impedance can be applied. Such a determination method involving impedimetry includes the assessment of changes in electrical resistance of a bacterial culture medium, which is generated by the growth of various strains of bacteria or by their specific group.

The objective of this study was to determine the usefulness of a Bactometer M 64 monitoring system for analysing the growth and survival potential of microorganisms in some modified microbiological mediums. In the research, model products were applied. They were manufactured by modifying a 'bioMerieux' medium with lactic acid, sodium chloride, and sodium V nitrate. The experiment was carried out on the *Escherichia coli* 22. Microbiological analyses were conducted using an impedimetric monitoring system. The results obtained (time of detection) could appear useful for predictive microbiology as they could be successfully applied to determine reactions of microorganisms towards changing conditions in food.

**Key words:** predictive microbiology, impedimetric method, microbiological risk assessment. ☒

KATARZYNA MARCINIAK-LUKASIAK, KRZYSZTOF KRYGIER

**ANALIZA ZMIAN OKSYDACYJNYCH I SENSORYCZNYCH  
MIESZANIN OLEJU RZEPAKOWEGO Z KONCENTRATEM  
OLEJU RYBIEGO LUB OLEJEM LNIANYM**

Streszczenie

Zwiększenie spożycia korzystnych zdrowotnie polienowych kwasów tłuszczowych z grupy omega-3 można osiągnąć poprzez dodawanie ich do żywności. Produktem, który poprzez swoje powinowactwo chemiczne w naturalny sposób nadaje się do wzbogacania w te składniki jest olej rzepakowy. Jako czynnik wzbogacający można zastosować koncentrat oleju rybiego lub olej lniany, będące bogatym źródłem kwasów tłuszczowych omega-3.

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu dodatku do oleju rzepakowego kwasów tłuszczowych omega-3, zawartych w koncentracie oleju rybiego i oleju lnianym, na zmiany oksydacyjne i sensoryczne powstałych mieszanin. Próby wzbogaconego oleju rzepakowego były także poddane 12-tygodniowemu testowi przechowalniczemu, podczas którego oznaczano wartość liczby nadtlenkowej (LOO) i liczby anizydynowej (LA).

Stwierdzono, że wartość LOO badanych mieszanin zwiększała się podczas pierwszych kilku tygodni przechowywania, po czym w miarę upływu kolejnych tygodni testu zauważalny był łagodny, ale sukcesywny spadek liczby nadtlenkowej. Spadek LOO zwiększał się tym bardziej, im większy był udział kwasów tłuszczowych omega-3 w badanych mieszaninach. Ogólna tendencja została zachowana zarówno w przypadku koncentratu oleju rybiego, jak i oleju lnianego, ale wartości LOO były wyższe w odniesieniu do mieszanin oleju rzepakowego z koncentratem oleju rybiego. W żadnym z analizowanych przypadków LOO nie przekroczyła wartości 5 milirównoważników tlenu/kg oleju, czyli maksymalnej wartości, jaką mogą charakteryzować się rafinowane oleje rzepakowe, aby mogły być przeznaczone do spożycia.

Wartość LA badanych mieszanin z koncentratem oleju rybiego zwiększała się prawie liniowo ze wzrostem dodatku kwasów tłuszczowych omega-3. W przypadku mieszanin oleju rzepakowego z olejem lnianym wartość LA pozostawała na stałym poziomie lub ulegała nieznacznemu zmniejszeniu wraz ze wzrostem dodatku kwasów tłuszczowych omega-3. Podczas testu przechowalniczego następował wzrost wartości LA, zarówno w mieszaninach z koncentratem oleju rybiego, jak i z olejem lnianym, do osiągnięcia maksimum po 4 tygodniach składowania, po czym wartość ta ulegała wolnemu zmniejszaniu wraz z upływem kolejnych tygodni przechowywania.

---

*Dr inż. K. Marciniak-Lukasiak, prof. dr hab. Krzysztof Krygier, Katedra Technologii Żywności, Zakład Technologii Tłuszczów i Koncentratów Spożywczych, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa, tel. +48 (...) 22 5937525; fax. +48 (...) 22 5937527, lukasiak@alpha.sggw.waw.pl*

Olej rzepakowy wzbogacony w kwasy tłuszczowe omega-3 pochodzące z koncentratu oleju rybiego (w ilości 0,4%) lub z oleju lnianego (w ilości 0,5%) może stać się nowym produktem na rynku żywności funkcjonalnej.

**Słowa kluczowe:** kwasy tłuszczowe omega-3, olej rzepakowy, koncentrat oleju rybiego, olej lniany, stabilność oksydacyjna

## Wprowadzenie

Wpływ kwasów tłuszczowych omega-3 na rozwój chorób cywilizacyjnych odkryto już w latach 70. XX w. Bang i Dyerberg [9], prowadząc badania wśród Eskimosów, odnotowali niewielką zapadalność tej populacji na choroby układu krążenia, łuszczycę, cukrzycę i niektóre postaci nowotworów. Efekty te zostały przypisane diecie Eskimosów, która składa się głównie z ryb i ssaków morskich, a więc jest bogata w kwas eikozapentaenowy (EPA) i dokozaheksaenowy (DHA) [3, 7, 13, 16, 23, 25].

W innych badaniach wykazano, że wszystkie społeczności spożywające dietę bogatą w polienowe kwasy tłuszczowe omega-3 cechują się mniejszą częstością występowania schorzeń układu krążenia, niektórych nowotworów (zwłaszcza gruczołu piersiowego i okrężnicy), chorób alergicznych i z autoagresji (np. astmy, łuszczycy, atopii) [1, 4, 13, 17, 22, 24, 25, 26, 27].

EPA i DHA mają istotny wpływ na metabolizm. EPA wpływa ponadto na układ sercowo-naczyniowy poprzez syntezę eikozanoidów [13]. DHA jest niezbędnym składnikiem błon komórkowych w centralnym układzie nerwowym, zwłaszcza kory mózgu i siatkówki oka. Stwierdzono, że jego deficyt może przyczynić się do obniżenia ostrości widzenia, zdolności uczenia oraz rozwoju depresji [14, 6, 15]. Istotne jest, by dieta kobiet w ciąży oraz karmiących zawierała odpowiednie ilości DHA [7, 15, 18]. Zbyt niski poziom DHA w diecie kobiet wiąże się ze skróceniem czasu trwania ciąży i niską masą urodzeniową dzieci. Źródłem EPA i DHA dla małych dzieci powinno być mleko matki [8, 12, 13].

Niekorzystną cechą kwasów tłuszczowych omega-3, a szczególnie EPA i DHA zawartych w oleju rybim, jest ich znaczna podatność na zmiany oksydacyjne oraz związany z tym nieprzyjemny smak i zapach. Jednak dokładny proces rafinacji oleju rybiego, stabilizacja dodatkiem przeciwutleniaczy, a także niewielki poziom dodatku do żywności i obecność substancji smakowo-zapachowych, które maskują rybi posmak, pozwala otrzymać wzbogacone produkty spożywcze zadowolające konsumenta pod względem trwałości i cech sensorycznych [11, 14].

Istnieją dwie metody wzbogacania żywności w EPA i DHA. Pierwsza polega na dodawaniu olejów rybich (lub innych produktów zawierających kwasy tłuszczowe omega-3) do produktów spożywczych w trakcie procesu produkcyjnego, przez co uzyskuje się produkt finalny, który można zaliczyć do tzw. żywności funkcjonalnej. W

drugiej metodzie zwierzęta hodowlane żywi się paszą bogatą w kwasy tłuszczowe omega-3, co powoduje ich wbudowywanie w tkanki zwierzęce, będące późniejszym surowcem spożywczym. Produkuje się też jaja i mięso drobiowe wzbogacone w EPA i DHA, żywiąc drób paszą z dodatkiem rzepaku (zawierającego kwas  $\alpha$ -linolenowy) oraz suszonych mikroalg (bogate źródło EPA i DHA) [5, 6, 10].

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu dodatku do oleju rzepakowego kwasów tłuszczowych omega-3, zawartych w koncentracie oleju rybiego lub oleju lnianym, na zmiany oksydacyjne i sensoryczne powstałych mieszanin.

### Material i metody badań

Material do badań stanowiły:

- rafinowany olej rzepakowy pochodzący z Zakładów Przemysłu Tłuszczowego w Warszawie;
- koncentrat oleju rybiego o 30% zawartości kwasów tłuszczowych omega-3 30% Ropufa '30' n- 3 Oil firmy Hoffmann La Roche;
- olej lniany zawierający 50,9% kwasów tłuszczowych omega-3 pochodzący z Zakładu Badań i Przetwórstwa Lnu Instytutu Włókien Naturalnych w Poznaniu.

Olej rzepakowy mieszano z koncentratem oleju rybiego lub olejem lnianym w takich proporcjach, aby powstałe mieszaniny zawierały następujące ilości kwasów tłuszczowych omega-3, [%]:

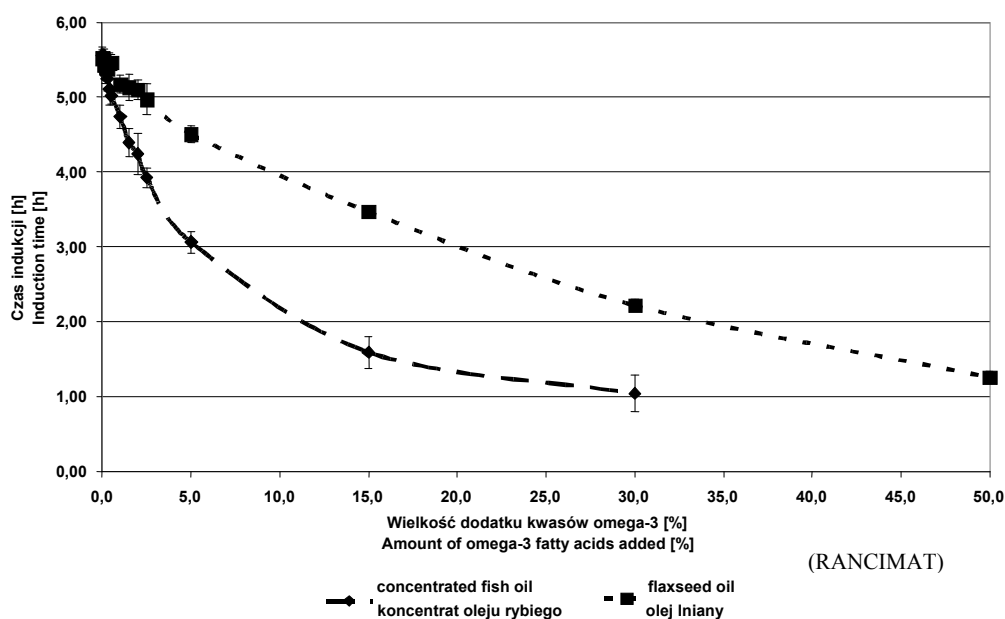
- koncentrat oleju rybiego Ropufa: 0 – czysty olej rzepakowy, 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 5,0; 15,0; 30,0 – czysty koncentrat oleju rybiego;
- olej lniany: 0 – czysty olej rzepakowy, 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 5,0; 15,0; 30,0; 50,9 – czysty olej lniany.

Uzyskano w ten sposób 13 prób oleju rzepakowego z różnym dodatkiem koncentratu oleju rybiego oraz 14 prób olej rzepakowego z dodatkiem oleju lnianego, które przechowywano w przezroczystych szklanych butelkach przez okres 12 tyg. w temp.  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , przy dostępie światła. Oznaczenia fizykochemiczne i ocenę sensoryczną przeprowadzano w olejach świeżych, a także po 2, 4, 6, 9 i 12 tyg. przechowywania. Wykonywano następujące oznaczenia: liczba nadtlenkowa [19], liczba anizydynowa [20], test przechowalniczy Rancimat [21] i analiza sensoryczna [2] – metodą opisową przez przeszkolony zespół oceniający składający się z pięciu osób. Uzyskane wyniki poddano wieloczynnikowej analizie wariancji przy użyciu programu Statgraphics 5.0.

Mieszaniny oleju rzepakowego z koncentratem oleju rybiego były analizowane w 4 próbach (po 4 powtórzenia), zaś oleju rzepakowego z olejem lnianym w trzech próbach (po 4 powtórzenia).

## Wyniki i ich omówienie

Na podstawie przeprowadzonych badań (rys. 1) stwierdzono, że najbardziej stabilne były próby wzbogaconego oleju rzepakowego, które zawierały najmniejsze ilości kwasów tłuszczowych omega-3, (do 0,3%), ponieważ czas indukcji tych olejów okazał się najdłuższy. Istotną zmianę w czasie trwania indukcji odnotowano w oleju, w którym dodatek kwasów tłuszczowych omega-3 wynosił 0,4%. Nastąpiło wtedy wyraźne skrócenie czasu trwania procesu utleniania.



Rys. 1. Zależność czasu indukcji mieszaniny oleju rzepakowego z koncentratem oleju rybiego lub lnianym od wielkości dodatku kwasów tłuszczowych omega-3.

Fig. 1. The relation between the induction time of a mixture of rapeseed and concentrated fish oils, or of rapeseed and flaxseed oils, and the amount of omega-3 fatty acids added.

Im większy był dodatek kwasów tłuszczowych omega-3, tym czas indukcji stawał się krótszy. W przypadku dodatku kwasów tłuszczowych omega-3 zawartych w oleju lnianym najbardziej stabilne były próby oleju rzepakowego, które zawierały najmniejszą ilość dodatku oleju lnianego (do 0,5% dodatku kwasów tłuszczowych omega-3), gdyż czas indukcji tych olejów okazał się najdłuższy. Dość istotną zmianę zaobserwowano we wszystkich partiach, w których dodatek kwasów tłuszczowych omega-3 wynosił 1%. Nastąpiło wtedy wyraźne skrócenie czasu trwania procesu utleniania. Począwszy od dodatku oleju lnianego wnoszącego 1% kwasów omega-3, czas indukcji

systematycznie się skracał. Zgodnie z przewidywaniami, najmniejszą stabilność wykazał czysty olej lniany.

Analizując zmiany wartości liczby nadtlenkowej (tab. 1) oleju rzepakowego wzbogaconego koncentratem oleju rybiego stwierdzono, że do 4. tyg. zachodziły typowe mechanizmy oksydacyjne, czyli następował szybki przyrost nadtlenków. W tygodniach od 4. do 6. LOO ulegała niewielkiemu zmniejszeniu, aby znów wzrosnąć po 6 tyg. i zmaleć w 12. tyg. przechowywania. Oznacza to, że w miarę upływu czasu trwania testu poziom zawartości nadtlenków rósł, choć z niejednakową szybkością w poszczególnych mieszalinach olejów.

Tabela 1

Wartości liczby nadtlenkowej mieszanin oleju rzepakowego z koncentratem oleju rybiego podczas 12-tygodniowego testu przechowalniczego.

Peroxide value (LOO) of rapeseed and concentrated fish oils mixtures during a 12 week test of storage-ability.

Dodatek kwasów tłuszczowych omega-3 [%] Omega-3 fatty acids added [%]	Liczba nadtlenkowa / Peroxide value					
	Okres przechowywania [tydzień] / Storing time [week]					
	0	2	4	6	9	12
0,0	1,01 <sup>a</sup>	2,80 <sup>mn</sup>	3,44 <sup>stu</sup>	3,25 <sup>q</sup>	3,83 <sup>67</sup>	3,52 <sup>tuw</sup>
0,1	1,31 <sup>c</sup>	2,72 <sup>lm</sup>	3,60 <sup>vwxyzl</sup>	3,62 <sup>vwxyz12</sup>	4,01 <sup>89</sup>	3,75 <sup>3456</sup>
0,2	1,56 <sup>de</sup>	2,56 <sup>jk</sup>	3,42 <sup>st</sup>	3,35 <sup>qrs</sup>	3,91 <sup>78</sup>	3,54 <sup>uvw</sup>
0,3	2,07 <sup>g</sup>	2,73 <sup>lm</sup>	3,57 <sup>vw</sup>	3,41 <sup>st</sup>	4,17 <sup>a'b'c'</sup>	3,59 <sup>vwxyz</sup>
0,4	1,79 <sup>f</sup>	2,92 <sup>o</sup>	3,67 <sup>xyz12345qr</sup>	3,68 <sup>yz12345</sup>	4,02 <sup>9</sup>	3,64 <sup>wxyz123</sup>
0,5	1,80 <sup>f</sup>	2,90 <sup>no</sup>	3,90 <sup>78</sup>	3,60 <sup>vwxyz</sup>	4,10 <sup>9a'b'</sup>	3,77 <sup>56</sup>
1,0	1,54 <sup>de</sup>	3,34 <sup>qrs</sup>	4,24 <sup>c'd'</sup>	3,64 <sup>wxyz123</sup>	4,52 <sup>e'</sup>	3,58 <sup>vwxy</sup>
1,5	1,31 <sup>c</sup>	1,96 <sup>h</sup>	3,66 <sup>xyz1234</sup>	3,44 <sup>stu</sup>	3,73 <sup>23456</sup>	3,44 <sup>stu</sup>
2,0	1,61 <sup>e</sup>	2,33 <sup>hi</sup>	4,01 <sup>89</sup>	3,71 <sup>12345</sup>	4,21 <sup>b'c'd'</sup>	3,27 <sup>qr</sup>
2,5	1,78 <sup>f</sup>	2,66 <sup>kl</sup>	3,70 <sup>z12345</sup>	3,40 <sup>s</sup>	4,27 <sup>d'</sup>	3,25 <sup>q</sup>
5,0	2,07 <sup>g</sup>	3,08 <sup>p</sup>	4,09 <sup>9a'</sup>	3,41 <sup>st</sup>	3,76 <sup>456</sup>	2,82 <sup>mno</sup>
15,0	1,49 <sup>d</sup>	3,55 <sup>uvw</sup>	3,63 <sup>vwxyz12</sup>	3,66 <sup>xyz1234</sup>	3,64 <sup>wxyz123</sup>	2,31 <sup>hi</sup>
30,0	1,17 <sup>b</sup>	3,37 <sup>rs</sup>	3,60 <sup>vwxyzl</sup>	3,75 <sup>3456</sup>	2,53 <sup>j</sup>	2,38 <sup>i</sup>

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Te same indeksy oznaczają, że wartości średnie nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha = 0,05$ ;  
The same indexes mean that the means do not differ statistically significantly at a level of  $\alpha = 0,05$ .

Mały dodatek kwasów tłuszczowych omega-3 (0,1 i 0,2%) do świeżego oleju rzepakowego powodował niewielkie zmiany liczby nadtlenkowej. Istotny wzrost zaobserwowano dopiero przy 0,3% dodatku tych kwasów.

Znaczny spadek liczby nadtlenkowej nastąpił przy dodatku do oleju rzepakowego kwasów tłuszczowych omega-3 w wysokości 1,5%. Natomiast kolejny wzrost LOO odnotowano przy 5% dodatku tych kwasów. W miarę wzrostu zawartości kwasów tłuszczowych omega-3 do 15 i 30%, liczba nadtlenkowa malała. W 12. tyg. prowadzenia badań liczba nadtlenkowa nie ulegała żadnym zmianom, dopiero powyżej 2% zawartości kwasów tłuszczowych omega-3 wartość LOO stopniowo uległa zmniejszeniu.

Wyniki oznaczania liczby anizydynowej mieszanin oleju rzepakowego z koncentratem oleju rybiego (tab. 2) wskazują, że mniejsze dawki kwasów tłuszczowych omega-3 (od 0,1 do 5%) nie zmieniały jej wartości. Oznacza to, że na tym poziomie dodatku stabilność oleju rzepakowego nie ulegała większym zmianom i olej ten może być wzbogacany kwasami tłuszczowymi omega-3 w celu poprawy jego właściwości zdrowotnych.

Istotne zmiany wartości liczby anizydynowej zaobserwowano przy 15 i 30% dodatku kwasów tłuszczowych omega-3. Przy tych wielkościach dodatku koncentratu oleju rybiego następował gwałtowny wzrost zawartości wtórnych produktów autooksydacji.

W miarę upływu czasu trwania testu zawartość wtórnych produktów autooksydacji w analizowanych olejach nieznacznie wzrastała. Większe wahania zaobserwowano przy 5, 15 i 30% zawartości kwasów tłuszczowych omega-3, ze względu na wyższą początkową wartość liczby anizydynowej. Przechowywanie mieszanin oleju rzepakowego z koncentratem oleju rybiego nie miało istotnego wpływu na pogorszenie jakości oleju, a wartości liczby anizydynowej w 12. tyg. w nieznacznym stopniu różniły się od wartości w świeżych olejach (przy danym dodatku koncentratu oleju rybiego).

Dodatek oleju lnianego miał istotny wpływ na zmianę liczby nadtlenkowej oleju rzepakowego (tab. 3). Charakterystyczna była niemal niezmienna wartość liczby nadtlenkowej w czystym oleju rzepakowym, we wszystkich partiach analizowanych olejów na początku testu przechowalniczego.

Różnice liczby nadtlenkowej pomiędzy poszczególnymi dodatkami oleju lnianego odnotowano w 2. tyg., zwłaszcza przy 0,2 i 0,3% dodatku kwasów tłuszczowych omega-3. Największy przyrost nadtlenków zaobserwowano po 9. tyg. prowadzenia badań: wówczas wartości LOO były największe w przypadku 0,4% dodatku kwasów tłuszczowych omega-3. W ostatnim tygodniu, podobnie jak w pierwszym, liczba nadtlenkowa utrzymywała się na stałym poziomie. We wszystkich badanych partiach (także w czystym oleju lnianym) najgwałtowniejszy przyrost nadtlenków nastąpił w 4. tyg. badania, a największą wartość osiągnął w 6. tyg.



Tabela 2

Wartości liczby anizydynowej mieszanin oleju rzepakowego z koncentratem oleju rybiego podczas 12-tygodniowego testu przechowalniczego. Anisidine values of rapeseed and concentrated fish oil mixtures during a 12 week test of storage-ability.

Dodatek kwasów tłuszczowych omega-3 [%] Omega-3 fatty acids added [%]	Liczba anizydynowa / Anisidine value					
	Okres przechowywania [tydzień] / Storing time [week]					
	0	2	4	6	9	12
0,0	2,50 <sup>ab</sup>	2,61 <sup>abcde</sup>	3,03 <sup>mnoqrst</sup>	2,62 <sup>abcdef</sup>	2,68 <sup>bcdefghi</sup>	2,97 <sup>klmnopqr</sup>
0,1	2,77 <sup>cdefghijklm</sup>	2,82 <sup>defghijklmno</sup>	2,52 <sup>abc</sup>	2,71 <sup>bcdefghijk</sup>	2,87 <sup>efghijklmnopq</sup>	2,97 <sup>klmnopqr</sup>
0,2	2,81 <sup>defghijklmno</sup>	2,37 <sup>a</sup>	2,79 <sup>defghijklmn</sup>	2,90 <sup>hijklmnopq</sup>	2,77 <sup>cdefghijklm</sup>	2,93 <sup>ijklmnopq</sup>
0,3	2,58 <sup>abcd</sup>	2,61 <sup>abcde</sup>	2,65 <sup>bcdefgh</sup>	2,72 <sup>bcdefghijk</sup>	2,88 <sup>ghijklmnopq</sup>	2,85 <sup>efghijklmnopq</sup>
0,4	2,88 <sup>ghijklmnopq</sup>	2,70 <sup>bcdefghij</sup>	2,69 <sup>bcdefghij</sup>	2,76 <sup>cdefghijkl</sup>	2,67 <sup>bcdefghi</sup>	3,07 <sup>opqrst</sup>
0,5	2,63 <sup>abcde</sup>	2,52 <sup>abc</sup>	3,07 <sup>opqrst</sup>	2,94 <sup>ijklmnopq</sup>	3,08 <sup>pqrst</sup>	2,81 <sup>defghijklmno</sup>
1,0	2,76 <sup>bcdefghijkl</sup>	3,02 <sup>lmnopqrst</sup>	2,90 <sup>hijklmnopq</sup>	2,87 <sup>efghijklmnopq</sup>	3,02 <sup>lmnopqrst</sup>	3,28 <sup>tuvw</sup>
1,5	3,12 <sup>qstuv</sup>	3,09 <sup>pqrst</sup>	3,59 <sup>xy</sup>	3,05 <sup>nopqrst</sup>	2,94 <sup>ijklmnopq</sup>	3,11 <sup>qrst</sup>
2,0	2,87 <sup>efghijklmnopq</sup>	2,84 <sup>defghijklmnop</sup>	2,99 <sup>lmnopqrst</sup>	2,94 <sup>ijklmnopq</sup>	3,09 <sup>pqrst</sup>	3,64 <sup>xy</sup>
2,5	3,21 <sup>rstuv</sup>	3,37 <sup>vwxy</sup>	4,75 <sup>2</sup>	3,06 <sup>opqrst</sup>	2,94 <sup>ijklmnopq</sup>	3,49 <sup>wxy</sup>
5,0	3,25 <sup>stuvw</sup>	3,47 <sup>vwxy</sup>	4,82 <sup>2</sup>	3,70 <sup>yz</sup>	3,93 <sup>z1</sup>	4,06 <sup>1</sup>
15,0	5,46 <sup>4</sup>	5,10 <sup>3</sup>	6,13 <sup>6</sup>	5,79 <sup>5</sup>	6,18 <sup>6</sup>	7,55 <sup>7</sup>
30,0	8,03 <sup>8</sup>	9,03 <sup>a'</sup>	8,82 <sup>a'</sup>	8,39 <sup>9</sup>	8,94 <sup>a'</sup>	9,60 <sup>b'</sup>

Objaśnienia jak w tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1

Tabela 3

Wartości liczby nadtlenkowej mieszanin oleju rzepakowego z olejem lnianym podczas 12-tygodniowego testu przechowalniczego.

Peroxide values of rapeseed and flaxseed oils mixtures during a 12 week test of storage-ability.

Dodatek kwasów tłuszczowych omega-3 [%] Omega-3 fatty acid added [%]	Liczba nadtlenkowa / Peroxide value					
	Okres przechowywania [tydzień] / Storing time [week]					
	0	2	4	6	9	12
0,0	0,93 <sup>a</sup>	1,59 <sup>bc</sup>	4,19 <sup>xyz12</sup>	3,69 <sup>opqrst</sup>	4,37 <sup>z12</sup>	3,16 <sup>hi</sup>
0,1	1,02 <sup>a</sup>	1,90 <sup>cd</sup>	3,53 <sup>ijklmnop</sup>	4,01 <sup>uvwxy</sup>	4,31 <sup>yz12</sup>	3,16 <sup>hi</sup>
0,2	0,98 <sup>a</sup>	2,50 <sup>fg</sup>	3,61 <sup>mnpqrs</sup>	4,11 <sup>vxyz1</sup>	4,40 <sup>12</sup>	3,21 <sup>hij</sup>
0,3	1,00 <sup>a</sup>	2,63 <sup>g</sup>	3,63 <sup>nopqrs</sup>	3,70 <sup>opqrstu</sup>	4,96 <sup>45</sup>	3,15 <sup>h</sup>
0,4	1,00 <sup>a</sup>	2,39 <sup>efg</sup>	3,73 <sup>opqrstu</sup>	3,78 <sup>opqrstuvw</sup>	5,34 <sup>6</sup>	3,52 <sup>ijklmnop</sup>
0,5	0,96 <sup>a</sup>	2,31 <sup>ef</sup>	3,65 <sup>nopqrs</sup>	3,87 <sup>rstuvw</sup>	4,45 <sup>23</sup>	3,09 <sup>h</sup>
1,0	1,03 <sup>a</sup>	2,34 <sup>efg</sup>	3,77 <sup>opqrstuvw</sup>	3,91 <sup>stuvw</sup>	4,83 <sup>45</sup>	3,15 <sup>hi</sup>
1,5	1,00 <sup>a</sup>	2,39 <sup>efg</sup>	3,55 <sup>klmnopq</sup>	3,57 <sup>lmnopqr</sup>	4,36 <sup>z12</sup>	3,31 <sup>hijklm</sup>
2,0	1,02 <sup>a</sup>	2,36 <sup>efg</sup>	3,34 <sup>hijklmn</sup>	3,47 <sup>ijklmno</sup>	4,74 <sup>34</sup>	3,18 <sup>hi</sup>
2,5	1,03 <sup>a</sup>	2,28 <sup>ef</sup>	3,60 <sup>mnpqrs</sup>	3,22 <sup>hij</sup>	5,14 <sup>56</sup>	3,14 <sup>h</sup>
5,0	1,04 <sup>a</sup>	2,17 <sup>de</sup>	4,08 <sup>wxyz</sup>	3,25 <sup>hijk</sup>	3,85 <sup>qrstuvw</sup>	3,12 <sup>h</sup>
15,0	1,00 <sup>a</sup>	2,28 <sup>ef</sup>	3,82 <sup>pqrstuvw</sup>	3,68 <sup>opqrs</sup>	4,08 <sup>wxyz</sup>	3,26 <sup>hijkl</sup>
30,0	1,04 <sup>a</sup>	1,95 <sup>d</sup>	4,00 <sup>tuvwxy</sup>	3,34 <sup>hijklmn</sup>	4,40 <sup>12</sup>	3,35 <sup>hijklmn</sup>
50,0	1,08 <sup>a</sup>	1,58 <sup>b</sup>	3,54 <sup>klmnopq</sup>	4,41 <sup>12</sup>	3,71 <sup>opqrstu</sup>	3,06 <sup>h</sup>

Objaśnienia jak w tab. 1 / Explanatory notes as in Tab. 1

Największy przyrost wtórnych produktów autooksydacji oleju rzepakowego z koncentratem oleju rybiego zaobserwowano w 2. tyg. przy 0,1% dodatku kwasów tłuszczowych omega-3. Jednak największe wartości liczby anizydynowej we wszystkich partiach odnotowano po 9. tyg. prowadzenia doświadczenia. Zaobserwowano, że w miarę upływu czasu trwania testu zawartość wtórnych produktów oksydacji w analizowanych olejach nieznacznie wzrastała. Zmiany te następowały z podobną szybkością we wszystkich analizowanych mieszaninach.

Przechowywanie mieszanin oleju rzepakowego z olejem lnianym (tab. 4) nie miało istotnego wpływu na pogorszenie ich jakości, a wartości liczby anizydynowej w 12. tyg. przechowywania tylko w niewielkim stopniu różniły się od wartości w świeżych olejach (przy danym dodatku oleju lnianego).

Wartości liczby anizydynowej mieszanin oleju rzepakowego z olejem lnianym podczas 12-tygodniowego testu przechowywalniczego.  
Anisidine value of rapeseed and flaxseed oils mixtures during a 12 week test of storage-ability.

Dodatek kwasów omega-3 [%] Omega-3 acids added [%]	Liczba anizydynowa / Anisidine value											
	Okres przechowywania [tydzień] / Storing time [week]											
	0	2	4	6	9	12						
0,0	2,71 <sup>yz1234</sup>	2,37 <sup>ijklmnopqrstuvwxy</sup>	2,23 <sup>efghijklmnopqrstuw</sup>	2,20 <sup>defghijklmnopqrstuw</sup>	2,46 <sup>pqrstuvwxy12</sup>	2,09 <sup>cdefghijklmnopq</sup>						
0,1	2,46 <sup>qrstuwxyz12</sup>	2,34 <sup>hijklmnopqrstuvwxy1</sup>	2,72 <sup>z1234</sup>	2,30 <sup>ghijklmnopqrstuvwxy</sup>	2,31 <sup>ghijklmnopqrstuvwxy</sup>	2,13 <sup>cdefghijklmnopqr</sup>						
0,2	2,55 <sup>uvwxyz1234</sup>	2,38 <sup>ijklmnopqrstuvwxy12</sup>	2,42 <sup>nopqrstuvwxy12</sup>	2,20 <sup>defghijklmnopqrstuw</sup>	2,56 <sup>tuwxyz1234</sup>	2,21 <sup>defghijklmnopqrstuw</sup>						
0,3	2,29 <sup>fghijklmnopqrstuw</sup>	2,40 <sup>mnopqrstuvwxy12</sup>	32,31 <sup>ghijklmnopqrstuvwxy1</sup>	2,25 <sup>efghijklmnopqrstuw</sup>	2,50 <sup>rstuvwxy12</sup>	2,34 <sup>ijklmnopqrstuvwxy1</sup>						
0,4	2,01 <sup>cdefghijklmn</sup>	2,39 <sup>lmnopqrstuvwxy12</sup>	2,52 <sup>rstuvwxy123</sup>	1,99 <sup>cdefghijklm</sup>	2,39 <sup>klmnopqrstuvwxy12</sup>	2,32 <sup>ghijklmnopqrstuvwxy1</sup>						
0,5	2,47 <sup>qrstuwxyz12</sup>	2,41 <sup>nopqrstuvwxy12</sup>	2,35 <sup>ijklmnopqrstuvwxy1</sup>	2,04 <sup>cdefghijklmnop</sup>	2,59 <sup>uvwxyz1234</sup>	2,30 <sup>ghijklmnopqrstuw</sup>						
1,0	2,60 <sup>uvwxyz1234</sup>	2,68 <sup>xyz1234</sup>	2,21 <sup>efghijklmnopqrstuw</sup>	2,19 <sup>defghijklmnopqr</sup>	2,96 <sup>4</sup>	2,41 <sup>nopqrstuvwxy12</sup>						
1,5	2,54 <sup>stuvwxyz1234</sup>	2,35 <sup>ijklmnopqrstuvwxy1</sup>	2,21 <sup>defghijklmnopqrstuw</sup>	2,12 <sup>cdefghijklmnopqr</sup>	2,92 <sup>34</sup>	2,46 <sup>qrstuvwxy12</sup>						
2,0	2,38 <sup>ijklmnopqrstuvwxy12</sup>	2,78 <sup>234</sup>	2,39 <sup>klmnopqrstuvwxy12</sup>	2,18 <sup>defghijklmnopqrst</sup>	2,66 <sup>vxyz1234</sup>	1,98 <sup>cdefghijk</sup>						
2,5	1,92 <sup>bcdefgh</sup>	2,28 <sup>fghijklmnopqrstuw</sup>	2,54 <sup>stuvwxyz1234</sup>	2,02 <sup>cdefghijklmn</sup>	2,25 <sup>efghijklmnopqrstuw</sup>	2,56 <sup>tuwxyz1234</sup>						
5,0	2,38 <sup>ijklmnopqrstuvwxy12</sup>	2,35 <sup>ijklmnopqrstuvwxy1</sup>	2,61 <sup>wxyz1234</sup>	2,03 <sup>cdefghijklmno</sup>	2,72 <sup>1234</sup>	1,96 <sup>bcdefghi</sup>						
15,0	2,13 <sup>cdefghijklmnopqrs</sup>	2,30 <sup>ghijklmnopqrstuvwxy</sup>	2,27 <sup>efghijklmnopqrstuw</sup>	2,15 <sup>defghijklmnopqrst</sup>	1,97 <sup>cdefghij</sup>	2,15 <sup>defghijklmnopqrst</sup>						
30,0	1,98 <sup>cdefghijkl</sup>	2,01 <sup>cdefghijklmn</sup>	1,91 <sup>bcdefg</sup>	1,73 <sup>bc</sup>	1,97 <sup>cdefghi</sup>	2,44 <sup>opqrstuvwxy12</sup>						
50,0	1,14 <sup>a</sup>	1,80 <sup>bcd</sup>	1,87 <sup>bcdef</sup>	1,55 <sup>ab</sup>	1,86 <sup>bcde</sup>	2,02 <sup>cdefghijklmn</sup>						

Objaśnienia jak w tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1

Wyniki oceny sensorycznej badanych olejów wykazały występowanie zależności pomiędzy zawartością koncentratu oleju rybiego a wyczuwalnością posmaku rybiego i smakowitością prób. W olejach o niewielkiej zawartości koncentratu oleju rybiego (0,1, 0,2 i 0,3%) nie wyczuwało się zmian przez cały 12-tyg. okres przechowywania. Przy 0,4 i 0,5% dodatku koncentratu oleju rybiego odnotowano bardzo słaby posmak obcy w 9. tyg. trwania testu. W pierwszym i drugim tygodniu przechowywania wszystkie oleje charakteryzowały się dobrą jakością sensoryczną, a zapach i posmak rybi były bardzo lekko wyczuwalne w próbie o zawartości 0,4% koncentratu oleju rybiego. W miarę zwiększania się dodatku tego oleju intensywność posmaku i zapachu rybiego wzrastała, ale były one typowe dla świeżego oleju rybiego.

Większy dodatek koncentratu oleju rybiego powodował istotny wzrost wyczuwalności posmaku rybiego i pogorszenie smakowitości prób. Przy 5% dodatku koncentratu oleju rybiego intensywność zapachu i smaku była duża, ale największą intensywnością charakteryzowały się próbki z 15 i 30% dodatkiem. W żadnej z próbek nie wykryto zapachu jełkiego. Nie stwierdzono także występowania korelacji między dodatkiem koncentratu oleju rybiego a klarownością i konsystencją prób.

Analiza zmian smaku mieszanin oleju rzepakowego z olejem lnianym podczas testu przechowalniczego wykazała, że dodatek kwasów tłuszczowych omega-3 w ilości do 0,3% nie powodował wyczuwalności posmaku trawiastego nawet po 12 tygodniach przechowywania. Przy 0,4% dodatku kwasów tłuszczowych omega-3, lekki posmak trawiasty ujawnił się w 12. tyg., a przy 0,5 i 1% po 4 tyg. W pozostałych przypadkach posmak trawiasty był wyczuwalny już od początku testu, nabierając intensywności podczas upływu kolejnych tygodni.

Podczas analizy smaku do wielkości dodatku kwasów tłuszczowych omega-3 równej 0,3% nie był wyczuwalny zapach trawiasty. W przypadku dodatku kwasów tłuszczowych omega-3 na poziomie 0,4%, zapach trawiasty był wyczuwalny dopiero po 12 tyg., a przy 0,5% dodatku po 6 tyg. W pozostałych przypadkach zapach trawiasty pojawiał się już na początku testu przechowalniczego nabierając intensywności z każdym upływającym tygodniem badań.

Barwa oleju rzepakowego przy małych dawkach koncentratu oleju rybiego (od 0,1 do 1%) nie zmieniała się, a powstałe mieszaniny olejów przyjmowały barwę oleju rzepakowego. Im większy był dodatek koncentratu oleju rybiego, tym barwa stawała się bardziej intensywna. Te zmiany utrzymywały się podczas całego 12-tyg. okresu przechowywania próbek.

Podczas trwania całego testu przechowalniczego barwa próbek oleju wzbogaczonego 0,5% dodatkiem kwasów tłuszczowych omega-3 zawartych w oleju lnianym nie ulegała zmianie i była charakterystyczna dla czystego oleju rzepakowego. Powyżej 1% dodatku badanych kwasów obserwowano tendencję zmiany barwy aż do intensywnie pomarańczowej, charakterystycznej dla oleju lnianego. W obrębie poszczególnych

wielkości dodatków kwasów tłuszczowych omega-3 (w postaci oleju lnianego), w teście przechowalniczym nie odnotowano żadnych zmian barwy próbek w stosunku do początkowej ich barwy.

Oleje rzepakowe wzbogacone w kwasy tłuszczowe omega-3 pochodzące z koncentratu oleju rybiego, na poziomie 0,4%, czy kwas  $\alpha$ -linolenowy, pochodzący z oleju lnianego, na poziomie 0,5% tych kwasów mogą stać się nowym produktem na rynku żywności funkcjonalnej, ale konieczne jest zastosowanie odpowiednich przeciwutleniaczy.

### Wnioski

1. Wskaźniki zmian oksydacyjnych nie wykazują istotnych zmian w całym zakresie dodatku koncentratu oleju rybiego oraz lnianego do oleju rzepakowego w okresie 12-tygodniowego przechowywania. Należy podkreślić, że wartość liczby nadtlenkowej nie przekraczała w żadnym przypadku wartości 5 milirównoważników tlenu/kg oleju, czyli maksymalnej wartości, jaką mogą charakteryzować się rafinowane oleje rzepakowe, aby mogły być przeznaczone do konsumpcji.
2. Smak i zapach rybi, oceniony sensorycznie, jest wyczuwalny już przy dodatku kwasów tłuszczowych omega-3 na poziomie 0,4%. W przypadku oleju lnianego, smak i zapach wyczuwalny był na poziomie 0,5% dodatku.
3. Najmniejszą stabilność wykazały oleje z 15 i 30% zawartością koncentratu oleju rybiego, wykazując o ponad połowę mniejszą stabilność w stosunku do oleju lnianego z tym samym dodatkiem kwasów tłuszczowych omega-3

### Literatura

- [1] Ahmad J.I.: Omega-3 fatty acids - the key to longevity. *Food Sci. Technol. Today*, 1998, **12** (3), 139-144.
- [2] Barylko-Pikielna N.: *Zarys analizy sensorycznej żywności*, WNT, Warszawa 1975.
- [3] Bartnikowska E., Obiedziński M.W.: Nienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny omega-3. Cz..I: Struktura, źródła, oznaczanie, przemiany w organizmie. *Roczniki PZH*, 1997, **48** (4), 381-397.
- [4] Bryhn M.: Food for thoughts - marine omega-3 fatty acids and mental health. *Inn. Food Technol.*, 2001, **12**, 52, 54, 56.
- [5] Cherian G., Sim J.S.: Effect of feeding full fat canola seeds to laying hens on the fatty acid composition of eggs embryos, and newly hatched chicks. *Poultry Sci.*, 1991, **70** (4), 917-922.
- [6] Cohen Z., Norman H.A., Heimer Y. M.: Microalgae as a source of omega3 fatty acids. *World Rev. Nutr. Diet.*, 1995, **77**, 1-31.
- [7] Connor W.E.: The beneficial effects of omega-3 fatty acids: cardiovascular disease and neurodevelopment. *Curr. Opin. Lipidol.*, 1997, **8**, 1-3.
- [8] Drevon C.A.: Marine oils and their effects. *Nutr. Rev.*, 1992, **4** (2), 38-45.
- [9] Dyerberg J., Bang H.O., Hjorne N.: Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1975, **28**, 958.

- [10] Ferrier L.K.: Alfa linolenic acid and docosahexanoic acid enriched eggs from hens fed flaxseed: influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1995, **62 (1)**, 81-86.
- [11] Fomuso L.B., Corredig M., Akoh C.C.: Effect of emulsifier on oxidation properties of fish oil - based structured lipid emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50 (10)**, 2957-2961.
- [12] Henderson R.A., Jensen R.G.: Effect of fish oil on the fatty acids composition of human milk and maternal and infant erythrocytes. *Lipids*, 1992, **27 (11)**, 863-868.
- [13] Kolanowski W.: Olej rybi jako źródło kwasów tłuszczowych omega-3 - znaczenie zdrowotne i wzbogacanie żywności. *Przem. Spoż.*, 2000, **54 (9)**, 56- 58.
- [14] Kolanowski W., Świdorski F., Hoffmann M.: Możliwości wzbogacenia wybranych produktów spożywczych w wielonienasycone kwasy tłuszczowe z grupy n-3 (n-3 PUFA), stosując olej rybny. *Żyw. Człow. Met.*, 1997, **24 (2)**, 13-26.
- [15] Lauritzen D.: Food enrichment with marine omega-3 fatty acids. *Food Ingr.*, 1994, **(1/2)**, 41-44.
- [16] Linko Y.Y., Hayakawa K.: Docosahexanoic acids: a valuable nutraceutical?. *Trends Food Sci. Technol.*, 1996, **7 (2)**, 59-62.
- [17] Nettleton J. A.: Omega-3 fatty acids and health. Chapman&Hall, New York 1995.
- [18] Newton J.S.: Long chain fatty acids in health and nutrition. *J. Food Lipids*, 1996, **31(3)**, 233-249.
- [19] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby nadtlenukowej.
- [20] PN-ISO 6885:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie liczby anizydynowej.
- [21] PN-ISO 6886:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie stabilności oksydatywnej (test przyspieszonego utlenienia)
- [22] Sanders T.A.B.: Marine oils – metabolic effects and role in human nutrition. *Proc. Nutr. Soc.*, 1993, **52 (3)**, 457-472.
- [23] Spiller G.A. (red): Handbook of lipids in human nutrition. CRC Press, New York 1996, pp. 51-73.
- [24] Suzuki H.: Health effects of fish oil. *J. Jap. Oil Chem. Soc.*, 1999, **48 (10)**, 1017-1024.
- [25] Ziemiański Ś.: Fizjologiczna rola kwasów tłuszczowych n-6 i n-3 w ustroju człowieka, ze szczególnym uwzględnieniem profilaktyki cywilizacyjnych chorób metabolicznych. *Mat. Symposium „Olej z nasion wiesiołka i inne oleje zawierające kwasy tłuszczowe n-6 lub n-3 w profilaktyce i terapii”*, Sulejów 15-16 maja 1998.
- [26] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: Rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 w zapobieganiu i leczeniu miażdżycy. *Czynniki Ryzyka*, 1993, **2 (2)**, 55-63.
- [27] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: Współczesne poglądy na rolę fizjologiczną wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3. *Żyw. Człow. Met.*, 1992, **19 (2)**, 100-113.

#### THE ANALYSIS OF OXIDATIVE AND SENSORY CHANGES IN MIXTURES OF RAPESEED OIL AND CONCENTRATED FISH OIL, OR RAPESEED AND FLAXSEED OILS

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

It is possible to enhance the consumption of pro-health polyene fatty acids from an omega-3 group by adding them to some food products. Such a product is rapeseed oil. It can be naturally enriched using the above named components owing to its chemical affinity. Concentrated fish oil or flaxseed oil, a rich source of omega-3 fatty acids, can be used to enrich rapeseed oil.

The objective of this analysis was to assess the effect of omega-3 fatty acids, contained in concentrated fish oil and flaxseed oil, on the oxidative and sensory changes in mixtures made of these two types of oil,

when the omega-3 fatty acids are added to rapeseed oil. Samples of rapeseed oil enriched by the mixtures as described above underwent a special storage ability test. The samples were stored over 12 weeks, and during this period, peroxide (LOO) and anisidine (LA) values were measured.

It was stated that at the beginning of storage, during a few weeks, the LOO value of the mixtures investigated increased, and, then, began to decrease. The decrease was mild, but progressing. It was also found that the higher the amount of omega-3 fatty acids in the mixture, the higher the decrease in the LOO value. This general tendency was the same for both the concentrated fish oil and the flaxseed oil, however, the LOO values of the rapeseed oil + concentrated fish oil mixtures were higher. The LOO value never exceeded a level of 5 milli-equivalents oxygen/kg oil, i.e. the maximum value of any refined rapeseed oil regarded fit for human consumption.

The increase in LA of the studied mixtures containing concentrated fish oil was almost linear, and, it progressed along with adding the omega-3 fatty acids. As for the mixtures of rapeseed and flaxseed oils, the LA level remained constant or it insignificantly decreased when omega-3 fatty acids were added. When the storage-ability test was performed, the LA value increased in the mixtures containing both the concentrated fish oil and flaxseed oil; the increase continued over for weeks of storing the mixtures, up to the maximum level, and, after this period, it began to slowly decrease, and, it kept decreasing during the next weeks of storing the mixtures.

**Key words:** omega-3 fatty acids, rapeseed oil, concentrated fish oil, flaxseed oil, oxidative stability. ☒

JOANNA NIEWCZAS, MARTA MITEK

**ZMIANY ZAWARTOŚCI SACHARYDÓW PODCZAS  
PRZECHOWYWANIA OWOCÓW DYNI OLBRZYMIEJ  
(*CUCURBITA MAXIMA*)**

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian zawartości sacharydów podczas przechowywania owoców dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*).

Materiał doświadczalny stanowiło 10 nowych mieszańców i 3 zarejestrowane odmiany dyni olbrzymiej. W badanych dyniach oznaczano zawartość: suchej substancji, ekstraktu, cukrów ogółem oraz cukrów bezpośrednio redukujących. Z różnicy zawartości cukrów obliczano ilość sacharozy. Badania przeprowadzono w 4 terminach.

Poziom zawartości suchej substancji w dyniach w czasie przechowywania zawierał się w zakresie od 6,1% do 16,6%. Zawartość ekstraktu w badanych dyniach wahała się od 5,4 do 12,8%. Najwyższą wartość tego parametru stwierdzono w owocach po ok. 10 tyg. przechowywania (II termin). Owoce dyni olbrzymiej charakteryzowały się zawartością cukrów ogółem w przedziale od 27,28 do 56,61 g/100 g s.s.. Tak jak w przypadku ekstraktu, najwyższe wartości zanotowano w II terminie badań (7 spośród 13 odmian i mieszańców). Zawartość cukrów bezpośrednio redukujących wynosiła od 9,84 do 46,23 g/100 g s.s. Ich zawartość osiągnęła największy poziom również w II terminie badań (7 spośród 13 odmian i mieszańców). Zawartość sacharozy wynosiła od 0,28 do 30,89 g/100 g s.s.

**Słowa kluczowe:** dynia olbrzymia (*Cucurbita maxima*), przechowywanie, sacharydy

**Wstęp**

W czasie rozwoju owoców i warzyw zachodzą w nich liczne przemiany biochemiczne. Rozwój i dojrzewanie owoców dyni olbrzymiej wg Irvinga i wsp.[5] można podzielić na 3 fazy:

- faza I – okres wczesnego wzrostu, pierwsze 30 dni od kwitnienia – następuje wtedy gwałtowne zmniejszenie zawartości glukozy i fruktozy oraz niewielki wzrost zawartości rafinozy. Wraz z akumulacją skrobi następuje przyrost suchej substancji;



- faza II – dojrzewanie, 30–60 dni od kwitnienia – zostaje zahamowany proces gromadzenia skrobi i suchej substancji, natomiast rozpoczyna się wzrost zawartości sacharozy;
- faza III – 60–100 dni od kwitnienia, jest okresem dalszego dojrzewania owoców – następuje wtedy stopniowa hydroliza skrobi oraz istotny wzrost zawartości glukozy, fruktozy i sacharozy.

Wg Sharrocka i Parkesa [9], glukoza i fruktoza są cukrami dominującymi podczas pierwszych 15 dni rozwoju owoców dyni olbrzymiej, następnie ich zawartość gwałtownie zmniejsza się. Około 39. dnia po zakwitnięciu sacharoza staje się cukrem dominującym i w czasie kolejnych dni dojrzewania następuje dalszy wzrost jej zawartości.

Skrobia, która nagromadziła się w dyni podczas okresu wzrostu owoców, w trakcie magazynowania ulega degradacji. Zmiany te zachodzą pod wpływem enzymów tj.  $\alpha$ -amylazy,  $\beta$ -amylazy,  $\alpha$ -glukozydazy oraz fosforylasy skrobi. Na skutek tych przemian powstają oligosacharydy, maltoza, glukoza albo fosforan-1-glukozy [4].

Następujące po zbiorze szybkie przemiany skrobi do cukrów powodują polepszenie smaku i tekstury miąższu. Podczas pierwszych 4 tygodni przechowywania następuje zmniejszenie zawartości składników suchej substancji o dwie trzecie w stosunku do ilości obecnej w owocach dyni olbrzymiej bezpośrednio po zbiorze. W tym czasie następuje także zmniejszenie zawartości skrobi o połowę oraz znaczny wzrost zawartości cukrów prostych. Dynie, które w czasie zbiorów mają najwyższy poziom skrobi, odznaczają się największą zawartością cukrów prostych po magazynowaniu [1].

Na zawartość cukrów w owocach dyni olbrzymiej ma również istotny wpływ czas ich zbiorów. Owoce zebrane z pola zbyt wcześnie mają po przechowywaniu wyraźnie niższy poziom ekstraktu ogólnego i sacharozy niż owoce zebrane później [9].

Skład frakcji sacharydowej zależy w dużym stopniu od odmiany dyni. W jej owocach stosunek glukozy do fruktozy jest bliski jedności. Natomiast proporcje pomiędzy zawartością sacharozy i cukrów prostych zależą od zawartości skrobi. Odmiany z wysoką zawartością skrobi mają wyższą proporcję sacharozy względem glukozy i fruktozy, podczas gdy odwrotność tego stosunku jest typowa dla odmian niskoskrobiowych. Podczas magazynowania owoców dyni wzrasta ich słodycz i zawartość cukrów ogółem, przy czym wartość tego przyrostu zależy od odmiany [1].

Owoce dyni olbrzymiej wyhodowane w zimniejszym klimacie, w stosunku do identycznych odmian uprawianych w klimacie cieplejszym, syntetyzują mniej sacharozy podczas dojrzewania na polu. Poziom ten wzrasta po zbiorze i przechowywaniu owoców, zwłaszcza w wyższej temperaturze. Jednak zawartość glukozy i fruktozy wzrasta wtedy w niewielkim stopniu [3].

Dynie olbrzymie są owocami mało popularnymi i niewiele jest danych literaturowych na ich temat. Stare odmiany dyni charakteryzują się niższą zawartością

suchej substancji i cukrów niż nowe odmiany i mieszańce [10]. Dlatego też istotne wydaje się poznanie składu chemicznego tych owoców i przemian w nich zachodzących, aby móc wybrać te najlepsze do konsumpcji czy też do przetwórstwa. Charakterystyczną cechą nowych odmian jest wytwarzanie owoców o mniejszej masie jednostkowej i grubszym miąższu, co daje im większą odporność na uszkodzenia w czasie transportu i przechowywania. Mają one także wyższą zawartość składników odżywczych ( $\beta$ -karotenu, białka, suchej substancji) [7].

Brak jest w polskiej literaturze danych dotyczących szczegółowych przemian sacharydów zachodzących w czasie rozwoju i dojrzewania dyni olbrzymiej w naszych warunkach. Cytowane powyżej dane pochodzą z literatury nowozelandzkiej, gdzie temat ten jest szeroko opracowywany. Danych uzyskanych w tamtejszym cieplejszym klimacie nie daje się wprost porównać z wynikami uzyskanymi w Polsce. Na skutek większego nasłonecznienia i wyższej temperatury dynie nowozelandzkie dojrzewają szybciej. Ich zbiór następuje ok. 48–50. dnia od kwitnienia [1, 4, 5]. W naszych warunkach odbywa się to około 60. dnia od kwitnienia, jeżeli sezon jest ciepły i suchy. Natomiast, jeżeli temperatura w danym sezonie jest niższa i jest dużo opadów, wówczas zbiór jest przeprowadzany nawet do miesiąca później.

Celem niniejszej pracy było zbadanie zmian zawartości sacharydów zachodzących podczas przechowywania owoców dyni olbrzymiej wyhodowanych w Polsce.

### **Materiał i metody badań**

Materiał doświadczalny stanowiły 3 zarejestrowane odmiany i 10 nowych mieszańców (niezarejestrowanych odmian) dyni olbrzymiej, pochodzące z pola doświadczalnego „Wolica”, należącego do Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu SGGW. Zbiór owoców był przeprowadzony w dniach 10–15 września 2003 r.

Badania składu chemicznego prowadzone były w 4 terminach: I – 5–7 tygodni po zbiorze owoców (83–97. dzień od kwitnienia), II – 9–10 tygodni po zbiorze (111–118. dzień od kwitnienia), III – 12–13 tygodni (132–139. dzień od kwitnienia), IV – 16–18 tygodni po zbiorze (160–174. dzień od kwitnienia). Dynie przechowywane były początkowo w tunelu foliowym w temperaturze 5–10°C, a od połowy listopada w chłodni w temperaturze 10°C.

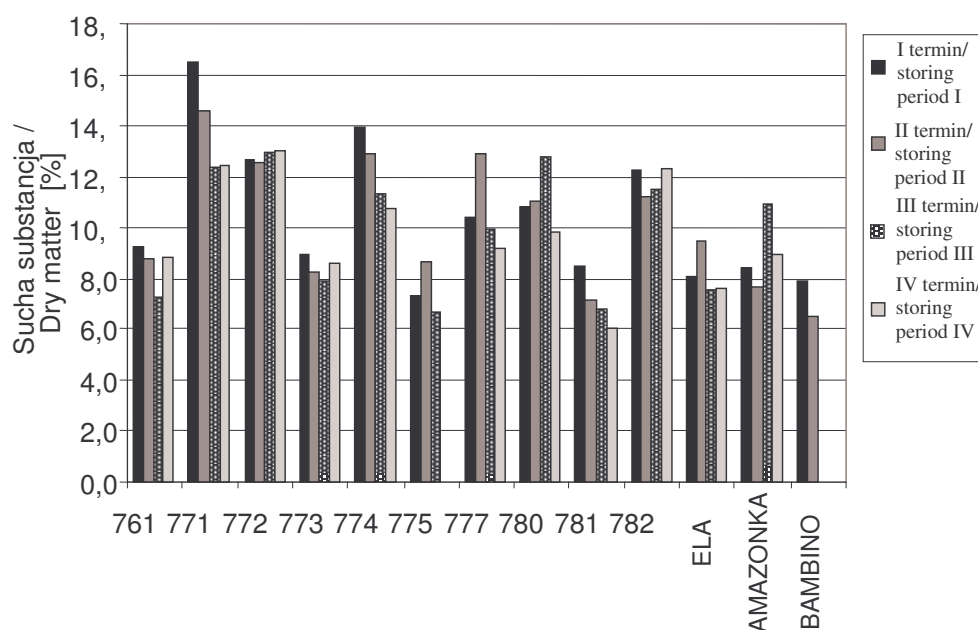
Badane dynie stanowiły różnorodny materiał badawczy. Poszczególne odmiany były różnej wielkości i kształtu, jak również różniły się czasem przechowywania. Dwóch spośród 13 badanych odmian dyń nie udało się przechować przez cały okres badań. Należą do nich: odmiana Bambino, której okres przechowywania był najkrótszy i wyniósł tylko 2 miesiące, oraz odmiana oznaczona liczbą 775, która była przechowywana jedynie przez 3 miesiące.

W badanych dyniach oznaczano zawartość: suchej substancji, ekstraktu, cukrów ogółem oraz cukrów bezpośrednio redukujących metodą Luffa-Schoorla [2]. Z różnicy zawartości cukrów obliczano zawartość sacharozy.

Próbki do badań pobierane były z najbardziej nasłonecznionej części dyni – przeciwległej do części spoczywającej na ziemi o jaśniejszej barwie i spłaszczonej powierzchni – od 4 do 6 owoców każdej z odmian. Jednakowej wielkości kawałki obierano, odpesteczano i rozdrabniano. Z uzyskanej ujednoczonej próby ogólnej danej odmiany pobierano od 3 do 5 średnich próbek laboratoryjnych, będących bezpośrednim materiałem do badań analitycznych.

### Wyniki i dyskusja

Zawartość suchej substancji w dyniach w czasie przechowywania wahała się w szerokim zakresie od 6,05% (odmiana 781) do 16,57% (odmiana 771) (rys. 1).



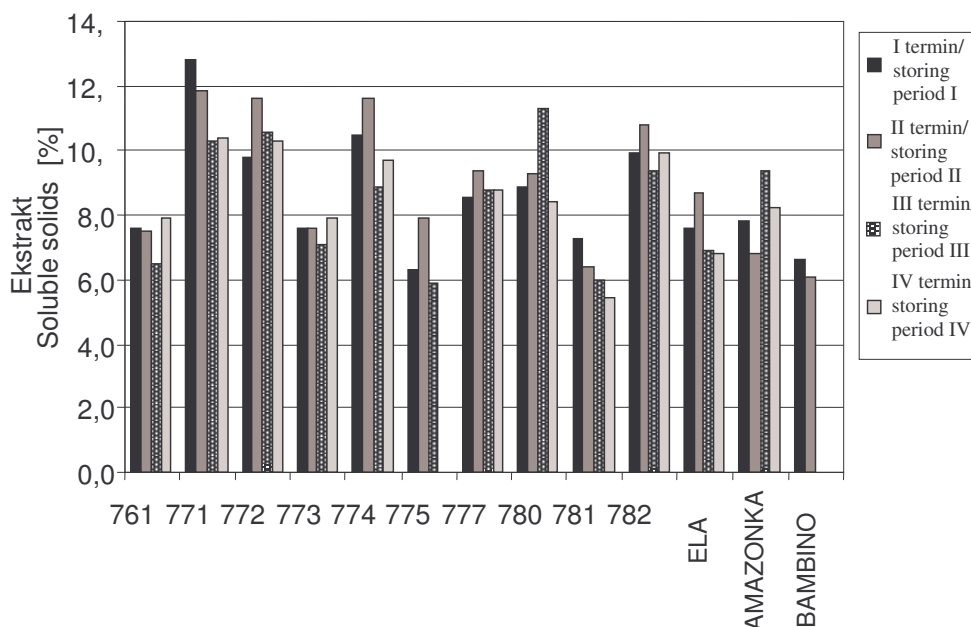
Rys. 1. Zmiany zawartości suchej substancji podczas przechowywania.

Fig. 1. Changes in the content of dry matter occurring during the storage.

W nowych odmianach dyni może ona wynosić nawet 18%, podczas gdy w odmianach uprawianych od dawna, tj. Bambino czy Melonowa Żółta waha się w przedziale od 5 do 8% [6, 7, 8, 10]. Największą zawartością suchej substancji charakteryzowało się sześć nowych mieszańców dyni: 771, 772, 774, 777, 780 i 782. W większości badanych prób (7 spośród 13 odmian i mieszańców) najwyższy poziom suchej substancji zanotowano w I terminie badań, tj. po upływie 5 do 7 tygodni od zbioru owoców. Z uwagi na dużą liczbę badanych odmian, badania nie były przeprowadzone w

ciągu jednego tygodnia, jednak podczas dalszych badań kolejność pobierania prób była zachowana.

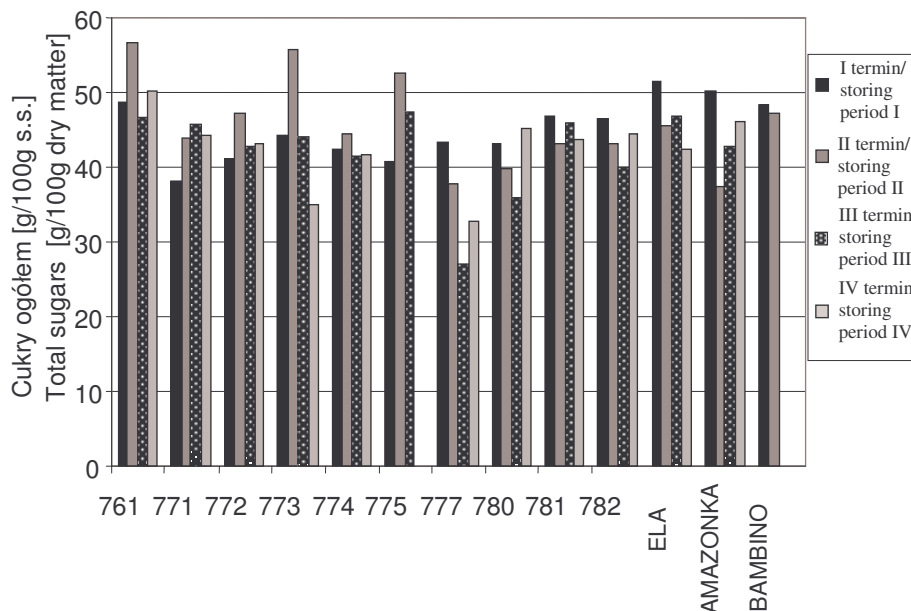
Zawartość ekstraktu w badanych próbach ulegała zmianom w czasie przechowywania (rys. 2). Wahała się ona od 5,4% (odmiana 781) do 12,8% (odmiana 771). Średnia zawartość ekstraktu wszystkich badanych odmian wyniosła 8,5%. Największą zawartość ekstraktu (w 7 spośród 13 odmian i mieszańców) stwierdzono w owocach po ok. 10 tyg. przechowywania (II termin). Ekstrakt badanych dyń stanowił ponad 80% ich suchej substancji. Największą zawartością ekstraktu charakteryzowały się dynie bogate w suchą substancję tj.: 771, 772, 774, 780, 782. Wahania zawartości ekstraktu w poszczególnych odmianach podczas 4 miesięcy przechowywania wynosiły 0,7–2,9%.



Rys. 2. Zmiany zawartości ekstraktu podczas przechowywania.

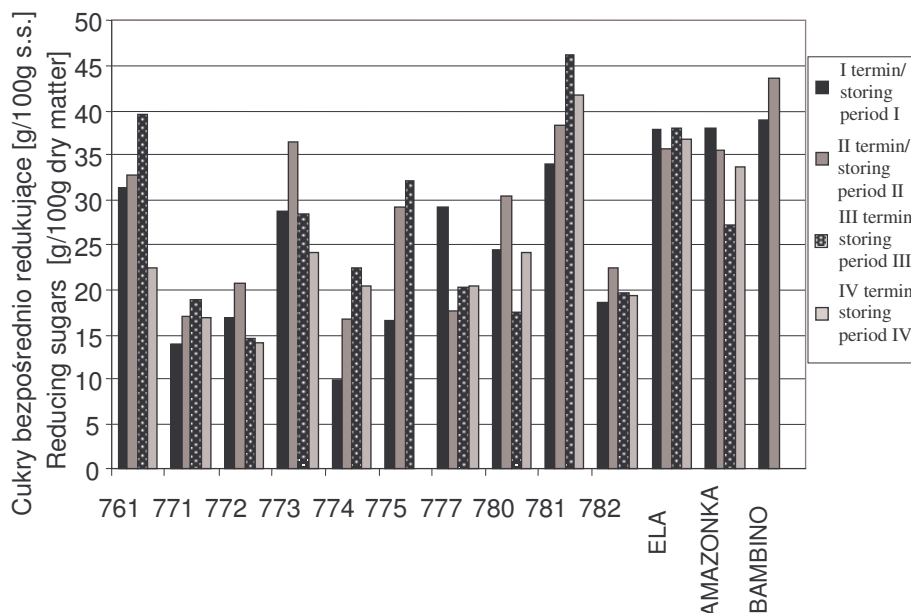
Fig. 2. Changes in the content of soluble solids during the storage.

Sacharydy są podstawowym składnikiem suchej substancji. Ich zawartość w owocach dyni olbrzymiej wzrasta w miarę dojrzewania owoców. Osiągają one maksimum w czasie pełnej dojrzałości owoców, natomiast podczas starzenia się dyń zachodzi proces odwrotny. Na zawartość sacharydów mają wpływ takie czynniki, jak: odmiana, stopień dojrzałości, warunki glebowe i klimatyczne [3].



Rys. 3. Zmiany zawartości cukrów ogółem podczas przechowywania.

Fig. 3. Changes in the content of total sugars during the storage.



Rys. 4. Zmiany zawartości cukrów bezpośrednio redukujących podczas przechowywania.

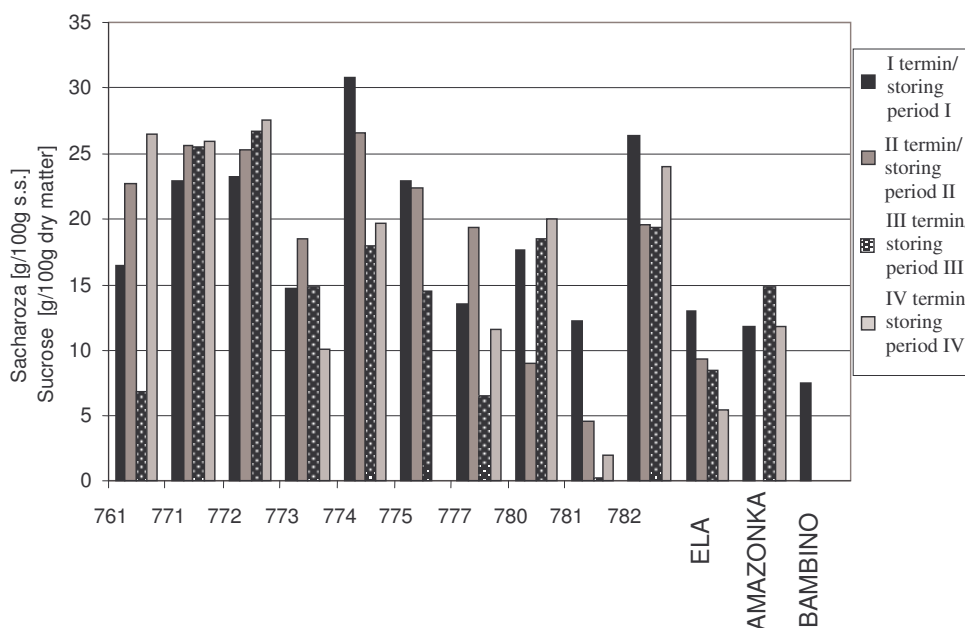
Fig. 4. Changes in the content of directly reducing sugars during the storage.

Stosunek poszczególnych cukrów podczas przechowywania ulega istotnym zmianom, co wywołuje zmiany smaku owoców dyni olbrzymiej [1]. Zawartość cukrów

ogółem w badanych dyniach osiągnęła wartości od 27,18 g/100 g s.s. (odmiana 777) do 56,61g/100 g s.s. (odmiana 761) i średnio wyniosła 44,04 g/100g s.s. Najwyższe wartości zanotowano w I terminie badań (6 spośród 13 odmian i mieszańców) i w II terminie badań (5 spośród 13 odmian i mieszańców). Do odmian o największej zawartości cukrów ogółem w przeliczeniu na suchą substancję należały odmiany: 761, 773, 775, Ela i Amazonka, w których wartości te przekroczyły 50 g/100 g s.s.

Zawartość cukrów bezpośrednio redukujących wynosiła od 9,84 do 46,23 g/100 g s.s. Najmniejszą zawartością tych cukrów charakteryzowała się odmiana 774, a największą 781. Średnio ich zawartość wyniosła 26,82 g/100 g s.s. Do odmian wyróżniających się największą zawartością cukrów prostych w przeliczeniu na suchą substancję należały: 761, 773, 781, Ela, Amazonka i Bambino. Zawartość cukrów bezpośrednio redukujących w tych odmianach przekroczyła 35 g/100 g s.s. W czasie czterech miesięcy przechowywania owoców dyni olbrzymiej najwyższy poziom cukrów bezpośrednio redukujących (w 6 spośród 13 odmian i mieszańców) zaobserwowano w III terminie badań, tj. po upływie 12–13 tygodni od zbioru.

Zawartość sacharozy wynosiła od 0,28 g/100 g s.s. (odmiana 781) do 30,89 g/100 g s.s. (odmiana 774) (rys. 5), średnio jej zawartość wyniosła 16,34 g/100 g s.s.



Rys. 5. Zmiany zawartości sacharozy podczas przechowywania.

Fig. 5. Changes in the content of sucrose during the storage.

Największą zawartością tego sacharydu charakteryzowały się odmiany: 761, 771, 772, 774, 782, gdzie wartość ta przekroczyła 25 g/100 g s.s. Najwięcej sacharozy (w 6 spośród 13 odmian i mieszańców) stwierdzono w I terminie badań. W większości

przypadków zawartość cukrów bezpośrednio redukujących była większa od zawartości sacharozy.

W zależności od odmiany obserwowano zróżnicowanie wzajemnych relacji pomiędzy poszczególnymi grupami sacharydów w czasie przechowywania owoców.

### Wnioski

1. Nowe odmiany dyni olbrzymiej charakteryzują się większą zawartością suchej substancji, ekstraktu i cukrów, w porównaniu z odmianą Bambino, znaną i uprawianą w Polsce od dawna.
2. Do nowych odmian wyróżniających się zwiększoną zawartością suchej substancji, ekstraktu i sacharozy należą: 771, 772, 774, 782.
3. Zaobserwowany w I i II terminie badań wysoki poziom sacharozy i cukrów ogółem ulega zmniejszeniu w czasie przechowywania. Z kolei poziom cukrów bezpośrednio redukujących wzrasta do ok. 12–13 tygodnia po zbiorze (III termin), a następnie ulega obniżeniu.

### Literatura

- [1] Corrigan V.K., Irving D.E., Potter J.F.: Sugar and sweetness in buttercup squash. *Food Qual. Pref.*, 2000, **11** (4), 313-322.
- [2] Drzazga B.: Analiza techniczna w przetwórstwie owoców i warzyw. WSiP, Warszawa 1995, **37-38**, 144-151.
- [3] Harvey W.J., Grant D.G., Lammerink J.P.: Physical and sensory changes during the development and storage of buttercup squash. *New Zealand J. Crop Hort. Sci.*, 1997, **25**, 341-351.
- [4] Irving D.E., Shingletown J., Hurst P.L.: Starch degradation in buttercup squash. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1999, **124** (6), 587-590.
- [5] Irving D.E., Hurst P.L., Ragg J.S.: Change in carbohydrates and carbohydrate metabolism enzymes during the development, maturation, and ripening of buttercup squash (*Cucurbita maxima* D. "Delica"). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1997, **122** (3), 310-314.
- [6] Korzeniewska A.: Nieznane zalety nowych odmian dyni. *Owoc. Warz. Kwiaty*, 1993, **9**, 12-13.
- [7] Korzeniewska A., Niemirowicz-Szczytt K.: Nowe półkrzaczaste odmiany dyni olbrzymiej. *Ogrodnictwo.*, 1992, **2**, 20-21.
- [8] Niemirowicz-Szczytt K., Korzeniewska A., Gatecka T.: Nowe odmiany dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* Duch.) o podwyższonej zawartości suchej masy, białka i karotenoidów, *Mat. VI Ogólnopol. Zjazdu Hod. Roślin Ogrodniczych „Hodowla roślin o podwyższonej jakości”*, Kraków, 15-16 lutego 1996, 148-151.
- [9] Sharrock K.R., Parkes S.L.: Physiological changes during development and storage of fruit of buttercup squash in relation to their susceptibility to rot. *New Zealand J. Crop Hort. Sci.*, 1990, **18**, 185-196.
- [10] Stangret J., Korzeniewska A., Niemirowicz-Szczytt K.: Ocena plonowania oraz zawartości suchej masy i związków karotenoidowych w nowych mieszańcach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* Duch.). *Folia Hort.* 2001, **13/1A**, 37-443.

**CHANGES IN THE CONTENT OF SACCHARIDES DURING THE STORAGE OF WINTER  
SQUASH FRUITS (*CUCURBITA MAXIMA*)**

S u m m a r y

The objective of this study was to determine how the content of saccharides changed during the storage of winter squash fruits (*Cucurbita Maxima*). The experimental material consisted of ten new hybrids and three registered varieties of winter squash. For this material, there were determined the contents of: dry mass, extract, total sugars, and directly reducing sugars. The amounts of sucrose were calculated as a difference between the contents of total and directly reducing sugars. The experiments were carried out during four storage periods.

The content level of dry matter in winter squashes investigated during their storage ranged from 6.1% to 16.6%. The content of extract in them was between 5.4% and 12.8%. The highest content of this parameter was found in fruits that had been stored for about 10 weeks (Storage Period II). Generally, the content of sugars in winter squash fruits ranged from 27.28 to 56.61 g/100 g of dry matter. Similarly to the content of extract, the highest amounts of total sugars were stated during the Storage Period II (for the seven varieties of all the thirteen varieties and hybrids investigated). The content of directly reducing sugars was between 9.84 to 46.23 g/100 of dry matter. The amount of directly reducing sugars was also the highest during the Storage Period II (for the seven varieties of all the thirteen varieties and hybrids investigated). The content of sucrose amounted from 0,28 to 30,89 g/100g of dry matter.

**Key words:** winter squash (*Cucurbita maxima*), storage, saccharides ☒



MICHAŁ PIEGZA, REGINA STEMPNIEWICZ, DANUTA WITKOWSKA

## WPŁYW METABOLITÓW *GEOTRICHUM CANDIDUM* NA WZROST *FUSARIUM*

### Streszczenie

Przedmiotem badań były mikrohodowle 3 gatunków grzybów *Fusarium*: *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* i *F. avenaceum* prowadzone w zautomatyzowanym aparacie Bioscreen C. W mikrohodowlach oceniano wpływ metabolitów drożdży *Geotrichum candidum* pochodzących z hodowli tych drożdży z dodatkiem biomasy grzybów *Fusarium* na wzrost tych grzybów. W celu zróżnicowania białkowych i niebiałkowych czynników płyny pohodowlane drożdży (supernatanty), dodawano zarówno nieinaktywowane jak i poddane inaktywacji w temp. 95°C przez 20 min. Wykazano antagonistyczną aktywność badanych metabolitów *G. candidum* w stosunku do reprezentantów 2 gatunków: *F. graminearum* i *F. culmorum*, natomiast stymulującą wobec *F. avenaceum*. Metabolity drożdży wydłużały czas kiełkowanie zarodników grzybów (lag-fazę) nawet do 34 godz. w porównaniu z hodowlą kontrolną (bez dodatku płynów). Również plon biomasy był znacznie zmniejszony w hodowlach zawierających metabolity drożdży. Szczep stymulowany (*F. avenaceum* 1) w obecności metabolitów rósł znacznie szybciej (do 60%) i efektywniej (do 25%) niż w hodowli kontrolnej. Hamujące działanie płynów pohodowlanych może być wynikiem obecności w nich aktywnych metabolitów, jak i enzymów produkowanych przez drożdże.

**Słowa kluczowe:** *Geotrichum candidum*, *Fusarium*, inhibicja

### Wstęp

Surowce i produkty żywnościowe stanowią doskonałe środowisko do rozwoju drobnoustrojów. Rosnące zainteresowanie i świadomość spożywania produktów spożywczych o jak najlepszej jakości pociąga za sobą konieczność ciągłej poprawy bezpieczeństwa żywności. Poczynając od surowców, zwraca się uwagę na ewentualną obecność w nich związków chemicznych pochodzenia mikrobiologicznego o niekorzystnym lub wręcz szkodliwym działaniu na zdrowie konsumenta. Takimi związkami są m.in. mikotoksyny wytwarzane przez grzyby rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Grzyby te licznie zasiedlają ziarna zbóż, w tym ziarna jęczmienia – podstawowy surowiec do produkcji słodu. Poszukuje się bezpiecznych i

skutecznych metod ograniczenia rozwoju niepożądanego mikroflory, w tym grzybów toksynotwórczych.

Od kilku lat, z pozytywnym skutkiem, prowadzi się badania nad wykorzystaniem drożdży *Geotrichum candidum*, jako kultur starterowych w procesie słodowania jęczmienia. Boivin i Malanda [1] oraz Dziuba i wsp. [2, 3, 4] wykazali, że drożdże *G. candidum* wprowadzone do słodowania jako szczepionki hamowały wzrost grzybów, w tym rodzaju *Fusarium*, co w efekcie wpłynęło korzystnie na jakość i zdrowotność słodu. Ograniczenie wzrostu grzybów toksynotwórczych było wynikiem konkurencji o składniki pokarmowe i przestrzeń życiową [1, 8, 9, 10, 13]. Natomiast inni autorzy [7, 15] informują o antagonistycznym oddziaływaniu metabolitów wytwarzanych przez drożdże *G. candidum*, takich jak: trimetyloamina, kwas D-3-indolilomlekowy i kwas 3-fenylomlekowy, na wzrost bakterii patogennych *Listeria monocytogenes* oraz grzybów rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Okebe i wsp. [11] podają, że hamowanie wzrostu grzybów patogennych może być spowodowane działaniem enzymów litycznych degradujących biopolimery  $\beta$ -(1,3)(1,6)-glukanów ścian komórkowych grzybów. Nielsen i wsp. [10] wykazali, że drożdże *G. candidum* ograniczały wytwarzanie mikotoksyn, takich jak: kwas mykofenolowy, rokefortyna, chaetoglobozyna i kwas cyklopiazonowy. Grzyby, poza wytwarzaniem niebezpiecznych dla zdrowia człowieka mikotoksyn, są producentami licznych enzymów hydrolitycznych, które mogą znacznie podnosić aktywność enzymatyczną słodu, szczególnie proteolityczną i lipolityczną, obniżając jego jakość, a w konsekwencji jakość piwa.

Celem badań była ocena wpływu płynów po hodowli *Geotrichum* na wzrost trzech szczepów *Fusarium*, reprezentujących 3 różne gatunki.

## Materiały i metody badań

### *Mikroorganizmy*

Użyto szczepów rodzaju *Fusarium*: *F. avenaceum* 1 (F1), *F. culmorum* M292 (F2), *F. graminearum* KF375 (F3). Grzyby pochodziły z kolekcji Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego Akademii Rolniczej w Poznaniu.

### *Płyny pochodzące z hodowli drożdży Geotrichum candidum*

Badaniom poddano 8 szczepów drożdży *Geotrichum candidum* różnego pochodzenia, w tym ze słodu: *G. candidum* SS32B1 (B1), *G. candidum* SS47D2 (D2), *G. candidum* MSK<sub>3</sub>11 (3-11), z serów z przerostem pleśni: *G. candidum*1 (OL), *G. candidum* Sc12 (Sc12) *G. candidum* KB5 (X5), *G. candidum* KB6 (X6) oraz z piór kurzych: *G. candidum* PH (PH). Poszczególne szczepy drożdży hodowano w podłożu PDA z dodatkiem 0,5% s.s. biomasy każdego z 3 szczepów *Fusarium*. Hodowle prowadzono w kolbach o poj. 250 ml, w 50 ml podłoża przy 168 rpm na wytrząsarce

G10-Gyrotory Shaker (New Brunswick Co) przez 7 dni w temp. 28–30°C. Hodowle odwirowywano, dodatkowo sączono przez sączki 0,2 µl Millipore w celu uzyskania klarownego i jałowego supernatantu. Do mikrohodowli dodawano supernatant albo bez inaktywacji, albo po inaktywacji termicznej (95°C/20 min) mającej na celu wyeliminowanie białkowych związków biologicznie czynnych, szczególnie enzymów.

#### Warunki mikrohodowli grzybów rodzaju *Fusarium*

Mikrohodowle grzybów rodzaju *Fusarium* prowadzono w aparacie Bioscreen C, zautomatyzowanym urządzeniu pozwalającym na ciągłe śledzenie przebiegu procesu, w 200 hodowlach jednocześnie, z równoczesnym wyznaczeniem krzywych wzrostu badanych mikroorganizmów. Hodowle zawierały: 300 µl podłoża PDA, 50 µl supernatantu i 10 µl zawiesiny zarodników *Fusarium* (wystandaryzowanej przy użyciu komory Thoma, do wartości 10<sup>6</sup> kom/ml zarodników na początku hodowli). W hodowlach kontrolnych zamiast supernatantu dodawano 50 µl podłoża PDA.

Uzyskane krzywe wzrostu poddano analizie, wyznaczając wybrane parametry kinetyki wzrostu: długości lag-fazy, maksymalną szybkość właściwą wzrostu ( $\mu$ ) i plon biomasy, wyrażony jako pole pod krzywą wzrostu.

W pracy zastosowano skróty określające pochodzenie supernatantów: np. F1OI oznacza, że jest to supernatant uzyskany po hodowli węgłbnej drożdży *G. candidum* I (OI) z dodatkiem biomasy *F. avenaceum* (F1).

#### Wyniki i dyskusja

W pracy badano oddziaływanie metabolitów *Geotrichum candidum* na wzrost występujących najczęściej na ziarnie zbóż gatunków grzybów: *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* i *F. avenaceum*. Do hodowli drożdży wprowadzono inaktywowaną termicznie biomasę ww. gatunków grzybów, jako induktorów enzymów litycznych [5]. Uzyskane płyny po hodowli drożdży, po oddzieleniu biomasy, zarówno inaktywowane termicznie, jak i surowe wprowadzono do mikrohodowli grzybów. Badano wzrost grzybów *Fusarium* oceniając parametry kinetyki wzrostu.

Wykazano antagonistyczne oddziaływanie metabolitów drożdży *G. candidum* na wzrost dwóch badanych gatunków grzybów: *F. graminearum* i *F. culmorum*, natomiast stymulujące działanie na wzrost *F. avenaceum*. Z piśmiennictwa wynika, że dwa pierwsze szczepy są producentami deoksyniwalenolu, niwalenolu i zearaelonu, a trzeci szczep *F. avenaceum* – moniliforminy [6].

Najbardziej wrażliwym na obecność metabolitów drożdży w środowisku hodowlanym okazał się szczep *F. graminearum* KF 375, w przypadku którego metabolity wszystkich badanych drożdży wpływały niekorzystnie na parametry kinetyki wzrostu tego szczepu, wydłużając, w porównaniu z próbą kontrolną, długość lag fazy, zwiększając plon biomasy i maksymalną szybkość wzrostu. Zaobserwowano wydłużenie czasu kiełkowania zarodników (lag-fazę) szczepu *F. graminearum* KF375 od 1 do 34,5 godz., w porównaniu z czasem kiełkowania konidiów w hodowli

kontrolnej, zarówno przy udziale inaktywowanych płynów, jak i nie inaktywowanych. Najbardziej aktywne były metabolity bez inaktywacji termicznej dwóch szczepów drożdży *G. candidum*: PH i MSK<sub>3</sub>11 otrzymane odpowiednio w obecności biomasy *F. culmorum* (F2PH) i *F. graminearum* (F3\_3-11) (tab. 1).

Tabela 1

Czas trwania lag-fazy w zależności od badanego szczepu drożdży i induktora enzymów litycznych [godz.].

The duration time of a lag-phase depending on the yeast strain studied, and on an inductor of lytic enzymes [h].

Supernatant	Szczep / strain	<i>F. avenaceum</i> I (F1)		<i>F. culmorum</i> M292 (F2)		<i>F. graminearum</i> KF375 (F3)	
		Hodowla kontrolna – 7 godz control culture – 7 h		Hodowla kontrolna – 19 godz control culture – 19 h		Hodowla kontrolna – 18 godz control culture – 18 h	
		A	B	A	B	A	B
F1OL		7	7	23	21,5	22,5	32
F1B1		7	7	21	22,5	20	18
F1PH		7	7	21,5	24,5	22,5	18
F1D2		7	7	22	19	31,5	34
F1_3-11		7	7	21	21,5	20,5	17,5
F1X5		7	7	19,5	25	17	21,5
F1X6		7	7	20,5	23	17,5	38
F2OL		7	7	19	22	23	33
F2B1		7	7	22	19,5	21	23
F2PH		7	7	22	16,5	44	22
F2Sc12		7	7	17,5	18	18	24
F2D2		7	7	19,5	21	29	21
F2_3-11		7	7	22	28,5	29	25
F2X5		7	7	28,5	25,5	26	21,5
F2X6		7	7	23	21	18,5	20
F3OL		7	7	20,5	23	20	20
F3B1		7	7	29	20	19,5	21
F3Sc12		7	7	20	19	17,5	29
F3D2		7	7	18,5	18	30	24
F3_3-11		7	7	25	29,5	52,5	20
A – płyn bez inaktywacji termicznej / liquid without the thermal inactivation performed B – płyn po inaktywacji termicznej / liquid after the thermal inactivation performed							

Metabolity badanych szczepów drożdży zmniejszyły plon biomasy (tab. 2) od 10 do 40% (F3\_3-11), a szybkość właściwą wzrostu (tab. 3) *F. graminearum* nawet od 6 do 80% (F3\_3-11) w porównaniu z hodowlami kontrolnymi. Silniejszą aktywnością antagonistyczną charakteryzowały się metabolity bez obróbki termicznej, głównie (F2\_3-11), (F2PH) i (F3\_3-11), co sugeruje, że enzymy występujące w supernatancie mogły mieć wpływ na hamowanie wzrostu szczepu *F. graminearum* KF375. Po

inaktywacji termicznej (unieczynnione enzymy) obserwowano zwiększenie plonu biomasy i szybkości właściwej wzrostu (tab. 2).

Tabela 2

Plon biomasy grzybów *Fusarium* w zależności od badanego szczepu drożdży i induktora enzymów litycznych w porównaniu z hodowlą kontrolną [%].

The biomass yield of *Fusarium* depending on the yeast strain studied, and on an inductor of lytic enzymes, and compared to the control culture [%].

Supernatant	Szczep Strain	<i>F. avenaceum</i> 1 (F1)		<i>F. culmorum</i> M292 (F2)		<i>F. graminearum</i> KF375 (F3)	
		A	B	A	B	A	B
F1OL		113,9	106,5	100,2	109,3	145,5	110,8
F1B1		126,9	111,6	144,1	101,1	176,9	135,9
F1PH		118,1	100,6	99,3	88,5	129,0	141,9
F1D2		104,2	107,5	112,9	107	91,1	90,2
F1_3-11		111,8	100,1	97,8	96,9	90,6	93,1
F1X5		115,3	112,9	119,7	97,6	127,0	91,1
F1X6		109,5	118,4	119,0	100,1	81,8	80,5
F2OL		107,7	100,6	107,2	105,3	80,8	93,1
F2B1		114,9	103,9	98,1	99,5	80,7	73,7
F2PH		112,0	109,8	101,2	117,6	68,0	74,6
F2Sc12		118,5	116,1	95,6	99,5	109,5	68,5
F2D2		105,0	90,9	99,0	91,6	90,0	71,0
F2_3-11		118,5	119,3	109,6	107,1	72,9	95,1
F2X5		120,1	119,2	98,4	126,9	88,9	89,4
F2X6		126,7	116,7	102,7	113,3	132,1	95,1
F3OL		122,4	117,1	108,4	107,0	97,3	97,1
F3B1		113,5	126,0	91,4	99,6	115,9	92,2
F3Sc12		124,2	117,5	99,1	117,2	144,5	94,2
F3D2		114,7	113,2	109,0	101,2	90,4	69,3
F3_3-11		116,3	116,9	68,4	81,0	59,9	94,6
A – płyn bez inaktywacji termicznej / liquid without the thermal inactivation performed							
B – płyn po inaktywacji termicznej / liquid after the thermal inactivation performed							

Tabela 3

Maksymalna szybkość właściwa wzrostu poszczególnych szczepów *Fusarium* w zależności od stosowanego supernatantu i induktora enzymów litycznych w porównaniu z hodowlą kontrolną [%].

The maximum specific rate of growth of *Fusarium* strains depending on a supernatant and inductor of lytic enzyme used, and compared to the control cultures [%].

Supernatant	Szczep Strain	<i>F. avenaceum</i> 1 (F1)		<i>F. culmorum</i> M292 (F2)		<i>F. graminearum</i> KF375 (F3)	
		A	B	A	B	A	B
F1OL		87	137	98	116	89	31
F1B1		122	101	104	86	101	88
F1PH		127	100	91	86	76	70
F1D2		103	103	108	97	27	31
F1_3-11		104	99	114	78	88	65
F1X5		105	102	129	94	97	76
F1X6		103	100	117	79	63	39
F2OL		104	99	97	115	66	30
F2B1		100	101	93	105	76	70
F2PH		102	102	89	117	34	85
F2Sc12		103	102	96	114	121	102
F2D2		99	99	109	124	61	100
F2_3-11		99	108	112	78	55	77
F2X5		123	168	86	134	68	60
F2X6		106	107	112	115	95	94
F3OL		104	104	93	89	88	87
F3B1		105	105	94	82	101	89
F3Sc12		107	103	84	122	109	63
F3D2		105	103	112	83	35	77
F3_3-11		102	105	57	65	20	90
A – płyn bez inaktywacji termicznej / liquid without the thermal inactivation performed B – płyn po inaktywacji termicznej / liquid after the thermal inactivation performed							

Drugi badany szczep: *F. culmorum* M292 w hodowlach reagował na obecność metabolitów z płynów wydłużeniem fazy spoczynkowej o 1,5–10 godz (F2\_3-11, F2X5, F3\_3-11) (tab.1) i nieznacznym zmniejszeniem szybkości właściwej wzrostu (tab. 3). Plon biomasy w przypadku tego szczepu *Fusarium* zmniejszyły tylko metabolity szczepu *G. candidum* MSK<sub>311</sub> po hodowli z dodatkiem biomasy (F3) (o 19 do 31,6%), natomiast w pozostałych przypadkach metabolity stymulowały lub nie miały wpływu na wzrost *F. culmorum* (tab. 2)

Metabolity wszystkich badanych szczepów drożdży stymulowały wzrost *F. avenaceum* 1, zwiększając plon biomasy od 0,1 do 26,7 % (F2X6) (tab. 2) i szybkość właściwą wzrostu od 2 do 68% (F2X5) (tab. 3), natomiast nie miały wpływu na kiełkowanie zarodników (długość lag-fazy) (tab. 1).

Większe ograniczenie wzrostu badanych szczepów grzybów *Fusarium* w obecności supernatantów drożdży *G. candidum* (nie inaktywowanych) może sugerować udział enzymów litycznych w mieszaninie aktywnych metabolitów w hamowaniu wzrostu wymienionych grzybów.

Powyższe badania potwierdziły wcześniejsze obserwacje [13], w których autorzy udokumentowali udział konkurencji w hamowaniu wzrostu grzybów rodzaju *Fusarium*. W niniejszej pracy większą uwagę skierowano na bliższą charakterystykę czynników wpływających na zahamowanie wzrostu grzybów *Fusarium*, w tym białkowych (prawdopodobnie enzymów litycznych) biorących udział w degradacji ścian komórkowych grzybów [11] lub niebiałkowych. Wcześniejsze badania autorów tej pracy (dane niepublikowane) wykazały wpływ biomasy grzybów *Fusarium* na zwiększenie aktywności litycznej drożdży *G. candidum*. Liczni autorzy wykazali także zdolność *G. candidum* do produkcji lotnych metabolitów [14, 16], mających antagonistyczne oddziaływanie na pleśnie różnych rodzajów [15]. Ci sami autorzy równocześnie zwracają uwagę, że część tych związków, stanowiących źródło łatwo przyswajalnego azotu, może stymulować wzrost pleśni. Zachowanie badanych szczepów *Fusarium* zdaje się potwierdzać te tezy, szczególnie w sytuacji, kiedy zastosowano płyny po obróbce termicznej, a więc pozbawione czynnych związków białkowych, a zawierające czynne związki niebiałkowe.

Wykazano, że spośród badanych szczepów drożdży, szczególnie kultury *G. candidum PH1* i *G. candidum MSK<sub>3</sub>11* oraz *G. candidum SS47D<sub>2</sub>*, można wstępnie zaproponować jako kultury starterowe, stanowiące skuteczną biologiczną ochronę słodu przez rozwojem grzybów toksynotwórczych, a w konsekwencji przed skażeniem słodu mikotoksynami.

## Wnioski

1. Drożdże *Geotrichum candidum* wytwarzały metabolity o antagonistycznym działaniu wobec 2 gatunków grzybów: *Fusarium graminearum* i *F. culmorum* natomiast stymulującym wobec *F. avenaceum*
2. Największą wrażliwością na metabolity charakteryzował się szczep *F. graminearum KF375*, co objawiało się niskim plonem biomasy i wartości maksymalnej szybkości właściwej wzrostu oraz wydłużeniem lag-fazy.
3. Większą aktywność antygrzybową z reguły przejawiały metabolity niepoddane obróbce termicznej, co może wskazywać na udział w tym procesie obecnych w płynach pochodowlanych drożdży enzymów litycznych.
4. Najlepszym induktorem do syntezy związków antygrzybowych okazała się biomasa *F. culmorum M292*.
5. Najsilniejszym antagonistycznym oddziaływaniem wobec *Fusarium* charakteryzowały się metabolity 3 szczepów *Geotrichum*: *G. candidum MSK<sub>3</sub>11*, *G. candidum PH* oraz *G. candidum SS47D<sub>2</sub>*. Wymienione szczepy mogą być wykorzystane jako kultury starterowe w słodownictwie



## Literatura

- [1] Boivin P., Malanda M.: Improvement of malt quality and safety by adding starter culture during the malting process. *Technical Quarterly*, 1997, **34**, **2**, 96-101.
- [2] Dziuba E., Wojtatowicz M., Stempniewicz R., Foszczyńska B.: The use of *Geotrichum candidum* starter cultures in malting of brewery barley. *Food Biotechnology*, 2000, 311-315.
- [3] Dziuba E., Wojtatowicz M., Stempniewicz R., Foszczyńska B.: Kultury starterowe jako czynnik ograniczający aktywność epifitycznej mikroflory jęczmienia i słodu. *Biotechnologia*, 1999, **2(45)**, 167-175.
- [4] Dziuba E., Wojtatowicz M., Stempniewicz R., Foszczyńska B.: Zastosowanie kultur starterowych w procesie słodowania ziarna pszenżyta. *Mat. Konferencji Nauk.*, Sielinko, 1998, s. 14-19.
- [5] Fuglsang CC., Johansen Ch., Christgans S., Adler-Nissen J.: Antimicrobial enzymes: Application and future potential in the food industry, *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, vol. 6, pp. 390-396
- [6] Galiński P., Perkowski J.: Zanieczyszczenia zbóż i pasz mykotoksynami. Stan aktualny i perspektywy rozwoju wybranych dziedzin produkcji pasz. Tom 6 pod red. J. Warchalewskiego, rozdz. 4. Wyd. PTTŻ Oddział Wielkopolski, Poznań 1998, s. 108-117.
- [7] Jollivet N., Chataud J., Vayssier Y., Bensoussan M.: Production of volatile compounds in model milk and cheese media by eight strains of *Geotrichum candidum* Link. *J. Dairy Res.*, 1994, **61**, 241-248.
- [8] Molinard P., Lesschaeve J.: Bitterness and nitrogen fractions of mould ripened cheese of Camembert type: Impact of the association of *Penicillium camemberti* with *Geotrichum candidum*. *Lait*, 1994, **74**, 361-374.
- [9] Molinard P., Vassal L.: Growth of *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum* in pure and mixed cultures during experimental ripening of soft camembert type cheese. *Lait*, 1995, **75**, **1**, 3-16.
- [10] Nielsen M.S., Frisvad J.C.: Colony interaction and secondary metabolite production of cheese-related fungi in dual culture. *J. Food Prot.*, 1998, **8 (51)**, 1023-1029.
- [11] Okebe B., Seigle-Murandi.: Fungal metabolite active against phytopathogenes. *Sci. Total Env.*, 1994, **155**, 125-130
- [12] Perkowski J.: Mikotoksyny w surowcach piwowskich i w piwie oraz w czasie jego otrzymywania. *Przem. Ferm.*, 2000, **11**, 14-16.
- [13] Piegza M., Stempniewicz R.: Ocena antagonizmu drożdży *Geotrichum candidum* w stosunku do toksynotwórczych grzybów rodzaju *Fusarium*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **3 (32) Supl.**, 136-148
- [14] Robinson P.M., Harper D.B., Hamilton J.T.G.: Autoinhibition of germination and growth in *Geotrichum candidum*, *Mycol. Res.*, 1989, **93**, 214-222
- [15] Tariq V.N., Campbell V.M.: Influence of volatile metabolites from *Geotrichum candidum* on other fungi. *Short Communication*, 1990, pp. 891-893
- [16] Vargas I., Sanz I., Moya P.: Antimicrobial and antioxidant compounds in the non-volatile fraction of expressed orange essential oil. *J. Food Prot.*, 1999, **62**, **8**, 929-932

### THE EFFECT OF *GEOTRICHUM CANDIDUM*'S METABOLITES ON THE GROWTH OF *FUSARIUM* SP.



## S u m m a r y

The subject of our analysis was a micro-culture of 3 fungi species: *Fusarium* sp.: *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, and *F. avenaceum*. The analysis was performed in an automated apparatus 'Bioscreen C'. In the cultures investigated, the effect of *G. candidum* yeast metabolites on the growth of the *Fusarium* fungi was studied and assessed. The yeast metabolites were obtained from a culture of these yeasts with *Fusarium* biomass added to the medium. In order to differentiate protein and non-protein metabolites, two types of supernatants were added: one group of them was not inactivated, and the second one – inactivated over 20 minutes at a temperature of 95°C. It was proved that the *G. candidum* metabolites studied were antagonistically active towards the 2 species: *F. culmorum*, *F. graminearum*, and that they were stimulatingly active towards *F. avenaceum*. The yeast metabolites prolonged the time of fungal spore germination (lag-phase) up to 34 hours comparing to the control culture (with no supernatants added). Additionally, the biomass yield was essentially decreased in the cultures containing metabolites of yeasts. In the presence of metabolites, the stimulated strain (*F. avenaceum* 1) grew faster (to 60%) and more effective (to 25%) than in the control culture. The inhibiting effect of supernatants could be attributed both to the presence of active metabolites in them, and to the enzymes produced by yeasts.

**Key words:** *Geotrichum candidum*, *Fusarium*, inhibition ☒

BARTOSZ SOŁOWIEJ, WALDEMAR GUSTAW, STANISŁAW MLEKO, SYLWIA ANDRUSZCZAK

## **WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE MIESZANIN GUMY KSANTANOWEJ I RÓŻNYCH RODZAJÓW SKROBI**

### **Streszczenie**

Celem pracy było określenie właściwości reologicznych mieszanin skrobi z gumą ksantanową. Żele badanych skrobi wykazywały właściwości pseudoplastyczne i miały granicę płynięcia.

Największą lepkością charakteryzował się kleik z modyfikowanej skrobi ziemniaczanej MSZ (acetylowany adypinian diskrobiowy). Podczas schładzania tego kleiku lepkość wzrastała w sposób ciągły i w temp. 25°C wynosiła 127 mPa·s. Najwyższą wartość granicy płynięcia wśród skrobi ziemniaczanych – 5,36 Pa – osiągnęła skrobia MSZ. Wśród skrobi kukurydzianych najmniej podatna na odkształcenia była modyfikowana skrobia MKW (acetylowany adypinian diskrobiowy uzyskany z kukurydzy woskowej), której granica płynięcia wynosiła 3,53 Pa. Spośród badanych skrobi najbardziej odporne na siły ścinające były kleiki z natywnej skrobi ziemniaczanej NSZ. Dodatek gumy ksantanowej powodował wyraźny wzrost lepkości pozornej skrobi MKW. Największą lepkością, wynoszącą 809 mPa·s w temp. 25°C, charakteryzowała się próba z 0,1% dodatkiem gumy ksantanowej. Wzrost stężenia soli wyraźnie zwiększał lepkość mieszanin MKW-GK, która osiągnęła 950 mPa·s w temp. 25°C, przy 0,5 M stężeniu NaCl.

Majonezy niskotłuszczowe, o 50% zawartości tłuszczu, z dodatkiem badanych polisacharydów miały podobne właściwości do majonezu zawierającego 80–85% tłuszczu. Najlepszą teksturę osiągnęły majonezy zawierające mieszaninę gumy ksantanowej ze skrobią w proporcji 1:4.

**Słowa kluczowe:** tekstura, granica płynięcia, temperatura kleikowania, lepkość pozorna

### **Wstęp**

Nowe wymagania stawiane produktom spożywczym skłaniają do stosowania nowych technologii produkcji i przetwórstwa oraz przyczyniają do użycia wielu niewykorzystywanych dotychczas surowców i dodatków. Stosowanie tych dodatków poprawia jakość i trwałość produktów, obniża koszty produkcji, ułatwia przygotowanie

---

*Mgr inż. B. Sołowiej, dr inż. W. Gustaw, prof. dr hab. S. Mleko, Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa, Akademia Rolnicza w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-950 Lublin, mgr inż. S. Andruszczak, Katedra Roślin Przemysłowych i Leczniczych, AR w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin*

potraw oraz urozmaica dietę. W szczególności, dodatek do żywności takich substancji, jak skrobie modyfikowane oraz inne wielocząsteczkowe hydrokoloidy węglowodanowe (gumy i karageny) może wpływać dodatnio na cechy reologiczne produktu finalnego i umożliwiać wytwarzanie wyrobów o wysokiej jakości.

Hydrokoloidy zapewniają stabilność produktów podczas przechowywania, zapobiegają rozwarstwianiu się roztworów, krystalizacji, umożliwiają regulowanie właściwości reologicznych. Dodatek hydrokoloidów w układach wodnych powoduje zwiększenie lepkości roztworu, a przy wyższej koncentracji zretencjonowanie wody i utworzenie żelu. Niektóre biopolimery, np. guma ksantanowa, mogą imitować właściwości sensoryczne tłuszczu. Gumę ksantanową po raz pierwszy na skalę przemysłową otrzymano w USA przy wykorzystaniu szczepu *Xanthomonas campestris* B-1459 [10]. Roztwory gumy ksantanowej o zawartości polisacharydu powyżej 0,3% charakteryzują się dużą lepkością, mają zdolność słabego płynięcia i są podobne do żelu [6]. Guma ksantanowa tworzy termoodwracalne i elastyczne żele po połączeniu jej z galaktomannanami, takimi jak mączka chleba świętojańskiego, natomiast z gumą guar nie tworzy twardych żeli, ale bardzo lepkie roztwory [7]. Guma ksantanowa odznacza się niezwykłą odpornością na mrożenie, topienie, działanie enzymów, długotrwałe mieszanie czy ogrzewanie mikrofalowe [8]. Mieszanki skrobi z hydrokoloidami wykorzystywane są w przemyśle spożywczym od ponad 50 lat. Jednym z powodów stosowania takich mieszanin jest ograniczenie stosowania skrobi o co najmniej 50%, co pozwala na zmniejszenie kaloryczności wytwarzanej żywności. Wiadomo, że dodatek hydrokoloidów ogranicza synerzę skrobi i poprawia właściwości teksturalne żeli skrobiowych [8]. Interakcje mogą zachodzić pomiędzy amylozą i niskocząsteczkową amylopektyną, wydzielonymi z uszkodzonych gałeczek skrobi, a gumami. Dodatek gum powoduje wzrost sił rozrywających gałeczki skrobi i przez to zwiększa się ilość substancji wypływającej z gałeczek [2].

Celem niniejszej pracy było zbadanie mieszanin skrobi z gumą ksantanową pod względem ich cech reologicznych oraz zastosowanie otrzymanych mieszanin do produkcji majonezów o obniżonej zawartości tłuszczu.

### **Materiał i metody badań**

W badaniach wykorzystano modyfikowaną skrobię kukurydzianą (E-1422 – acetylowany adypinian diskrobiowy) z kukurydzy woskowej (MKW), natywną skrobię ziemniaczaną (NSZ), (National Starch & Chemical, Niemcy), natywną skrobię z kukurydzy woskowej (NKW), natywną skrobię kukurydzianą (NSK) i modyfikowaną skrobię ziemniaczaną (MSZ) (E-1422 – acetylowany adypinian diskrobiowy) – (CLPZ Poznań), gumę ksantanową (GK) (Sigma, USA).

### *Przygotowanie zawiesin skrobi i badania reologiczne*

Zawiesinę skrobi o stężeniu 5% sporządzano w wodzie destylowanej. Zawiesinę mieszano przez ok. 15 min w temp. pokojowej, a następnie otrzymaną próbkę przenoszono do wiskozymetru Brookfield DV-II+. Próbkę podgrzewano do temp. 90°C (z szybkością 1°C/20s) i, w celu określenia temperatury kleikowania skrobi, mierzono jej lepkość, a następnie schładzano do 20°C. Lepkość mierzono w układzie cylindrów współosiowych (Small Sample Adapter) przy prędkości 50 obr./min. W kolejnym doświadczeniu mierzono lepkość kleików skrobiowych w temp. 25°C w zakresie prędkości 0,5–100 obr./min. i wyznaczano współczynniki płynięcia oraz granicę płynięcia. Naprężenie styczne wyznaczano na podstawie równania potęgowego Ostwalda de Waele'a:

$$\tau = K\dot{\gamma}^n$$

gdzie:

$\tau$  – naprężenie styczne [Pa],  $\dot{\gamma}$  – prędkość ścinania [ $s^{-1}$ ],  $n$  – współczynnik płynięcia,  $K$  – lepkość [ $Pa \cdot s$ ].

Granice płynięcia żelu skrobiowego wyznaczano na podstawie wzoru Cassona:

$$\sqrt{\tau} = \sqrt{\tau_0} + \sqrt{\eta \dot{\gamma}}$$

gdzie:

$\tau$  – naprężenie styczne [Pa],  $\tau_0$  – granica płynięcia [Pa],  $\eta$  – lepkość plastyczna [ $Pa \cdot s$ ],  $\dot{\gamma}$  – prędkość ścinania [ $s^{-1}$ ].

Wyniki rejestrowano przy użyciu programu komputerowego Win Gather VI.

### *Przygotowanie mieszanin skrobi z gumą ksantanową*

W wodzie destylowanej sporządzano 5% mieszaniny skrobi MKW z gumą ksantanową o stężeniu: 0,1; 0,5 i 0,025%. W celu porównania sporządzono 5% wodne mieszaniny gumy ksantanowej z NKW.

### *Przygotowanie próbek majonezu*

Majonez otrzymywano w mikserze Zelmer Typ 371.5. Majonez pełnotłuszczowy zawierał 85% oleju rzepakowego, 6,2% kwasu octowego, 1% żółtka, 1,55% cukru i 0,25% soli. Żółtko jaja, cukier, sól były miksowane przy szybkości „4” przez 2 min. Dodawano olej w dawkach 1/20 zaplanowanego dodatku. Przy tej operacji szybkość obrotów zmniejszono do „3”. Kwas octowy 20% dodawano pod koniec dodawania oleju w dawkach 1/10 zaplanowanej ilości.

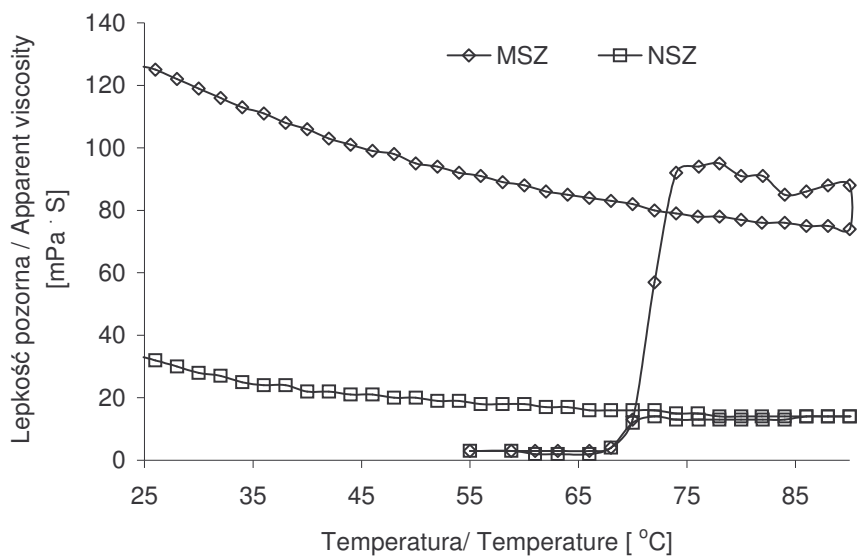
W kolejnej serii badań określano wpływ dodatku mieszaniny skrobi MKW z GK w proporcjach: 1:4, 2:3, 1:1 na właściwości reologiczne niskotłuszczowych majonezów, zawierających 50% oleju rzepakowego.

*Badanie siły wnikania i konsystencji majonezu*

Analizę tekstury majonezu przeprowadzono przy użyciu analizatora tekstury TA-XT2i (Stable Micro Systems, UK). Dokonywano penetracji głowicą cylindryczną o średnicy 36 mm na głębokość 10 mm przy prędkości przesuwu głowicy 1,0 mm/s.

**Wyniki i dyskusja**

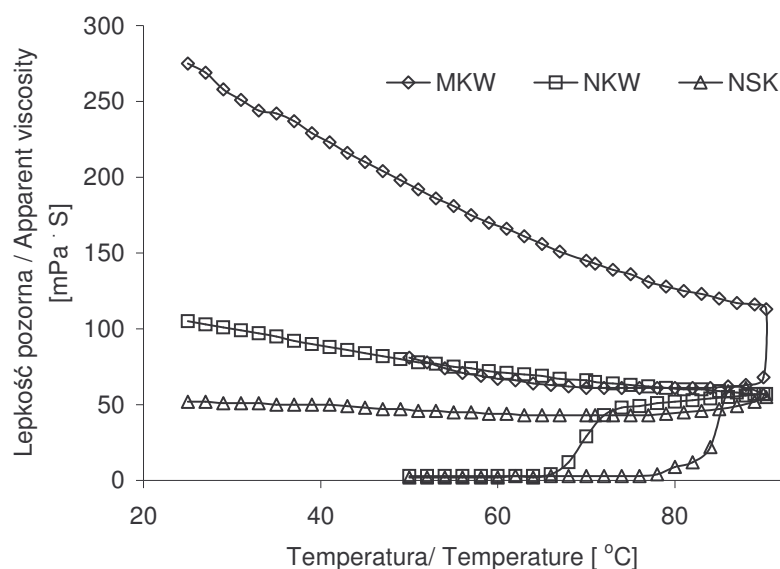
W pierwszej serii przeprowadzono badania skrobi ziemniaczanych (rys. 1). Próbki 5% zawiesin skrobi ogrzewano do temp. 90°C, przetrzymywano w tej temp. przez 5 min, a następnie chłodzono do 25°C. Największą lepkością charakteryzował się kleik ze skrobi ziemniaczanej MSZ. W zakresie temp. 50–60°C lepkość była stała i wynosiła 5–7 mPa·s. Następnie w temp. 68°C zaobserwowano wyraźny wzrost lepkości do 95–100 mPa·s, która utrzymywała się na tym poziomie do osiągnięcia temp. 90°C. Wzrost ten spowodowany był kleikowaniem skrobi. Podczas schładzania kleiku skrobiowego lepkość ciągle wzrastała i w temp. 25°C wynosiła 127 mPa·s. Wzrost lepkości w tym zakresie temperatury spowodowany był żelowaniem skrobi i utrwaleniem się struktury żelowej za pomocą wiązań wodorowych. Natywna skrobia ziemniaczana zachowywała się podobnie, charakteryzowała się jednak wyraźnie mniejszą lepkością. Temp. kleikowania natywnej skrobi ziemniaczanej również wynosiła 68°C.



Rys. 1. Wpływ temperatury na zmiany lepkości pozornej 5% zawiesin skrobi ziemniaczanych.

Fig. 1. The effect of temperature on changes in the apparent viscosity of 5% potato starch suspensions.

W następnej serii badań przeprowadzono oznaczanie lepkości skrobi kukurydzianych (rys. 2). Lepkość roztworów skrobi NKW i NSK w zakresie temp. 50–68°C utrzymywała się na niskim poziomie. Od temp. 68°C lepkość NKW zaczęła wzrastać, a w przypadku skrobi NSK wzrost lepkości zaobserwowano w temp. 80°C. Po przetrzymaniu próbek w temp. 90°C przez 5 min i ochłodzeniu nastąpił dalszy wzrost lepkości. Temp. kleikowania natywnej skrobi kukurydzianej wynosiła 62–74°C, w podobnym zakresie temperatury kleikuje skrobia z kukurydzy o dojrzałości woskowej [8]. Sudhakar i wsp. [12] wyznaczyli temperaturę kleikowania natywnej skrobi kukurydzianej przy użyciu reometru rotacyjnego na poziomie 86,6°C. Inaczej zachowywała się skrobia MKW. Podczas ogrzewania w temp. od 40 do 90°C następował wyraźny spadek lepkości ze 150 do 68 mPa·s. Po przetrzymaniu kleiku w wysokiej temperaturze i ochłodzeniu nastąpił wzrost lepkości ze 110 do 270 Pa·s.



Rys. 2. Wpływ temperatury na zmiany lepkości pozornej 5% zawiesin skrobi kukurydzianych.

Fig. 2. The effect of temperature on changes in the apparent viscosity of 5% maize starch suspensions.

#### Oznaczanie granicy płynięcia i współczynnika płynięcia żeli skrobiowych w temp. 25°C

Granica płynięcia nazywa się najmniejszą wartością naprężenia, przy której próbka zaczyna się odkształcać. Najwyższą granicę płynięcia wykazała skrobia modyfikowana MSZ, a wynosiła ona 5,36 Pa i była zdecydowanie wyższa w porównaniu z natywną skrobią ziemniaczaną (tab. 1).

Wśród skrobi kukurydzianych najmniej podatna na odkształcenia była modyfikowana skrobia MKW, której granica płynięcia wynosiła 3,53 Pa. Nieco

mniejszą granicą płynięcia charakteryzowała się natywna skrobia z kukurydzy o dojrzałości woskowej SD (tab. 1).

Ciecze, których naprężenie zmienia się w sposób wykładniczy wraz ze zmianą prędkości ścinania nazywa się cieczami Ostwalda de Waele'a. Badane próbki skrobi były substancjami pseudoplastycznym. Ich lepkość zmniejszała się wraz ze wzrostem prędkości ścinania. Wyznaczone wartości liczbowe współczynnika płynięcia  $n$  były mniejsze od jedności, co oznacza, że wraz ze wzrostem naprężenia nachylenie prostej stycznej do krzywej płynięcia maleje, czyli maleje lepkość pozorna. Im mniejsza jest wielkość współczynnika płynięcia, tym bardziej substancja jest rozrzedzana wraz ze wzrostem prędkości ścinania. Najmniejszą wartością liczbową współczynnika płynięcia charakteryzowała się skrobia MSZ. Wśród badanych skrobi najbardziej odporne na siły ścinające były kleiki NSZ (tab. 1). Według Shudakara i wsp. [12] współczynnik płynięcia roztworu 5% natywnej skrobi kukurydzianej był dużo większy niż w obecnych badaniach i wynosił 0,75 w temp. pokojowej.

Tabela 1

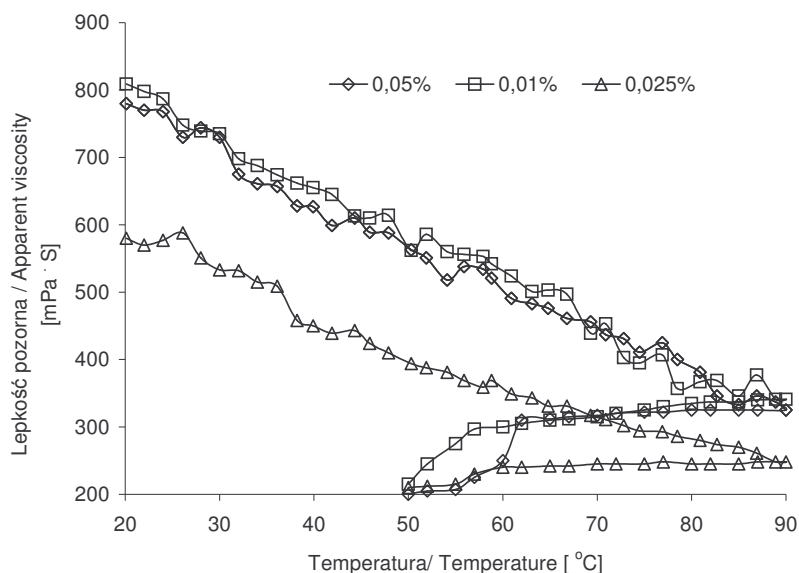
Właściwości reologiczne zawiesin skrobi różnego pochodzenia w temp. 25°C.  
The rheological properties of various types of starch at a temperature of 25°C.

Lp./Pos.	Skrobia Starch	Temp. kleikowania Gelatinization temperature [°C]	Współczynnik płynięcia Flow	Granica płynięcia Yield stress [Pa]	Lepkość w 25°C Viscosity in 25°C [mPa·s]
1	NSZ	68	0,47	1,59	28
2	NKW	70	0,43	3,01	98
3	NSK	80	0,44	0,92	50
4	MSZ	68	0,29	5,36	127
5	MKW	85	0,43	3,53	270

*Wpływ dodatku gumy ksantanowej na właściwości reologiczne zawiesin skrobi modyfikowanej z kukurydzy o dojrzałości woskowej*

Badania przeprowadzane były w podobny sposób jak przy wyznaczaniu temperatury kleikowania i lepkości roztworów różnych skrobi. Zbadano próbki mieszanin skrobi NKW i MKW z dodatkiem GK w różnych proporcjach. W pierwszej serii przeprowadzono badania zmiany lepkości mieszanin pod wpływem temperatury

skrobi MKW (rys. 3). Zaobserwowano wzrost lepkości roztworów wraz ze wzrostem stężenia GK. Przy 0,025 i 0,05% dodatku GK, roztwór mieszany skrobi z polisacharydem kleikował w temp. około 60°C, przy większym stężeniu gumy ksantanowej mieszanina kleikowała już od temp. 50°C. Shudakar i wsp. [12], badając wpływ dodatku gumy ksantanowej do skrobi kukurydzianej, również stwierdzili, że dodatek tego polisacharydu powodował obniżenie temperatury kleikowania roztworu samej skrobi z 86,6 do 73°C po dodaniu 0,25% GK. Podczas chłodzenia mieszaniny do temp. 25°C lepkość znacznie wzrosła. Największą lepkością charakteryzowała się próba przy 0,1% dodatku gumy ksantanowej. Wynosiła ona 809 mPa·s w temp. 25°C. (rys. 3), jednak już 0,05% dodatek GK powodował znaczny wzrost lepkości mieszanin skrobi z gumą.



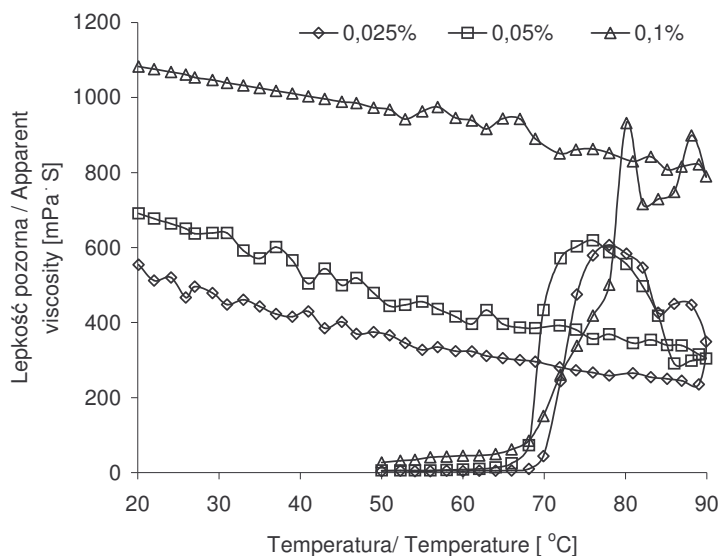
Rys. 3. Wpływ temperatury i stężenia gumy ksantanowej na zmiany lepkości zawiesin natywnej skrobi kukurydzianej z kukurydzy woskowej (NKW).

Fig. 3. The effect of temperature and xanthan gum concentration on changes in the apparent viscosity of native and waxy maize starch suspensions (NKW).

W celu porównania właściwości reologicznych sporządzono roztwory natywnej skrobi kukurydzianej o dojrzałości woskowej z GK w stężeniach 0,025; 0,5 i 0,1% (rys. 4). Podobnie, jak w przypadku skrobi MKW, nastąpił proporcjonalny wzrost lepkości mieszanin przy większych stężeniach GK. W temp. około 69–71°C następowało kleikowanie mieszanin. Podczas dalszego ogrzewania układów do temp. 77–80°C lepkość wzrastała. Dalszy wzrost temp. do 90°C zmniejszał lepkość mieszanin. Spowodowane było to prawdopodobnie tym, że GK ogrzana do temp.



powyżej 80°C zmieniała swą konformację, a także zwiększył się stopień nieuporządkowania tego polisacharydu. Helikalna struktura GK ulega zniszczeniu na skutek działania wysokiej temperatury oraz dużych stężeń soli [13]. Podczas spadku temperatury mieszanin skrobi z GK zaobserwowano powolny wzrost lepkości. Największą lepkość (powyżej 1000 mPa·s) wykazywała mieszanina skrobi natywnej o największej zawartości gumy ksantanowej (0,1%). Abdumola i wsp. [1] zauważyli, że względnie niskie stężenia polisacharydów, takich jak: guma guar, mączka chleba świętojańskiego, karboksymetyloceluloza i ksantan mogą powodować duży wzrost lepkości skrobi, tak podczas procesu kleikowania, jak i przy późniejszym ochładzaniu. Oddziaływania pomiędzy gumą ksantanową a skrobią są ciągle przedmiotem wielu badań [5, 8, 9]. Szczegółowe badania mieszanin skrobi kukurydzianej z galaktomannanami (guma guar lub mączka chleba świętojańskiego) wykazały, że zwiększenie lepkości mieszanin przypisane jest lokalnemu wzrostowi stężenia galaktomannanów, wywołanemu pęcznieniem ziarenek skrobi podczas kleikowania. Sudhakar i wsp. [12] badali mieszaniny skrobi kukurydzianej z dodatkiem polisacharydów przy użyciu wiskografu Brabendera.



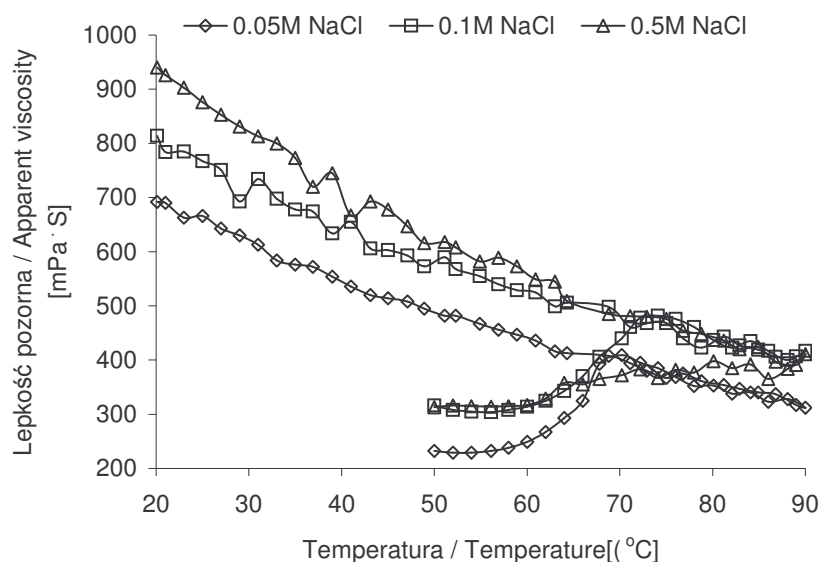
Rys. 4. Wpływ temperatury i stężenia gumy ksantanowej na zmiany lepkości zawiesin modyfikowanej skrobi kukurydzianej z kukurydzy woskowej (MKW).

Fig. 4. The effect of temperature and xanthan gum concentration on changes in the apparent viscosity of modified maize starch suspensions (MKW).

Zaobserwowali, że wzrost stężenia gumy ksantanowej wyraźnie zwiększa lepkość mieszanin 5% roztworu skrobi po ochłodzeniu z 300 jednostek Brabendera (JB) do

1000 JB przy 0,1% dodatku gumy ksantanowej oraz do 1570 JB przy 0,25% dodatku tego polisacharydu.

W kolejnym etapie badań określono wpływ obecności NaCl na lepkość mieszanin skrobi MKW z 0,1% GK (rys. 5). Wzrost stężenia soli wyraźnie zwiększał lepkość badanych mieszanin, która osiągnęła 950 mPa·s w temp. 25°C, przy 0,5 M stężeniu NaCl. Podobne wyniki uzyskali Sudhakar i wsp. [13], badając wpływ różnych soli na kleikowanie mieszanin skrobi kukurydzianej (5%) z gumą ksantanową (0,1%). Wzrost lepkości badanych mieszanin tłumaczono zwiększeniem objętości ziarenek skrobi, po przyłączeniu kationów z roztworu.



Rys. 5. Wpływ temperatury i stężenia NaCl na zmiany lepkości zawiesin modyfikowanej skrobi kukurydzianej z kukurydzy woskowej (MKW).

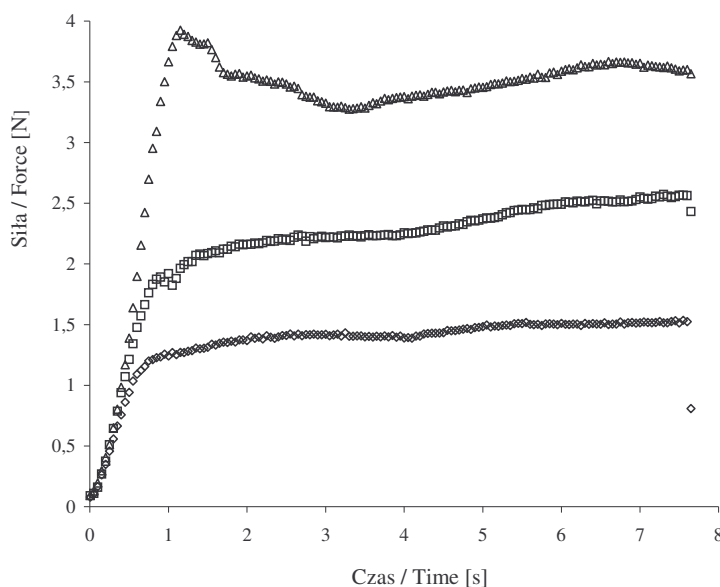
Fig. 5. The effect of temperature and NaCl concentration on changes in the apparent viscosity of modified maize starch suspensions (MKW).

Odmienne zachowywały się mieszaniny NKW z GK sporządzone w roztworach soli. Zaobserwowano wyraźny spadek ich lepkości w porównaniu z mieszaninami sporządzonymi w wodzie destylowanej (dane nie zamieszczone).

#### Otrzymywanie majonezów o obniżonej kaloryczności

Korzystne właściwości reologiczne mieszanin gumy ksantanowej z MKW i ich stałość w obecności chlorku sodu wskazują na możliwość zastosowania tych dodatków jako zamienników tłuszczu w niskotłuszczowych majonezach (rys. 6). Najmocniejszą teksturą charakteryzowały się majonezy z dodatkiem mieszaniny skrobi z ksantanem w

proporcjach 1 : 4. Taki majonez był produktem o cechach sensorycznych porównywalnych z majonezem zawierającym 80% oleju roślinnego. Wraz ze wzrostem stężenia skrobi tekstura otrzymanych majonezów była coraz mniej zwarta. Już wcześniej próbowano otrzymać emulsje tłuszczowe o zwiększonej zawartości wody, nawet do 75%, przez zastosowanie mieszanin białek serwatkowych i skrobi. Otrzymany produkt miał charakter słabego żelu [3]. W innych pracach stosowano mieszaniny skrobi modyfikowanej i alginianów sodu, jak również kazeinian sodu, a także mieszaninę żelatyny z maltodekstrynami [4]. Po dodaniu mieszaniny żelatyny z maltodekstrynami otrzymana emulsja miała teksturę bardziej smarowną i mniej lepłą w porównaniu z emulsją z dodatkiem mieszaniny skrobi modyfikowanej i alginianu sodu.



Rys. 6. Wpływ dodatku mieszaniny polisacharydów guma ksantanowa : skrobia modyfikowana MKW na teksturę majonezów.

Fig. 6. The effect of addition of polysaccharide mixtures: xanthan gum: modified maize starch (MKW) on the texture of mayonnaise.

## Wnioski

1. Dodatek gumy ksantanowej do zawiesin skrobiowych istotnie zwiększał ich lepkość.
2. W obecności NaCl mieszaniny modyfikowanej skrobi kukurydzianej z kukurydzy o dojrzałości woskowej z gumą ksantanową miały większą lepkość.

3. Zastosowanie mieszanin modyfikowanej skrobi kukurydzianej z gumą ksantanową w majonezach pozwoliło na zmniejszenie zawartości tłuszczu bez pogorszenia ich tekstury i wyglądu zewnętrznego.

### Literatura

- [1] Abdumola N., Hember M., Richardson R., Maris E.: Effect of xanthan on the small-deformation rheology of crosslinked and uncrosslinked waxy maize starch. *Carbohydr. Polym.*, 1996, **31**, 65-78.
- [2] Christianson D., Hodge J., Osborne D.; Detroy R.: Gelatinization of wheat starch as modified by xanthan gum, guar gum and cellulose gum. *Cereal Chem.*, 1981, **58**, 513-517.
- [3] Chronakis I.S., Kaspis S.: A rheological study on the application of carbohydrate-protein incompatibility to the development of fat commercial spreads. *Carbohydr. Polym.*, 1995, **28**, 367-373.
- [4] Clegg S.M., Moore A.K., Jones S.A.: Low fat margarine spreads as affected by aqueous phase hydrocolloids. *J. Food Sci.*, 1996, **61**, 1073-1079.
- [5] Eidam D., Kulicke W., Khun K., Stute R.: Formation of maize starch gels selectively regulated by the addition of hydrocolloids. *Starch*, 1995, **47**, 378-384.
- [6] Goycoolea F.M., Richardson R.K., Moris E.R., Gidley M.J.: Stechiometry and conformation of xanthan in synergistic gelation with locust bean gum or konjac glucomannan: evidence for heterotypic binding. *Macromolecules*, 1995, **28**, 8308-8320.
- [7] Gustaw W., Achremowicz B., Mleko S.: Wpływ NaCl na właściwości reologiczne wybranych hydrokolidów i ich mieszanin. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **18**, 38-48.
- [8] Imeson D.: *Thickening and gelling agents for food*. Blackie Academic and Professional. New York 1997.
- [9] Korus J., Juszcak L., Witczak M., Achremowicz B., Influence of selected hydrocolloids on triticale starch rheological properties. *Int. J. Food Sci. Techn.*, 2004, **39**, 641-652.
- [10] Lee M., Baek M., Cha D., Park H., Lim S.: Freeze-thaw stabilization of sweet potato starch gel by polysaccharide gums. *Food Hydrocoll.*, 2002, **16**, 345-352.
- [11] Sanderson G.R.: *Gums and their use in food systems*. Food Technol., 1981, **12**, 51-83.
- [12] Sudhakar V., Singhal R., Kulkarni P.: Effect of sucrose on starch-hydrocolloid interactions. *Food Chem.*, 1995, **52**, 281-284.
- [13] Sudhakar V., Singhal R., Kulkarni P.: Studies on starch-hydrocolloid interactions: effect of salts. *Food Chem.*, 1995, **53**, 405-408.

### RHEOLOGICAL PROPERTIES OF MIXTURES OF XANTHAN GUM AND STARCHES OF VARIOUS TYPES

#### S u m m a r y

The objective of this study was to investigate rheological properties of xanthan gum/starch mixtures. Gels of starches investigated showed pseudo-plastic properties and had a flow limit.

A pap starch made of modified potato starch MSZ (acetylated distarch adipate) showed the highest viscosity. While cooling this pap, its viscosity continuously grew and was 127 mPa·s at a temperature of 25°C. Also, the MSZ starch gels had the highest flow limit (5.36 Pa). As for maize starches, the modified MKW starch (acetylated distarch adipate produced from waxy maize) proved to be of the lowest deformability. Its flow limit was 3.53 Pa. Among all starches studied, pap of the native potato starch NSZ proved to be the most resistant to shear forces. The addition of xanthan gum increased the apparent

viscosity of MKW pap starch. A sample containing 0.1% of xanthan gum added had the highest viscosity (809 mPa·s) at 25°C. The increase in the salt concentration (0.5M concentration of NaCl) evidently increased the viscosity of MKW-GK mixtures, which was 950 mPa·s at 25°C. Low-fat mayonnaises (50% of fat) plus polysaccharides added had properties similar to properties of a mayonnaise containing 80% to 85% of fat. The best texture had mayonnaises with xanthan gum/starch mixture added at a rate of 1:4.

**Key words:** texture, flow limit, gelatinization temperature, apparent viscosity 

IWONA ŚCIBISZ, MARTA MITEK, KATARZYNA SERWINOWSKA

## AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA SOKÓW I PÓLKONCENTRATÓW OTRZYMANYCH Z OWOCÓW BORÓWKI WYSOKIEJ (*VACCINIUM CORYMBOSUM L.*)

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian właściwości przeciwutleniających i zawartości polifenoli podczas kolejnych etapów otrzymywania soków i półkoncentratów z owoców dwóch odmian borówki wysokiej – Earlyblue i Bluecrop.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że owoce obu odmian borówki wysokiej charakteryzowały się dużą aktywnością przeciwutleniającą wynoszącą odpowiednio 30,9  $\mu\text{M}$  Troloxu/g owoców (Earlyblue) i 41,2  $\mu\text{M}$  Troloxu/g owoców (Bluecrop). Straty ogólnej pojemności przeciwutleniającej soku surowego w stosunku do owoców wynosiły 55%, podczas gdy wytloki charakteryzowały się aż 32% (Bluecrop) i 46% (Earlyblue) aktywnością początkową owoców. Procesy wstępnej obróbki miazgi (rozdrabnianie, maceracja oraz tłoczenie) zmniejszały właściwości przeciwutleniające otrzymanych produktów w porównaniu z wyjściowym surowcem.

**Słowa kluczowe:** borówka wysoka, aktywność przeciwutleniająca, półkoncentraty, soki.

### Wstęp

Borówka wysoka (*Vaccinium corymbosum L.*) jest rośliną uprawną pochodzącą z Ameryki Północnej. W Polsce pojawiła się niedawno i wzbudziła zainteresowanie zarówno konsumentów, jak i producentów żywności. Owoce borówek charakteryzują się wysoką aktywnością przeciwutleniającą, wynikającą z zawartości polifenoli, w tym szczególnie antocyjanów [4]. Od kilku lat odnotowuje się dynamiczny wzrost produkcji tych owoców, co stwarza także możliwości ich technologicznego wykorzystania. Na świecie najbardziej rozpowszechnionym kierunkiem przerobu jest produkcja mrożonek, ale także otrzymywane są dżemy, wsady jogurtowe, nadzienia cukiernicze oraz soki, które są cenionym dodatkiem do soków mocno kwaśnych [1]. Stosowane procesy

---

Mgr inż. I. Ścibisz, dr hab. M. Mitek, prof. SGGW, mgr inż. K. Serwinowska, Katedra Technologii Żywności, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, SGGW, ul. Nowoursynowska 159C, 02-787 Warszawa

technologiczne w produkcji soków (rozdrabnianie, maceracja, pasteryzacja, itp.) wpływają niekorzystnie na labilne składniki owoców. Zawartość antocyjanów podczas produkcji koncentratu zmienia się zarówno pod względem ilościowym, jak i jakościowym [17].

W nielicznych badaniach nad wpływem procesów technologicznych na zmiany aktywności przeciwutleniającej przetworów z borówki wysokiej ustalono, że najbardziej wrażliwymi składnikami owoców są antocyjany, których zawartość w produkcie finalnym, jakim jest sok zagęszczony, kształtuje się na poziomie kilkunastu procent w porównaniu z zawartością oznaczoną w owocach [9, 17]. W Polsce, jak dotąd, nie prowadzono badań nad tym kierunkiem przerobu borówki, w związku z tym w niniejszej pracy podjęto badania nad otrzymaniem soków i półkoncentratów z owoców borówki wysokiej. Określono zmiany pojemności przeciwutleniającej oraz poziomu składników o charakterze przeciwutleniającym, (polifenoli, w tym antocyjanów) podczas kolejnych procesów technologicznych.

Celem pracy było określenie wpływu poszczególnych etapów produkcji soków i półkoncentratów z borówki wysokiej na jakość produktów finalnych.

### **Material i metody badań**

Owoce borówki wysokiej pobrane do badań pochodziły z Gospodarstwa Sadowniczego w Piskórcie koło Prażmowa. Badaniami objęto dwie odmiany owoców: Early-blue (zbiór: 25.07.2003) oraz Bluecrop (zbiór: 01.08.2003). Owoce świeże o masie 3 kg wstępnie przebrano, aby usunąć owoce nienadające się do przerobu, a następnie rozdrobniono w celu ułatwienia procesu maceracji. W procesie maceracji użyto preparatu enzymatycznego Rapidase®BE firmy Gist-Brocades International B.V. (Charlotte, N.C., USA), w dawce 0,25 g/kg, przeznaczonego do depektynizacji miazg z owoców kolorowych. Proces maceracji prowadzony był w temp. 50–52°C przez 2 godz. Po tym czasie miazgę poddano tłoczeniu w laboratoryjnej prasie warstwowej. Wydajność procesu tłoczenia wynosiła 80%. Otrzymany sok surowy poddano filtracji z wykorzystaniem ziemi okrzemkowej, a następnie rozlano do ciemnych butelek o poj. 0,33 dm<sup>3</sup> i podano pasteryzacji w temp. 90°C przez 30 min. W celu otrzymania półkoncentratu spasteryzowany sok poddano zagęszczeniu w wyparce Büchi w temp. 40°C. Otrzymane półkoncentraty znormalizowano do zawartości ekstraktu wynoszącego 45%.

Badaniami objęto próbki soków surowych, klarownych, pasteryzowanych, zagęszczonych, a także wytłoków. Próbki przechowywano przez kilka dni w temp. -25°C do czasu przeprowadzenia badań.

Cześć analityczna pracy obejmowała charakterystykę podstawowego składu chemicznego owoców borówki, a także otrzymanych z nich soków i półkoncentratów. Określano zawartość ekstraktu refraktometrycznego za pomocą refraktometru Abbego

[3], kwasowość miareczkową wyrażoną jako kwas cytrynowy [14], zawartość cukrów bezpośrednio redukujących i sacharozy metodą Luffa-Schoorla [3] oraz zawartość kwasu askorbinowego [13]. Ponadto oznaczano aktywność przeciwutleniającą z rodnikami ABTS\* wytwarzanymi z syntetycznego substratu – kwasu 2,2'-azinnobis(3-etylbentiazolino-6-sulfonowego) pod wpływem metmioglobiny aktywowanej przez dodatek nadtlenu wodoru [11]. Zawartość polifenoli ogółem oznaczano metodą z odczynnikami Folin-Ciocalteu`a [12]. Czynnikiem ekstrahującym był 70% wodny roztwór acetonu. Wyniki podano w przeliczeniu na kwas galusowy. Antocyjany ogółem oznaczano metodą Fuleki i Francis [5]. Wyniki podano w przeliczeniu na cyjanidynę.

### Wyniki i dyskusja

Uzyskane w pracy wyniki podstawowego składu chemicznego owoców i soków otrzymanych z dwóch odmian borówki wysokiej zestawiono w tab. 1. Ekstrakt owoców oznaczony metodą refraktometryczną kształtował się na poziomie 15,0% (odmiana Earlyblue) oraz 15,3% (odmiana Bluecrop). Otrzymane wartości są wyższe od danych literaturowych. Haffner i wsp. [6] oraz Sapers i wsp. [16] podają, że ekstrakt owoców różnych odmian borówek uprawianych w Niemczech oraz USA kształtuje się w granicach od 11,2 do 14,6%. Owoce jagodowe, w tym także owoce borówki wysokiej, charakteryzują się niewielką zawartością sacharozy. W tym przypadku było to 0,7% w owocach odmiany Earlyblue oraz 0,6% w odmianie Bluecrop. Badane owoce, jak i otrzymane soki charakteryzowały się niską kwasowością ogólną w przeliczeniu na kwas cytrynowy. W owocach odmiany Earlyblue wynosiła ona 0,2%, natomiast w owocach odmiany Bluecrop 0,6%. Większość autorów [4, 10, 16] podaje, że kwasowość miareczkowa owoców borówki wysokiej waha się w granicach od 0,4 do 1,4%. Zależy ona od odmiany, warunków klimatycznych i agrotechnicznych, a przede wszystkim od dojrzałości owoców [6]. Owoce borówki wysokiej nie są bogatym źródłem kwasu askorbinowego, gdyż jego ilość nie przekraczała 6,5 mg/100 g w soku pasteryzowanym otrzymanym z owoców odmiany Bluecrop.

W tab. 2. przedstawiono zmiany aktywności przeciwutleniającej, zawartość polifenoli ogółem oraz antocyjanów w owocach, wyciekach, sokach i półkoncentraty. W celu lepszego zilustrowania faktycznych zmian zawartości poszczególnych składników oraz aktywności przeciwutleniającej zachodzących podczas kolejnych etapów produkcji półkoncentratu, przedstawione dane wyrażono zarówno w przeliczeniu na 1 g produktu gotowego, jak i na 1 g surowca użytego do produkcji. Przeliczając otrzymane wyniki analiz na 1 g (lub 100 g) surowca uwzględniono wydajność etapu tłoczenia (która w przypadku soków wynosiła 80%) oraz straty na poszczególnych etapach procesu technologicznego otrzymywania półkoncentratu. Podczas rozdrabniania, maceracji i tłoczenia straty wynosiły 5,2% (Earlyblue) oraz 5,0% (Bluecrop). Podczas



procesu filtracji odnotowano 7% strat w sokach otrzymanych z odmiany Earlyblue oraz 5% w sokach z odmiany Bluecrop.

Tabela 1

Podstawowy skład chemiczny owoców oraz soków otrzymanych z borówki wysokiej odmiany Earlyblue i Bluecrop.

The basic chemical composition of blueberry fruits and juices produced from Earlyblue and Bluecrop highbush blueberry cultivars.

Skład chemiczny Chemical composition	Owoce Fruits		Sok pasteryzowany Pasteurized juice	
	Earlyblue	Bluecrop	Earlyblue	Bluecrop
	x ± SD	x ± SD	x ± SD	x ± SD
Ekstrakt Extract [%]	15,0 ± 0,1	15,3 ± 0,1	14,5 ± 0,1	16,0 ± 0,1
Cukry bezpośrednio redukujące Directly reducing saccharides [%]	13,6 ± 0,3	14,4 ± 0,2	14,4 ± 0,1	15,8 ± 0,2
Sacharoza Saccharose [%]	0,70 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
pH	4,0 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,1 ± 0,1
Kwasowość miareczkowa [% kwasu cytrynowego] Titrativity [% of citric acid]	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,8 ± 0,1
Kwas askorbinowy Ascorbic acid [mg/100 g]	5,1 ± 0,2	4,2 ± 0,1	6,3 ± 0,1	6,5 ± 0,1

x – wartość średnia/mean value;

SD – odchylenie standardowe/standard deviation.

Wstępne etapy produkcji, takie jak: rozdrabnianie, maceracja miazgi i tłoczenie, powodowały znaczne zmiany aktywności przeciwutleniającej, co wynikało zarówno ze strat polifenoli ogółem, jak i antocyjanów. Otrzymany sok surowy charakteryzował się aktywnością przeciwutleniającą na poziomie 18,2  $\mu\text{M}$  Troloxu/ml soku (Earlyblue) oraz 22,6  $\mu\text{M}$  Troloxu/ml soku (Bluecrop). Po uwzględnieniu wydajności tłoczenia, straty aktywności przeciwutleniającej soku wynosiły 55% w stosunku do owoców. Otrzymany sok surowy charakteryzował się znacznie mniejszą zawartością polifenoli i antocyjanów w porównaniu z surowcem. Otrzymane wytloki charakteryzowały się średnio 40% aktywnością przeciwutleniającą świeżych owoców. Wartości kształtowały się na poziomie 96,7  $\mu\text{M}$  Troloxu/g wytlóków z owoców odmiany Earlyblue i 90,1  $\mu\text{M}$  Troloxu/g wytlóków z odmiany Bluecrop. Straty aktywności przeciwutleniającej w pierwszych etapach produkcji (rozdrabnianie, maceracja, tłoczenie) wynosiły

Tabela 2

Aktywność przeciwutleniająca, zawartość antocyjanów i polifenoli ogółem w owocach, wyłokach, sokach oraz sokach zagęszczonych, otrzymanych z dwóch odmian borówki wysokiej.

Antioxidant activity, anthocyanin and total phenolic content in fruits, pomaces, juices and concentrated juices produced from two highbush blueberry cultivars.

Produkt Product	Odmiana Cultivar	Aktywność przeciwutleniająca Antioxidant activity		Zawartość antocyjanów Total anthocyanins		Zawartość polifenoli ogółem Total phenolics	
		$\mu\text{M}$ Troloxu g produktu $\mu\text{M}$ Trolox equivalents / gproduct x $\pm$ SD	$\mu\text{M}$ Troloxu g owoców $\mu\text{M}$ Trolox equivalents/g blueberries	mg/100 g produktu mg/100 g product x $\pm$ SD	mg/100 g owoców mg/100 g blueberries	mg/100 g produktu mg/100 g product x $\pm$ SD	mg/100 g owoców mg/100 g blueberries
Owoce Fruits	Earlyblue	30,9 $\pm$ 2,3	30,9	274,4 $\pm$ 22,5	274,4	484,7 $\pm$ 20,4	484,7
	Bluecrop	41,2 $\pm$ 1,1	41,2	195,7 $\pm$ 23,4	195,7	606,8 $\pm$ 21,4	606,8
Wyłoki Pomaces	Earlyblue	96,7 $\pm$ 1,6	14,3	910,5 $\pm$ 25,9	134,7	1605,6 $\pm$ 33,3	237,6
	Bluecrop	90,1 $\pm$ 4,1	13,5	473,3 $\pm$ 27,4	70,9	1322,3 $\pm$ 13,4	198,3
Sok surowy Raw juice	Earlyblue	18,2 $\pm$ 0,8	14,6	100,3 $\pm$ 2,1	80,0	276,7 $\pm$ 12,3	221,4
	Bluecrop	22,6 $\pm$ 1,4	18,0	106,9 $\pm$ 4,8	85,5	387,3 $\pm$ 7,6	309,8
Sok filtrowany Filtrated juice	Earlyblue	16,9 $\pm$ 0,9	12,6	107,2 $\pm$ 7,4	79,7	248,4 $\pm$ 14,1	184,8
	Bluecrop	20,4 $\pm$ 1,1	15,5	112,1 $\pm$ 5,9	82,9	357,4 $\pm$ 18,6	264,5
Sok pasteryzowany Pasteurized juice	Earlyblue	14,7 $\pm$ 0,7	10,9	100,7 $\pm$ 0,6	74,9	223,5 $\pm$ 7,0	166,3
	Bluecrop	18,6 $\pm$ 0,7	14,1	107,9 $\pm$ 1,1	82,0	307,9 $\pm$ 11,7	234,0
Koncentrat Concentrate	Earlyblue	42,9 $\pm$ 3,1	10,2	303,5 $\pm$ 10,8	71,1	657,3 $\pm$ 16,2	154,7
	Bluecrop	48,4 $\pm$ 0,8	13,1	301,5 $\pm$ 7,3	81,8	822,7 $\pm$ 18,5	223,3

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

około 16%, jeżeli potraktujemy otrzymane wytloki nie jako straty, a jedynie jako jeden z produktów ubocznych możliwy do dalszego wykorzystania technologicznego. Lee i wsp. [9] podają, że straty zawartości polifenoli ogółem podczas maceracji i tłoczenia owoców borówki mogą sięgać nawet 65%. Podobne wyniki otrzymali Skrede i wsp. [17]. Jest to przypuszczalnie efekt działania natywnych polifenolooksydaz, które katalizują przemiany degradacyjne polifenoli. Kader i wsp. [7] wykazali, że aktywność polifenolooksydazy odgrywa dominującą rolę w enzymatycznej degradacji antocyjanów borówki wysokiej.

Po procesie klarowania z wykorzystaniem ziemi krzemkowej aktywność przeciwutleniająca soku wynosiła 16,9  $\mu\text{M}$  Troloxu/ml soku w przypadku odmiany Earlyblue oraz 20,4  $\mu\text{M}$  Troloxu/ml soku w przypadku odmiany Bluecrop (tab. 2). Straty aktywności przeciwutleniającej na etapie klarowania wynosiły około 14%, co było głównie związane ze spadkiem zawartości polifenoli, innych niż antocyjany. Po filtracji soki zawierały aż 97% ilości antocyjanów w stosunku do soków surowych.

Pasteryzacja otrzymanych soków w butelkach 0,33 dm<sup>3</sup> w temp. 95°C przez 30 min spowodowała zmniejszenie aktywności przeciwutleniającej średnio o 11%. Aktywność przeciwutleniająca soków pasteryzowanych wynosiła odpowiednio 14,7  $\mu\text{M}$  Troloxu/ml soku otrzymanego z owoców odmiany Earlyblue oraz 18,6  $\mu\text{M}$  Troloxu/ml soku otrzymanego z odmiany Bluecrop. Otrzymane soki wykazywały jedynie około 34% początkowej aktywności przeciwutleniającej świeżych owoców.

Ostatnim etapem technologicznym było zagęszczanie otrzymanych soków do ekstraktu 45%. Straty podczas zagęszczania zarówno aktywności przeciwutleniającej, jak i zawartości antocyjanów i polifenoli ogółem były niewielkie i nie przekraczały 6%. Podobne wyniki otrzymali Lee i wsp. [9], którzy straty antocyjanów i polifenoli ogółem podczas procesu zagęszczania oszacowali na poziomie 5%.

## Wnioski

1. Owoce borówki wysokiej charakteryzowały się wysoką aktywnością przeciwutleniającą, wynoszącą odpowiednio 30,9  $\mu\text{M}$  Troloxu/g owoców (odmiana Earlyblue) oraz 41,2  $\mu\text{M}$  Troloxu/g owoców (odmiana Bluecrop)
2. Etapami produkcji, podczas których dochodziło do największych strat aktywności przeciwutleniającej wynoszącej 55%, były: rozdrabnianie, maceracja i tłoczenie.
3. Pozostałe po procesie tłoczenia wytloki są produktem o wysokiej aktywności przeciwutleniającej. Wydaje się zatem celowe podjęcie prób nad możliwością ich technologicznego wykorzystania.

### Literatura

- [1] Arthey D., Ashurst P. R.: Fruit processing-nutrition, products, and quality management. Aspen Publisher Inc., Maryland 2001.
- [2] Connor A. M., Luby J.J., Hancock J. F., Tong B. S., Finn C.E., Hanson E. J.: Genotypic and environmental variation i antioxidant activity, total phenolic content and anthocyanin content among blueberry cultivars. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 2002, **50**, 893-898.
- [3] Drzazga B.: Analiza techniczna w przemyśle spożywczym. Cz. ogólna. WSiP, Warszawa 1999.
- [4] Ehlenfeld M. K., Prior R.L.: Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. J. Agric. Food Chem., 2001, **49**, 2222-2227
- [5] Fuleki T., Francis F.J.: Quantitative methods for anthocyanins. J. Food Sci. 1968, **33**, 72-76
- [6] Haffner K., Vestrheim S., Gronnerod K.: Qualitätseigenschaften von Kulturheidelbeersorten *Vaccinium corymbosum* L. Erwerbsobstbau, 1998, **40**, 112-116.
- [7] Kader F., Rovel B., Girardin M., Metche M.: Mechanism of browning in fresh highbush blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L.). Role of blueberry polyphenol oxidase, chlorogenic acid and anthocyanins. J.Sci. Food Agric., 1997, **74**, 1, 31-34.
- [8] Kalt W., McDonald J. E., Donner H.: Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. J. Food Sci., 2000, **65**, 3, 390-393.
- [9] Lee J., Drust R. W., Wrolstad R. E.: Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics; comparison of two pretreatments. J. Food Sci., 2002, **67**, 5, 1660-1667.
- [10] Lenartowicz W., Zbroszczyk J., Plocharski W.: The quality of highbush blueberry fruit, Fruit Science Report, 1990, **18**, 2, 77-85.
- [11] Miller N. J., Rice-Evancs C.: Spectrophotometric determination of antioxidant activity, Redox Report, 1996, **2**, 3, 161-171.
- [12] Peri C., Pompei G.: An assay of different phenolic fraction in wines. Am. J. Enol. Vitic., 1971, **22**, 2, 55.
- [13] PN-A-04019:1998. Produkty spożywcze. Oznaczenie zawartości witaminy C.
- [14] PN-90/A-75101/04. Przetwory owocowe i warzywne. Oznaczenie kwasowości ogólnej.
- [15] Prior R. L., Cao G., Martin A., Sofic E., McEwen J., O'Brien C., Lischner N., Ehlenfeld M., Kalt W., Krewer G., Mainland C.: Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of vaccinium species. J. Agric. Food Chem., 1998, **46**, 2686-2693.
- [16] Sapers G.M, Burgher A. M., Phillips J. G., Jones S. B.: Color and composition of highbush blueberry cultivars. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 1984, **109**, 1, 105-111.
- [17] Skrede G., Wrolstad R. E., Durst R. W.: Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). J.Food Sci., 2000, **65**, 2, 357-364.

#### ANTIOXIDANT ACTIVITY OF JUICES AND SEMI-CONCENTRATES PRODUCED FROM HIGHBUSH BLUEBERRY FRUITS (*VACCINIUM CORYMBOSUM* L.)

#### S u m m a r y

The objective of the study was to determine changes in the antioxidant properties and content of polyphenols, which occurred during the ensuing phases of making juices and semi-concentrates from two cultivars of highbush blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L., cv. Earlyblue, Bluecrop).

On the basis of the results obtained, it was stated that fruits of the two highbush cultivars of blueberries showed a high antioxidant activity the level of which was as follows: Earlyblue cultivar – 30.9  $\mu\text{M}$  Trolox equivalents per g fresh weight; Bluecrop cultivar -41.2  $\mu\text{M}$  of Trolox equivalents per g fresh weight. Losses in the total antioxidant capacity of raw juices with regard to fruits used were 55%, whereas the pomaces produced were characterized by as much as 32% (Bluecrop) and 46% (Earlyblue) of the initial antioxidant activity of fruits. During individual phases of the initial processing of fruit pulp (crushing, maceration, and pressing), the antioxidant properties of products obtained were reduced if compared with the initial raw material used.

**Keywords:** highbush blueberry, antioxidant activity, semi-concentrates, juices. ☒

INGRID WACHOWICZ, EWA CZARNIECKA-SKUBINA

## WPLYW PROCESU KULINARNEGO NA WYBRANE MIERNIKI JAKOŚCI MARCHWI I BURAKÓW

### Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu obróbki wstępnej i cieplnej na jakość sensoryczną, zawartość karotenoidów oraz zanieczyszczenia azotanami(III) i (V), kadmem i ołowiem marchwi i buraków, a także zaproponowanie właściwego sposobu obróbki prowadzącego do uzyskania optymalnej jakości potraw z tych warzyw.

Jako najkorzystniejszą metodę gotowania marchwi uznano gotowanie w garnku, rozpoczynając proces od wrzącej wody. Uzyskuje się wtedy marchew o dobrej jakości sensorycznej, niewielkich zmianach zawartości karotenoidów, przy jednoczesnym znacznym usunięciu zanieczyszczeń chemicznych – azotanów(III), azotanów(V), kadmu i ołowiu. Biorąc pod uwagę kumulację zanieczyszczeń chemicznych w marchwi, pochodzącej zwłaszcza z terenów zanieczyszczonych, stwierdzono że połączenie obróbki cieplnej z uprzednim procesem moczenia sprzyja większemu wylugowaniu niekorzystnych związków z tego surowca. Nie należy jednak przekraczać 2 godz. moczenia z uwagi na pogorszenie jakości sensorycznej oraz przypuszczalne równoczesne straty składników odżywczo korzystnych.

Buraki powinny być gotowane w skórce, pomimo że taki proces obróbki cieplnej prowadzi do mniejszego wylugowania azotanów(III) i azotanów(V), ale jakość sensoryczna produktu gotowanego jest wówczas odpowiednia. Najlepsze usunięcie zanieczyszczeń uzyskano w przypadku gotowania buraków starych, lecz jakość tak gotowanego surowca była nieakceptowana sensorycznie.

**Słowa kluczowe:** buraki, marchew, azotany(III) i (V), jakość sensoryczna, proces kulinarny.

### Wprowadzenie

Warunki klimatyczno-glebowe Polski sprzyjają uprawie warzyw korzeniowych. Marchew i buraki są w Polsce bardzo popularne, a nasz kraj znajduje się w czołówce państw produkujących, spożywających i przetwarzających te warzywa.

Popularność marchwi wynika z obecności w jej składzie cennych substancji, takich jak:  $\beta$ -karoten, cukry, białka, witaminy i składniki mineralne [1, 9, 11, 25]. Burak

jest popularny wśród konsumentów głównie ze względu na obecność specyficznych barwników oraz walory sensoryczne i w polskiej kuchni jest wykorzystywany przede wszystkim do przygotowania barszczu czerwonego.

Surowce roślinne, oprócz składników odżywczych, mogą zawierać również substancje nieodżywcze oraz zanieczyszczenia chemiczne, takie jak: azotany(V), azotany(III) czy metale ciężkie (kadm, ołów). Warzywa korzeniowe, w tym marchew i buraki, mają tendencję do kumulowania w swych korzeniach zanieczyszczeń chemicznych [2, 10, 16, 19, 21, 22, 25]. Kadm jest kumulowany w tkankach korzeniowych i łatwo podlega transportowi w roślinie, ołów zaś należy do pierwiastków mało ruchliwych i rośliny kumulują go w korzeniach na skutek zatrzymywania na błonach komórkowych [5, 7, 8]. Ponieważ marchew jest szeroko wykorzystywana w żywieniu niemowląt, dzieci i ludzi starszych, a także w stanach chorobowych, problem obecności w niej zanieczyszczeń chemicznych jest bardzo istotny. Jakość marchwi zależy więc od usunięcia zanieczyszczeń chemicznych przy zachowaniu jak najwyższej zawartości karotenoidów. Natomiast jakość buraków uwarunkowana jest głównie walorami sensorycznymi, przy jednoczesnym usunięciu znacznych ilości zanieczyszczeń chemicznych. Jakość sensoryczna, a w szczególności barwa buraka, wynikająca z zawartości barwnika betalainy obejmującego czerwono-fioletowe betacyjany i żółte betaksantyny, jest ważnym składnikiem jakości. Betacyjany są bowiem nieodporne na działanie podwyższonej temperatury i wody (wymiwanie), dlatego też proces kulinarny prowadzi do rozkładu tych barwników [3, 17, 26].

Końcowa jakość potrawy kształtowana jest nie tylko przez jakość surowca, ale również przez zmiany wartości odżywczej, jakości sensorycznej i poziomu zanieczyszczeń chemicznych, zachodzące podczas procesów technologicznych aż do momentu spożycia przez konsumenta [4, 23]. Na dobrą jakość potraw z surowców roślinnych składają się: ich wysoka wartość odżywcza i jakość sensoryczna oraz niski poziom składników nieodżywczych, zanieczyszczeń chemicznych i mikrobiologicznych.

Większość prowadzonych badań ogranicza się do określenia składu surowców i przetworów, w tym zarówno wartości odżywczej, jak i poziomu zanieczyszczeń chemicznych. Nieliczne prace dotyczą wpływu procesu kulinarnego na jakość warzyw czy opracowania współczesnych zaleceń kulinarnych pozwalających na uzyskanie potrawy o optymalnej jakości. Umiejętne prowadzenie procesu technologicznego pozwala bowiem na zachowanie w potrawie składników korzystnych, a usunięcie niekorzystnych.

Celem podjętych badań było określenie wpływu procesu technologicznego na jakość potraw z warzyw korzeniowych i zaproponowanie właściwych warunków prowadzenia tego procesu.

## Material i metody badań

Materiał badawczy stanowiły: marchew odmiany Perfekcja i buraki odmiany Czerwona Kula, pochodzące z upraw tradycyjnych od jednego producenta. Do oceny zanieczyszczenia marchwi kadmem i ołowiem pobierano próby marchwi z upraw w województwie katowickim.

Obróbkę wstępną warzyw prowadzono w następujący sposób:

- marchew myto, usuwano uszkodzone części, obierano i krojono w kostkę 7 x 7 x 7 mm lub ćwiartki wzdłuż korzenia. Po obraniu marchew w ilości po 0,5 kg moczono w zależności od stopnia rozdrobnienia (cała, ćwiartki krojone wzdłuż, kostka), w 900 ml wody wodociągowej w ciągu 0,5; 1; 2 i 4 godz.,
- buraki myto, usuwano uszkodzone części, obierano i krojono w kostkę (2 cm x 2 cm), a także ścierano na tarce o grubych oczkach.

Warzywa w ilości po 0,5 kg gotowano 6 metodami:

- w garnku przy rozpoczęciu procesu od wrzącej wody,
- w garnku przy rozpoczęciu procesu od zimnej wody,
- w szybkowarze w wodzie,
- w szybkowarze w parze,
- w kuchni mikrofalowej,
- w garnku akutermicznym.

W przypadku buraków, podczas gotowania w garnku przy rozpoczęciu procesu od wrzącej i od zimnej wody, zastosowano również materiał doświadczalny w postaci: w całości ze skórką, w całości po obraniu i po rozdrobnieniu w kostkę oraz po starciu na tarce. Marchew natomiast w każdym przypadku była gotowana po rozdrobnieniu w kostkę, z uwagi na fakt, że w Polsce jest to bardzo popularny sposób jej gotowania. Czas gotowania obu warzyw w przypadku każdej z metod ustalono eksperymentalnie, w oparciu o sensoryczną ocenę konsystencji, metodą skali werbalnej [12], w którym 80% oceniających uznało konsystencję warzyw za najkorzystniejszą. Ustalone eksperymentalnie warunki gotowania przedstawiono w tab. 1.

W warzywach po obróbce wstępnej i cieplnej określano: wydajność; zawartość suchej masy w marchwi i burakach wg PN [14]; zawartość sumy karotenoidów i  $\beta$ -karotenu w marchwi – metodą kolorymetryczną wg PN [15]; zawartość azotanów(V) i azotanów(III) w marchwi i burakach – metodą kolorymetryczną wg normy ISO [13]; zawartość kadmu i ołowiu w marchwi – metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej (GFAAS) przy użyciu spektrometru AA-Scan I firmy Thermo Jarell Ash. Corp. z zastosowaniem korekcji tła typu Smith-Hieftje, pomiaru dokonywano przy długości fali 228,8 nm (kadm) i 217 nm (ołów) [28]; jakość sensoryczną ugotowanej marchwi i buraków metodami niestrukturowanej skali graficznej i metodą kolejności [12].

Tabela 1



Warunki gotowania marchwi i buraków.  
Cooking conditions of carrots and beetroots.

Metoda gotowania Cooking method	Surowiec Raw material	Stopień rozdrobnienia Degree of granulation	Ilość wody Amount of water [ml]	Czas gotowania Cooking time [min]
W garnku rozpoczynając proces od wrzącej wody In a pot; the cooking starts in boiling water	Marchew Carrot	Kostka Cubes	700	28
	Buraki Beetroots	Kostka/ Cubes	1000	36
		Starte /grated		16
		Całe ze skórką/ Whole with peel		70
Całe obrane/ Whole after peeling	70			
W garnku rozpoczynając proces od zimnej wody In a pot; the cooking starts in cold water	Marchew Carrot	Kostka Cubes	700	30
	Buraki Beetroots	Kostka/ Cubes	100	40
		Starte/ Grated		20
		Całe ze skórką Whole roots with peel		80
Całe obrane Whole roots without peel		80		
W szybkowarze w wodzie In a pressure cooker with water	Marchew Carrot	Kostka Cubes	700	11
	Buraki Beetroots	Kostka Cubes	1000	20
W szybkowarze w parze In a pressure cooker steaming	Marchew Carrot	Kostka Cubes	200	10
	Buraki Beetroots	Kostka Cubes	200	20
W kuchni mikrofalowej In a microwave oven	Marchew Carrot	Kostka Cubes	50	18
	Buraki Beetroots	Kostka Cubes	100	27
W garnku akutermicznym In an acothermal pot	Marchew Carrot	Kostka Cubes	50	30
	Buraki Beetroots	Kostka Cubes	100	45

Oceny dokonywał 10-osobowy zespół, przeszkolony w zakresie analizy sensorycznej; barwę buraków określono instrumentalnie za pomocą aparatu Minolta Chroma Meters CR-300 w systemie L\*a\*b\* (CIE systems). Parametry barwy mierzono przy źródle światła C. W celu oceny zmian barwy wyliczono wartości  $\Delta E$  ze wzoru:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

gdzie  $\Delta E$  – trwałość barwy,  $L^*$  – jasność barwy,  $a^*$  – chromatyczność w zakresie czerwono-zielonym,  $b^*$  – chromatyczność w zakresie żółto-niebieskim.

Na każdym etapie eksperymentu doświadczenie powtarzano trzykrotnie, każdorazowo wykonując trzy powtórzenia, a przy oznaczeniach instrumentalnych barwy wykonywano po 10 pomiarów w trzech powtórzeniach.

Analiza statystyczna wyników obejmowała określenie odchylenia standardowego oraz analizę wariancji przy użyciu programu Statgraphics 5.

## Wyniki i dyskusja

### *Wpływ obróbki wstępnej warzyw korzeniowych na wybrane mierniki jakości*

Wyniki badań dotyczące wpływu procesu obierania na badane składniki w marchwi i burakach przedstawiono w tab. 2.

Ustalono, że w badanej marchwi skórka stanowiła średnio 15% korzenia, podczas gdy kora 43,2%, a rdzeń 41,8%. Obieranie marchwi sprzyjało usuwaniu kadmu (12,6%) i ołowiu (56,8%), nie powodując zmian zawartości azotanów(III), przy wzroście zawartości azotanów(V) (15,1%). Sugeruje to, że największe ilości kadmu i ołowiu znajdują się w skórce, natomiast azotany(III) i azotany(V) w wewnętrznych częściach korzenia marchwi. Jednocześnie po obraniu marchwi stwierdzono niewielkie zmniejszenie zawartości karotenoidów i  $\beta$ -karotenu, odpowiednio o 6,7 i 8,2%. Według Wieczorek i wsp. [25], moczenie marchwi zmniejsza poziom karotenoidów o 4,4%, a azotanów(V) i azotanów(III), odpowiednio o 20 i 58%, w zależności od stopnia rozdrobnienia.

Obieranie buraków (wydajność obróbki wstępnej wynosiła średnio 83,7%) powodowało usunięcie azotanów(V), jak i azotanów(III) odpowiednio o 20 i 6,6%, co sugerowałyby inny rozkład tych związków w korzeniu buraka. Według niektórych autorów [18, 20], burak charakteryzuje się nierównomiernym rozkładem azotanów(V) i azotanów(III) w samym korzeniu i w różnych korzeniach pochodzących z tej samej uprawy, a jego obieranie i mycie sprzyja usuwaniu tych skażeń, odpowiednio o 20 i 40%, czyli podobnie jak w poniższych badaniach.

Podsumowując można powiedzieć, że obieranie warzyw korzeniowych, takich jak marchew i buraki jest korzystne z punktu widzenia bezpieczeństwa spożycia, ze względu na usuwanie zanieczyszczeń chemicznych oraz poprawę jakości sensorycznej uzyskanej potrawy.

Z uwagi na wykorzystywanie marchwi w żywieniu niemowląt, dzieci i ludzi starszych, a także w stanach chorobowych, problem usuwania zanieczyszczeń chemicznych jest bardzo istotny, dlatego postanowiono zbadać wpływ moczenia marchwi na zawartość zanieczyszczeń chemicznych. Wyniki przedstawiono w tab. 3.

Tabela 2

Zmiany zawartości wybranych składników w burakach i marchwi po procesie obierania.  
Changes in some selected components in beetroots and carrot after the peeling process. n = 9.

Warzywo Vegetable	Oznaczany składnik Component	Zawartość/ Content		Zmiana po obraniu [%] Changes after the peeling
		Ze skórką With peel	Bez skórki Peeled	
Marchew Carrot	Sucha masa / Dry matter [%]	11,8 ± 0,2	12,1 ± 0,5	↑ 2,2
	Σ karotenoidów Carotenoid content [mg/100 g]	14,9 ± 0,1	13,9 ± 0,4	↓ 6,7
	β-karoten / β-carotens [mg/100 g św.m.]	12,2 ± 0,2	11,2 ± 0,2	↓ 8,2
	Azotany(V) / Nitrates(V) [mg NaNO <sub>3</sub> /kg św.m.]	483 ± 17	556 ± 33	↑ 15,1
	Azotany(III) / Nitrates(III) [mg NaNO <sub>2</sub> /kg św.m.]	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	Bez zmian/no changes stated
	Kadm / Cadmium [mg/kg]	0,079 ± 0,001	0,069 ± 0,003	↓ 12,6
	Ołów / Lead [mg/kg]	0,206 ± 0,001	0,089 ± 0,002	↓ 56,8
Buraki Beetroots	Sucha masa Dry matter [%]	14,7 ± 0,2	14,1 ± 0,3	↓ 4,1
	Azotany(V) / Nitrates(V) [mg NaNO <sub>3</sub> /kg św.m.]	553,5 ± 27,8	442,4 ± 29,1	↓ 20
	Azotany(III) / Nitrates(III) [mg NaNO <sub>2</sub> /kg św.m.]	2,29 ± 0,21	2,14 ± 0,09	↓ 6,6

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie, ± odchylenia standardowe / In the Table, there are mean value, ± standard deviation;

↑ – oznacza procentowy wzrost zawartości danego składnika / means a per cent increase in a given component content;

↓ – oznacza procentowe zmniejszenie zawartości danego składnika / means a per cent decrease in a given component content.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że w miarę wydłużania czasu moczenia i wzrostu rozdrobnienia marchwi zwiększa się stopień usuwania azotanów(V) i azotanów(III), przy maksymalnie 13-procentowych stratach karotenoidów. Dwugodzinne moczenie marchwi prowadziło do usunięcia azotanów(V) o ok.15–24%, azotanów(III) o 19–37,5%, kadmu o 4,9–11,6% i ołowiu o 3–16%, w zależności od stopnia rozdrobnienia. Przedłużanie czasu moczenia powyżej 2 godz. powodowało zmiany jakości sensorycznej po ugotowaniu – marchew była pozbawiona specyficznego smaku, dlatego nie zaleca się przekraczania tego okresu moczenia. Wiadome jest, że równocześnie z usuwaniem składników niekorzystnych żywieniowo, w czasie moczenia mogą ulegać wyługowaniu składniki wartościowe pod względem odżywczym,

Tabela 3

Zmiany zawartości karotenoidów, azotanów(III) i azotynów(V) w marchwi poddanej moczeniu.  
Changes in the content of carotenoids, nitrates(III) and nitrites(V) in carrots after the soaking proces. n = 9.

Marchew Carrot	Czas moczenia [godz.] Soaking time [h]	Zmiany zawartości składników [%] Changes in the content of the components as indicated below [%]						
		s.m. / dry matter [%]	Σ karotenoidów carotenoids [mg/100 g]	azotany(V) nitrites(V) [mg NaNO <sub>2</sub> /kg]	azotany(III) nitrates(III) mg NaNO <sub>3</sub> /kg	kadmi / cadmium mg/100 g s.m.	ołów / lead mg/100 g s.m.	
Niemoczona* Non-soaked	0	12,1 ± 0,4	13,9 ± 0,4	556,37 ± 12	0,8 ± 0,1	0,470	0,102	
	0,5	↓ 7,4	b.z.	↓ 1,04	↓ 10	±0,001	±0,001	
	1	↓ 9,9	↓ 0,7	↓ 8,6	↓ 12,5	mg/100 g s.m.	mg/100 g s.m.	
	1,5	↓ 10,7	↓ 2,2	↓ 13,9	↓ 16,3	---	---	
Cała (moczona) Whole roots were soaked	2	↓ 11,6	↓ 2,6	↓ 14,8	↓ 25	↓ 4,9	↓ 3,0	
	0,5	↓ 17,4	↓ 2,2	↓ 3,7	b.z.	↓ 6,3	↓ 1,0	
	1	↓ 18,2	↓ 3,8	↓ 10,4	↓ 6,25	↓ 9,0	↓ 2,0	
	1,5	↓ 24	↓ 5,8	↓ 15,3	↓ 13,7	----	----	
Ćwiartki wzdłuż (moczone) A quarter (cut lon- gitudinally) of the root (soaked)	2	↓ 24,8	↓ 6,5	↓ 20,3	↓ 18,8	↓ 9,3	↓ 8,8	
	0,5	↓ 22,3	↓ 7,4	↓ 6,1	↓ 6,3	↓ 6,5	↓ 3,4	
	1	↓ 23,1	↓ 8,8	↓ 13,2	↓ 21,3	↓ 9,4	↓ 2,9	
	1,5	↓ 27,3	↓ 10,8	↓ 18,9	↓ 27,5	-----	-----	
Kostka (moczona) Cubes (soaked)	2	↓ 31,4	↓ 12,5	↓ 24,2	↓ 37,5	↓ 11,6	↓ 16,0	

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\* – podano faktyczne zawartości badanych składników w marchwi niemoczonej / Real levels of components contained in non-soaked carrots studied;

↑ – oznacza procentowy wzrost zawartości danego składnika / means a per cent increase in a given component content;

↓ – oznacza procentowe zmniejszenie zawartości danego składnika / means a per cent decrease in a given component.

np. sole mineralne, co nie było przedmiotem tego opracowania, ale co także powinno się uwzględnić proponując stosowanie tego etapu produkcyjnego. Dlatego też proces moczenia po obraniu zaleca się przede wszystkim przy obróbce kulinarnej marchwi pochodzącej z terenów zanieczyszczonych.

*Wpływ obróbki cieplnej warzyw korzeniowych na wybrane mierniki jakości*

Wyniki wpływu obróbki cieplnej na zawartość badanych składników i jakość sensoryczną marchwi i buraków przedstawiono w tabelach 4., 5. i 6.

T a b e l a 4

Wpływ metody gotowania marchwi i buraków na wydajność kulinarną, [%].

The effect of the method of cooking carrots and beetroots on the culinary efficiency [%].

Metoda gotowania Cooking method	Surowiec Raw material	Stopień rozdrobnienia Degree of granulation	Wydajność Efficiency
W garnku rozpoczynając proces od wrzącej wody In a pot; the cooking starts in boiling water	Marchew / Carrot	Kostka / Cubes	97,7
	Buraki / Beetroots	Kostka/ Cubes	96,9
		Starte/ Rubbed	93,6
		Całe ze skórką / Whole with peel	96,5
W garnku rozpoczynając proces od zimnej wody In a pot; the cooking starts in cold water	Marchew / Carrot	Kostka / Cubes	97,3
	Buraki / Beetroots	Kostka/ Cubes	96,7
		Starte/ Grated	94,3
		Całe ze skórką / Whole root with peel	97,1
W szybkowarze w wodzie In a pressure cooker with water	Marchew / Carrot	Kostka / Cubes	97,0
	Buraki / Beetroots	Kostka / Cubes	96,8
W szybkowarze w parze In a pressure cooker steaming	Marchew / Carrot	Kostka / Cubes	94,4
	Buraki / Beetroots	Kostka / Cubes	90,6
W kuchni mikrofalowej In a microwave oven	Marchew / Carrot	Kostka / Cubes	82,6
	Buraki / Beetroots	Kostka / Cubes	57,7
W garnku akutermicznym In an acuthermal pot	Marchew / Carrot	Kostka / Cubes	93,3
	Buraki / Beetroots	Kostka / Cubes	91,1

Tabela 5

Zmiany zawartości badanych składników w marchwi i burakach gotowanych różnymi metodami.  
Changes in the content of components in carrot and beetroots investigated occurring while cooking them using different methods.

Metoda gotowania Cooking method	Surowiec Raw material	Stopień rozdrobienia Degree of grinding	Zmiany zawartości składników po ugotowaniu [%] Changes in the content of components after the completed cooking process [5]						Jakość Overall quality [10 cm]
			S.m Dry matter	Σkarotenoidów Carotenoids	Azotany(V) Nitrites(V)	Azotany(III) Nitrates(III)	Kadm Cadmium	Ołów Lead	
Surowiec* Raw material	Marchew Carrot	C	12,1% ±0,5	13,9±0,4 mg/100g	556±33 mg NaNO <sub>3</sub> /kg	0,8±0,1 mg NaNO <sub>2</sub> /kg	0,069±0,003 mg/kg	0,089±0,002 mg/kg	
	Buraki Beetroots	B	14,7% ±0,2		553,5± 27,8 mgNaNO <sub>3</sub> /kg	2,29± 0,21 mg NaNO <sub>2</sub> /kg			
		C	14,1% ±0,2		442,4± 29,1 mgNaNO <sub>3</sub> /kg	2,14± 0,09 mg NaNO <sub>2</sub> /kg			
W garnku rozpoczynając proces od wrzącej wody In a pot, the cooking is started when water boils	Marchew / Carrot	A	↓6,7	↓7,1	↓55	↓12,5	↓24,2	↓22,6	8,3±0,4
	Buraki Beetroots	B	↓3		↓9	↓14,3			8,9±0,7
		C	↓4,3		↓10	↓21			8,4±0,5
		A	↓42,6		↓55,2	↓61,2			6,4±0,8
W garnku rozpoczynając proces od zimnej wody In a pot, the cooking is started when water is cold	Marchew / Carrot	A	↓45,4		↓58	↓65,4			5,4±0,5
	Buraki Beetroots	B	↓8,3	↓8,6	↓56,9	↓25	↓27,7	↓32,8	7,6±0,5
		C	↓4,1		↓12,8	↓18,7			8,5±0,6
		A	↓7,8		↓15,4	↓26,2			8,0±0,4
W szybkowarze w wodzie In a pressure cooker, in water	Marchew / Carrot	D	↓44		↓66,2	↓69,6			5,8±0,6
	Buraki Beetroots	A	↓46,8		↓68,7	↓72			4,8±0,5
	Marchew / Carrot	A	↓2,5	↓1,4	↓28	↓37,5	↓19,8	↓14,4	7,7±0,4
	Buraki Beetroots	A	↓37,6		↓48,4	↓55,1			5,2±0,8

c.d. tabeli 5

W szybkowarze w parze In a pressure cooker, steaming	Marchew / Carrot	A	↑ 8,3	↑ 2,8	↑ 8,4	bez zmian	↑ 25,3	↑ 15,8	8,0±0,3
	Buraki / Beetroots	A	↓ 6,4		↓ 7,9	↓ 15,4			8,3±1,0
W kuchni mikrofalowej In a microwave oven	Marchew / Carrot	A	↑ 26,6	↑ 17,9	↑ 13,1	↓ 6,2	↑ 38,9	↑ 26	7,8±0,3
	Buraki / Beetroots	A	↑ 28,4		↑ 23,2	↑ 19,2			7,4±1,0
W garnku akutermicznym In an acuthermal pot	Marchew / Carrot	A	↑ 4,2	↑ 0,7	↓ 2	↓ 25	↑ 6,2	↑ 8,9	7,9±0,6
	Buraki / Beetroots	A	↑ 2,1		↓ 5,8	↓ 13,1			8,1±0,8

W tabeli przedstawiono wartości średnie, ± odchylenie standardowe. Stopień rozdrobnienia: A – kostka, B – cały korzeń ze skórką, C – cały korzeń po obraniu, D – starte,

In the Table, there are shown average data, ± standard deviation, Degree of granulation: A – cubed, B – the whole root with peel, C – the whole root after peeling, D – grated;

Pozostałe oznaczenia jak w tab. 3. / Other designations as in Tab. 3.

Tabela 6

Wpływ sposobu gotowania i stopnia rozdrobnienia na jakość sensoryczną i barwę buraka mierzoną instrumentalnie.

The effect of a cooking method and a degree of granulation on the sensory quality and colour of beetroots n=30.

Stopień rozdrobnienia Degree of granulation	Metoda gotowania Cooking methods	Jakość ogólna Overall quality	L*	a*	b*	a/b	Δ E
Całe Whole roots	Surowe Raw materials	-----	25,5 ± 0,5 b	+ 14,4 ± 0,5 e	- 1,6 ± 0,3 b	9,2	-
Całe ze skórką Whole root with peel	I	8,5 ± 0,6a	23,8 ± 0,6 a	+ 9,6 ± 0,5 a	- 0,7 ± 0,2 a	14,5	5,21
	II	8,9 ± 0,7a	23,7 ± 0,5 a	+ 9,7 ± 0,4 a	- 0,7 ± 0,2 a	13,8	5,17
Całe obrane Whole roots after peeling	I	8,0 ± 0,4a	24,0 ± 0,6 a	+ 10,9 ± 0,2 b	- 1,1 ± 0,3 a, b	10,2	3,84
	II	8,4 ± 0,5a	24,1 ± 0,7 a	+ 11,1 ± 0,3 b, c	- 1,2 ± 0,4 a, b	9,7	3,58
Kostka Cubes	I	5,8 ± 0,6b	25,9 ± 0,5 b	+ 11,6 ± 0,5 b, c	+ 1,6 ± 0,3 b	7,5	4,21
	II	6,4 ± 0,8b	25,6 ± 0,4 b	+ 11,7 ± 0,6 c	+ 1,4 ± 0,3 b	8,6	4,01
Starte Grated	I	4,8 ± 0,5c	26,0 ± 0,5 b	+ 13,5 ± 0,4 d	+ 3,0 ± 0,3 c	4,5	4,67
	II	5,4 ± 0,5b	25,9 ± 0,4 b	+ 13,6 ± 0,6 d	+ 3,1 ± 0,4 c	4,4	4,72

W tabeli przedstawiono wartości średnie, ± odchylenie standardowe;

Metody gotowania: I – w garnku rozpoczynając od zimnej wody, II – w garnku rozpoczynając od wrzącej wody,

Jakość ogólna oceniana metodą niestrukturowanej skali graficznej,

Współczynniki: L\* – jasność; „a\*” – chromatyczność w zakresie czerwono- zielonym; „b\*” – chromatyczność w zakresie żółto-niebieskim; a/b – nasycenie barwy; ΔE – zmiana barwy;

Wyniki oznaczone tymi samymi literami w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie między sobą;

In the Table there are mean data, ± standard deviation;

Cooking method: A - In a pot, the cooking starts in cold water; B - In a pot, the cooking stars in boiling water

Overall quality estimated by a non-structural graphical scale;

Coefficients: L\* – brightness; "a\*" – the red-green range of chromaticity; "b\*" – the blue-yellow range of chromaticity, a/b – saturation of the colour; ΔE – changes in the colour;

a, b... – the same letter in each column designate statistically insignificant differences between the results.



### *Marchew*

Gotowanie marchwi w dużej ilości wody powodowało zmniejszenie zawartości suchej masy, niewielkie straty karotenoidów do 9%, dość znaczne usunięcie azotanów(V) o 28–57% i azotanów(III) o 12,5–37,5%, a także kadmu o 20–28% i ołowiu o ok. 14–33%. Wielu autorów [4, 21, 24, 25] wskazuje, że proces gotowania warzyw w wodzie najlepiej sprzyja usuwaniu zanieczyszczeń azotanami(III) i azotanami(V), co jest wynikiem przechodzenia tych związków do wody. Należy jednak pamiętać, że w procesie gotowania następuje także wymywanie rozpuszczalnych w wodzie składników, głównie cukrów i soli mineralnych, co ma również wpływ na zmniejszenie zawartości suchej masy.

Gotowanie marchwi z dodatkiem małej ilości wody lub w parze, z uwagi na znaczne odparowanie wody z surowca, prowadziło do wzrostu zawartości suchej masy, karotenoidów o 1–18%, azotanów(V) o 8–13%, kadmu o 6–39% i ołowiu o 9–26%. W przypadku zawartości azotanów(III) obserwowano wahania, zarówno wzrost, jak i spadek ilości tych związków.

Gotowanie marchwi w dużej ilości wody powoduje wchłonięcie wody, ekstrahuje cukry, sprzyja zarówno koncentracji, jak i rozkładowi karotenoidów, natomiast gotowanie w małej ilości wody lub w parze z uwagi na znaczne odparowanie (wzrost zawartości suchej masy) powoduje koncentrację badanych związków.

Najlepszą jakość sensoryczną uzyskano w przypadku marchwi gotowanej w garnku, przy rozpoczęciu procesu od wrzącej wody. Dobrą jakością charakteryzowała się również marchew gotowana w małej ilości wody lub w parze.

Gotowanie uprzednio moczonej marchwi pokrojonej w kostkę, w garnku przy rozpoczęciu procesu od wrzącej wody powodowało zmniejszenie zawartości karotenoidów o 14%, ubytki azotanów(V) o 58,5%, bez zmian pozostawała zawartość azotanów(III). W miarę wydłużania czasu moczenia uzyskiwano coraz gorszą jakość sensoryczną ugotowanej marchwi, dlatego nie należy przekraczać czasu moczenia powyżej 2 godz.

### *Buraki*

Gotowanie buraków w dużej ilości wody powodowało wylugowanie azotanów(V) i azotanów(III), odpowiednio o 48–69% i 55–72%. Gotując buraki przy użyciu małej ilości wody lub pary stwierdzono znacznie mniejsze spadki zawartości azotanów(V) (6–8%) i azotanów(III) (13–15%) niż w przypadku gotowania w szybkowarze w parze i w garnku akutermicznym, i znaczny wzrost zawartości azotanów(V) gotując w kuchni mikrofalowej (23%) z uwagi na wzrost suchej masy spowodowany odparowaniem wody z buraków. Najlepsze usunięcie azotanów(V) i azotanów(III) odpowiednio, o 55–69% i 61–72%, uzyskano podczas gotowania buraków startych lub pokrojonych w kostkę w garnku, rozpoczynając proces od zimnej i wrzącej wody.

Szponar i wsp. [20] stwierdzili po gotowaniu buraków zmniejszenie poziomu azotanów(V) i azotanów(III) o 50%. Zalewski [27] podaje, że specyfika lokalizacji skażeń pozwala na zaproponowanie modyfikacji procesu kulinarnego, w którym można stosować obieranie, moczenie i gotowanie w wodzie.

Z uwagi na fakt, że w przypadku buraków ważnym wyróżnikiem jakości jest barwa dokonano oceny jakości sensorycznej i instrumentalnego pomiaru barwy buraków, o różnym stopniu rozdrobnienia, po ugotowaniu za pomocą dwóch metod (w garnku, rozpoczynając proces od zimnej i od wrzącej wody).

Najlepsze oceny jakości sensorycznej (tab. 6) uzyskano w przypadku buraków gotowanych w całości ze skórką, zarówno przy rozpoczęciu procesu od zimnej, jak i wrzącej wody (nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy tymi metodami). Obieranie i rozdrabnianie surowca przed gotowaniem powodowało znaczne pogorszenie jakości sensorycznej. Najgorszą jakość uzyskano gotując starte buraki. Ocena instrumentalna barwy potwierdziła te wyniki. Jednoczynnikowa analiza wariancji wykazała, że sposób gotowania statystycznie istotnie wpływa na jasność barwy i współczynniki trójchromatyczne a i b. Gotowanie w dużej ilości wody w stosunku do surowca świeżego powodowało wzrost wartości  $L^*$  – pojaśnienie barwy, a w przypadku metod z małą ilością wody lub w parze – spadek wartości  $L^*$  – pociemnienie barwy. Grzebińska [6] stwierdziła również lepsze parametry barwy mierzonej instrumentalnie w przypadku buraków gotowanych bez wody w porównaniu z burakami gotowanymi w wodzie.

Zmiany barwy ( $\Delta E$ ) buraków gotowanych, w stosunku do buraków świeżych, pogłębiały się proporcjonalnie do rozdrobnienia. Największe zmiany zabarwienia zaobserwowano w przypadku buraków gotowanych w skórce, ale jak wskazują wyniki oceny sensorycznej jest to zmiana odczuwana przez oceniających jako korzystna – pociemnienie barwy (wzrost nasycenia barwy – a/b).

Podsumowując, gotowanie buraków w skórce lepiej zabezpiecza barwniki przed ich zmianami.

## Wnioski

1. Proces obierania warzyw korzeniowych (marchwi i buraków) przyczynia się do znaczącego usunięcia zanieczyszczeń chemicznych, takich jak azotany(III) i (V).
2. Jako najkorzystniejszą metodę gotowania marchwi należy uznać gotowanie w garnku, przy rozpoczęciu procesu od wrzącej wody. Uzyskuje się wówczas produkt kulinarny o dobrej jakości sensorycznej i zachowanych karotenoidach, przy jednoczesnym znacznym usunięciu zanieczyszczeń chemicznych (azotanów(III) i (V), kadmu, ołowiu).
3. Obróbka cieplna marchwi, pochodzącej zwłaszcza z terenów zanieczyszczonych, powinna być poprzedzona procesem moczenia, co sprzyja większemu wylugowa-

- niu niekorzystnych związków z tego surowca; nie należy jednak przekraczać 2 godzin moczenia z uwagi na pogorszenie jakości sensorycznej.
4. Buraki powinny być gotowane w skórce, wówczas możliwość wyługowania azotanów(III) i (V) jest mniejsza, ale uzyskuje się dobrą jakość sensoryczną (szczególnie pod względem barwy) produktu kulinarnego. Najwięcej zanieczyszczeń usuwa się w przypadku gotowania buraków startych, ale jakość tak gotowanego surowca jest nieakceptowana sensorycznie.

### Literatura

- [1] Bhaskarachary K., Sankar Rao D.S., Deosthale Y.G., Reddy V.: Carotene content of some common and less familiar foods of plant origin. *Food Chem.*, 1995, **54**, 189.
- [2] Borawska M., Omieljaniuk N., Rostkowski J., Otlog T., Hamid F.: Zawartość azotanów i azotynów w wybranych warzywach i ziemniakach, dostępnych w sprzedaży w Białymstoku w latach 1991-1992. *Roczniki PZH*, 1994, XLV, **1-2**, 89-96.
- [3] Czapski J., Sobkowska E.: Krajowe preparaty barwników czerwonych z buraka ćwikłowego. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 1990, **11-12**, 40.
- [4] Czarniecka-Skubina E., Gołaszewska B., Zalewski S.: Kształtowanie jakości warzyw w procesie kulinarnym. *Mat. XXX Sesji Nauk. KTiChŻ PAN. Kraków 1999*, s. 151.
- [5] Ewers U., Frezer I., Turfeld M., Brochhaus A., Hofstetter I., König W., Leisner-Saab J., Delschen T.: Untersuchungen zur Schwermetallbelastung von Böden und Gartenprodukten aus Stolberger Hausgärten und zur Blei – und Cadmiumbelastung von Kleingärtern aus Stolberg. *Gesundheitswesen*, 1993, **6(55)**, 318.
- [6] Grzesińska W.: Porównanie barwy warzyw gotowanych w różnych garnkach. *Żywność, Technologia, Jakość*, 1998, **3 (16)**, 97-105.
- [7] Gutormsen G.: Cadmium and lead levels in Norwegian vegetables. *Norwegian Agric. Sci.*, 1990, **4**, 95.
- [8] Kabata-Pendias A., Pendias H.: *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. PWN, Warszawa 1993.
- [9] Kopas-Lane L.M., Warthesen J.J.: Carotenoid photostability in raw spinach and carrots during cold storage. *J. Food Sci.*, 1995, **4(60)**, 773.
- [10] Lyons D.J., Rayment G.E., Nobbs P.E., McCallum L.E.: Nitrate and nitrite in fresh vegetables from queensland. *J. Sci. Food Agric.*, 1994, **64**, 279.
- [11] Łużyński Z., Sikora Z.: Ocena przydatności do mrożenia nowych odmian marchwi. *Chłodnictwo*, 1990, **25**, 5-6, 24.
- [12] PN-ISO 4121: 1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
- [13] ISO 6635-1984 [E]. Fruits, vegetables and derived products – determination of nitrate and nitrite content. Molecular absorption spectrometric method.
- [14] PN-90/A-75101/03: Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [15] PN-90/A-75101/12: Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości sumy karotenoidów i  $\beta$ -karotenu.
- [16] Rutkowska G.: Badania zawartości azotanów i azotynów w warzywach uprawianych konwencjonalnie i ekologicznie. *Przem. Spoż.*, 1999, **6**, 47-49.
- [17] Sobkowska E., Kaczmarek R., Czapski J.: Czynniki wpływające na jakość buraka ćwikłowego jako surowca w przetwórstwie i do produkcji barwników. *Przem. Ferm. Owoc. Warzyw.*, 1991, **2**, 18.

- [18] Sokołow O.A.: Osobienności raspriedielenia nitratów w owościach, Kartofel i Owoszczi, 1987, **6**, 21-23.
- [19] Sozańska B.: Badania nad kształtowaniem się pozostałości azotynów i azotanów w marchwi w zależności od warunków przechowywania. Prace Inst.Lab. Bad. Przem. Spoż., 1990, **42**, 101.
- [20] Szponar L., Mieszko T., Kierkowska E.: Azotany i azotyny w produktach spożywczych surowych oraz poddanych obróbce wstępnej i termicznej, Roczniki PZH, 1981, **2**, 129-134.
- [21] Szponar L., Traczyk I.: Azotany i azotyny w żywności, racjach pokarmowych i płynach biologicznych. Żyw. Człow., 1995, **1(22)**, 66.
- [22] Walker R.: Nitrates, nitrites and n-nitrosocompounds. a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. Food Addit. Contam., 1990, **6(7)**, 717.
- [23] Walker A., West A., Lawson J.: The nutritional quality of vegetables processed by traditional cook-serve and meals assembly techniques. "Culinary Arts and Sciences". Global and National Perspectives, Computational Mechanics Publications Southampton Boston, 1996, p. 325.
- [24] Walkowiak-Tomeczak D., Grajek W., Nowak A., Czapski J.: Akumulacja azotanów w warzywach i metody ich usuwania. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1995, **1**, 25-27.
- [25] Wieczorek C., Motyka M., Pecka W., Zalewski S.: Effect of culinary processes on nitrate, nitrite and carotenoids content in carrot. Pol. J. Food Nutr. Sci., 1994, **3/44**, 3, 127.
- [26] Zalewski S. (red.): Podstawy technologii gastronomicznej. WNT. Warszawa 2003.
- [27] Zalewski S.: Kształtowanie jakości potraw z warzyw. Przeg. Gastr., 1994, **5**, 5-7.
- [28] Oznaczanie kadmu i ołowiu metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej (GFAAS) na podstawie metodyki opracowanej w Zakładzie Analiz Fizykochemicznych SGGW.


#### THE EFFECT OF A CULINARY PROCESS ON SOME SELECTED QUALITY PARAMETERS OF CARROTS AND BEETROOTS

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

There were two main objectives of the paper: to determine the effect of pre-treatment and heat treatment of carrots and beetroots on their sensory quality, on the content of carotenoids in them, as well as on their contamination with nitrates(III) and nitrates(V), cadmium and lead; to suggest a suitable treatment method ensuring optimal quality of dishes from the products treated.

It was stated that the best method of cooking carrots involved starting the cooking in a pot with boiling water. By making so, the carrots cooked showed a good sensory quality; changes in the carotenoids were the lowest; and, at the same time, the amount of chemical contaminants: nitrates(III) and nitrates(V), as well as of cadmium and lead essentially decreased. With regard to the chemical contaminants accumulation in carrots, in particular in those grown in polluted areas, it was also found that a combination of heat treatment and soaking process preceding the cooking enhanced the leaching out process of contaminants from this vegetable. It was also stated that when carrots were soaked longer than 2 hrs, their sensory quality was reduced, and, probably, losses in the content of their beneficial nutritious components happened.

It is recommended to cook non-peeled beetroots, although, effects of the leaching out process of nitrates(III) and nitrates(V) are reduced; on the other hand, the sensory quality of the product being cooked is suitable. The best results of removing contaminants were obtained when grated beetroots were cooked, but their sensory quality was not satisfactory.

**Key words:** red beetroots, carrot, nitrates (III) and (V), sensory quality, culinary process. 

ANNA ŻBIKOWSKA, KRZYSZTOF KRYGIER

## **WPLYW SKŁADU KWASÓW TŁUSZCZOWYCH NA CECHY MIĘKISZU CIAST BISZKOPTOWO-TŁUSZCZOWYCH**

### **Streszczenie**

Celem podjętych badań było określenie wpływu głównych grup kwasów tłuszczowych tłuszczów zastosowanych do wytworzenia ciast biszkoptowo – tłuszczowych na jakość ich miękiszu.

Dokonano charakterystyki chemicznej (skład kwasów tłuszczowych) i fizycznej ośmiu tłuszczów roślinnych i smalcu. Przeprowadzono ocenę właściwości fizycznych i sensorycznych miękiszu gotowych wyrobów otrzymanych przy udziale badanych tłuszczów. Materiał badawczy stanowiły tłuszcze różniące się: zawartością głównych grup kwasów tłuszczowych, temperaturą topnienia i zawartością fazy stałej. Najbardziej zróżnicowane były tłuszcze pod względem zawartości izomerów trans (od 0,2 do 56,7%). Miękisze otrzymanych ciast biszkoptowo-tłuszczowych charakteryzowały się masą właściwą w zakresie od 560 do 504 g/dm<sup>3</sup>. Ich ściśliwość wynosiła od 790 do 1189 N/m, w zależności od zastosowanego tłuszczu. Wykazano korzystny wpływ izomerów trans nienasyconych kwasów tłuszczowych, sumy izomerów trans i nasyconych kwasów tłuszczowych na masę właściwą miękiszu. Wraz ze wzrostem sumy zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych i izomerów trans stwierdzono wzrost ściśliwości miękiszu, odwrotnie w przypadku izomerów cis i niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych.

**Słowa kluczowe:** kwasy tłuszczowe, izomery trans nienasyconych kwasów tłuszczowych, miękisz, ciasta biszkoptowo-tłuszczowe.

### **Wprowadzenie**

Do wyrobów ciastkarskich w zdecydowanej większości stosowane są tłuszcze roślinne lub specjalne tłuszcze dostosowane do poszczególnych rodzajów ciast. W produkcji piekarsko-ciastkarskiej często stosowane są tzw. szorteningi, będące mieszaniną tłuszczów roślinnych i/lub zwierzęcych (np. smalcu) z ewentualnym dodatkiem emulgatorów [16].

Właściwości tłuszczów są uwarunkowane przede wszystkim ich składem kwasowym [6]. Stosowane zarówno w Polsce, jak i za granicą, handlowe tłuszcze do produkcji ciastkarskiej są istotnym źródłem m.in. niekorzystnych żywieniowo izomerów trans (TFA)

---

*Dr inż. A. Żbikowska, prof. dr hab. K. Krygier, Zakład Technologii Tłuszczów i Koncentratów Spożywczych, SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

i nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) [5, 17]. W niektórych krajach, np. w Danii już wprowadzono ograniczenia zawartości TFA w produktach spożywczych do 2% [1].

Ciasta biszkoptowo-tłuszczowe to produkty, do wytworzenia których niezbędne są duże ilości tłuszczów, do 100% w stosunku do masy mąki. Jakość miękiszu jest parametrem mającym istotny wpływ na akceptację rynkową tych wyrobów. Duży dodatek tłuszczu w ciastach biszkoptowo-tłuszczowych czyni strukturę ich miękiszu bardziej delikatną niż w wyrobach biszkoptowych [3, 6]. Z ciast biszkoptowo-tłuszczowych wytwarza się szeroką gamę babek piaskowych, keksów, sękaczy, ciastek (przekładanych, nieprzekładanych) herbatników, mazurków i tortów [2]. O akceptacji tych produktów przez konsumentów w dużej mierze decyduje jakość miękiszu. Przy jego ocenie ważnym parametrem jest jego masa właściwa, im jest ona wyższa tym gorszymi cechami sensorycznymi charakteryzuje się wyrób. Ma ona ścisły związek z pulchnością produktów.

Celem podjętych badań było określenie wpływu głównych grup kwasów tłuszczowych tłuszczów zastosowanych do wytworzenia ciast biszkoptowo – tłuszczowych na cechy ich miękiszu.

Zakres pracy obejmował ocenę parametrów chemicznych, fizycznych i sensorycznych ośmiu tłuszczów roślinnych i smalcu, różniących się składem kwasowym, szczególnie zawartością izomerów trans. Przeprowadzono również szczegółową ocenę jakości miękiszu i podjęto próbę określenia zależności pomiędzy zawartością poszczególnych grup kwasowych w tłuszczach a jakością miękiszu wyrobów gotowych.

### **Materiał i metody badań**

Surowcem do wytworzenia ciast biszkoptowo-tłuszczowych oraz podstawowym materiałem do badań były następujące tłuszcze:

- olej rzepakowy rafinowany „Bartek” (2) (LJ = 106,11), margaryna „Maryna” na bazie oleju rzepakowego (6) (LJ = 72,39), częściowo uwodornione tłuszcze rzepakowe (7) (LJ = 67,26) i (9) (LJ = 74,55) – Zakłady Przemysłu Tłuszczowego w Warszawie;
- częściowo uwodorniony tłuszcz palmowy „MVC” (5) (LJ = 60,33), częściowo uwodorniony olej sojowy „Tuxlo” (8) (LJ = 56,28), tłuszcz palmowy „Summa” (4) (LJ = 53,06), tłuszcz palmowy „Effekta” (3) (52,15) – Lodders Croklaan z Holandii;
- smalec wyborowy (1) (LJ = 51,11) – Zakład Produkcyjny PPH „Sadło-Pol” w Warszawie.

Tłuszcze dobrano tak, aby różniły się zawartością poszczególnych grup kwasów tłuszczowych. Numerację badanych tłuszczów ustalono według wzrastającej zawartości izomerów trans, uznanych za niepożądane w diecie ze względów

zdrowotnych. Wszystkie tłuszcze znajdowały się w okresie przydatności do spożycia i spełniały wymagania norm w zakresie liczby kwasowej i nadtlenkowej.

Ponadto zastosowano mąkę pszenną typu 480 (Młyn Szymanów), świeżą masę jajową (ferma drobiu w Wiśniewie k/Mławy) oraz cukier puder (Cukrownia i Rafineria Chybie S.A.). Mąka charakteryzowała się liczbą glutenową wynoszącą 44, rozptywalnością 8 mm i na tej podstawie uznana została za „dobrą” [14].

Ciasto wykonywano metodą na “zimno” [4], stosując proporcje 1 : 1 : 1 : 1, po 250 g – tłuszczu, cukru, jaj i mąki. Nie stosowano dodatku chemicznych środków spulchniających, aby uniknąć ich wpływu na jakość produktów gotowych.

W badanych tłuszczach oznaczano skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej w aparacie Hewlett Packard 6890 wg PN [9, 10], temperaturę topnienia wg PN ISO [11], zawartość fazy stałej w temp.: 10, 20, 25, 30, 35°C metodą pulsacyjnego rezonansu jądrowego [12].

W ocenie sensorycznej wszystkie badane tłuszcze zostały uznane, przez dziesięcioosobowy zespół, za dobre (zakładając, że ocena dobra obejmuje noty od 3,5 do 4,5 pkt) przy uwzględnieniu odpowiednich norm.

Badania wpływu wybranych tłuszczów na jakość miękiszu ciast biszkoptowo-tłuszczowych wykonano, oceniając sensorycznie i określając instrumentalnie właściwości fizyczne miękiszu. Analizę miękiszu przeprowadzono po 24 godz. od wypieku, zgodnie z zaleceniami Jakubczyka i Habera [14]. Oznaczano masę właściwą miękiszu, oceniano go sensorycznie według zaleceń norm BN [8] i PN [13]. Na podstawie danych literaturowych wiadomo, że możliwe jest przewidywanie jakości wyrobów ciastkarskich poprzez ich instrumentalną ocenę [15]. Dlatego zbadano ściśliwość wykrojonych z wyrobów standaryzowanych sześcianów za pomocą aparatu wytrzymałościowego Zwick 1120.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statgraphics 4.1, stosując analizę regresji (wyliczano współczynniki korelacji).

## **Wyniki i dyskusja**

### *Charakterystyka tłuszczów*

Charakterystykę badanych tłuszczów przedstawiono w tab. 1. Analiza składu kwasowego badanych tłuszczów wykazała, że znacznie różniły się one zawartością głównych grup kwasów tłuszczowych. Dzięki temu możliwe było stwierdzenie ewentualnego wpływu wybranych grup kwasów tłuszczowych na właściwości miękiszu ciast biszkoptowo-tłuszczowych.

Największe różnice dotyczyły zawartości izomerów trans, których w badanych tłuszczach było od 0,2 do 56,7%. Na podstawie danych literaturowych wiadomo, że do wyrobów ciastkarskich stosowane są tłuszcze piekarskie zarówno zawierające powyżej 50% TFA, jak również takie, które izomerów trans nie zawierają prawie wcale [5].

Tabela 1

Chemiczna i fizyczna charakterystyka badanych tłuszczów.  
Chemical and physical characteristic of fats.

Tłuszcz Fat	Badane parametry tłuszczów Analyzed parameters of fats						
	TFA [%]	SFA [%]	TFA+SFA [%]	Suma cis [%]	NNKT [%]	SFC [%]	tt [°C]
1	0,2	45,4	45,5	53,5	7,3	30,6	35,9
2	1,0	8,0	9,0	90,7	29,9	0,0	-
3	1,0	55,1	56,1	43,9	8,2	30,2	37,2
4	11,1	51,3	52,4	47,8	9,0	15,4	34,0
5	15,1	39,2	54,3	45,6	9,5	13,6	33,3
6	19,5	20,5	40,0	59,6	19,8	10,0	29,5
7	49,3	23,8	73,1	26,3	2,1	39,6	41,0
8	56,6	16,0	72,6	27,9	1,3	14,0	29,5
9	56,7	16,5	73,2	26,1	2,0	23,6	30,5

Objaśnienia / Explanatory notes:

1 – smalec / lard, 2 – olej rzepakowy „Bartek” / rapeseed oil „Bartek”, 3 – tłuszcz palmowy „Effekta” / palm oil „Effekta”, 4 – tłuszcz palmowy „Summa” / palm oil „Summa”, 5 – tłuszcz palmowy „MVC” / palm oil „MVC”, 6 – margaryna „Maryna” / margarine „Maryna”, 7 i 9 – częściowo uwodornione oleje rzepakowe / partially hydrogenated rapeseed oils, 8 – częściowo uwodorniony olej sojowy / partially hydrogenated soybean oil.

Omawiane tłuszcze różniły się znacznie pod względem zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) w zakresie od 8,0 do 55,1%. Najmniejszą zawartością SFA charakteryzował się olej rzepakowy, co potwierdziły dane literaturowe [7]. Także olej rzepakowy zawierał najmniej izomerów trans i nasyconych kwasów tłuszczowych razem (9%), a najwięcej tych składników zawierały uwodornione oleje rzepakowe i sojowy (ok. 73%).

W przypadku nienasyconych kwasów tłuszczowych cis (łącznie z NNKT) największą ich zawartością charakteryzował się olej rzepakowy – 90,7% (wartość zbliżona do podanej przez literaturę [7]), a najmniejszą uwodornione tłuszcze rzepakowe i sojowy (ok. 26%). Łączna zawartość korzystnych żywieniowo wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (suma kwasów linolowego i linolenowego, all cis) była największa w oleju rzepakowym – ok. 30,0%, a najmniejsza w uwodornionych tłuszczach rzepakowych i sojowym (ok. 2%).

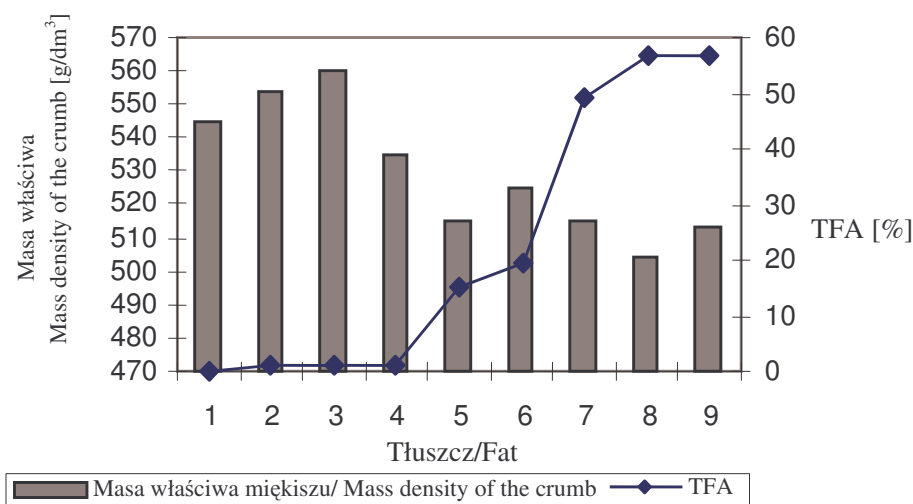
Fizyczne parametry charakteryzujące badane tłuszcze to zawartość fazy stałej (SFC) i temperatura topnienia (tt), obydwie te parametry decydują o konsystencji tłuszczów, a więc o łatwości przygotowania surowego ciasta biszkoptowo-tłuszczowego. W tab. 1. przedstawiono zawartość SFC w temp. sporządzanie ciasta (25°C). Duża zawartość fazy stałej (39,6%) i wysoka temp. topnienia (41°C)



uwodornionego tłuszczu rzepakowego (tab. 1) mogą być przyczyną trudności w przygotowywaniu ciasta. Poza olejem, najmniejszą zawartością fazy stałej w tej temp. charakteryzowała się margaryna „Maryna” (6). Najniższe temp. topnienia (poza olejem) wynosiły około 27°C w przypadku margaryny (6) i uwodornionego oleju sojowego (8).

#### Charakterystyka miękiszu

Otrzymane produkty charakteryzowały się masą właściwą miękiszu w zakresie od 559,9 do 504,5 g/dm<sup>3</sup> (rys. 1). Najlepszą jakością charakteryzowały się miękiszce wyrobów otrzymanych przy udziale tłuszczów o zawartości TFA powyżej 50%, sumy TFA i SFA ok. 70%, sumy izomerów cis ok. 26% i najmniejszej ilości korzystnych żywieniowo NNKT.



Rys. 1. Masa właściwa miękiszu ciast.

Fig. 1. Mass density of the crumb.

Objaśnienia jak w tab. 1 / Explanatory notes as in Tab. 1

Statystycznie potwierdzono ( $p < 0,05$ ) pozytywne korelacje pomiędzy masą właściwą miękiszu a sumą TFA (współczynnik korelacji  $r = -0,83$ ) oraz sumą SFA i TFA ( $r = -0,71$ ). Podobne zależności pomiędzy wzrostem zawartości izomerów trans w tłuszczach a jakością wyrobów biszkoptowo-tłuszczowych wykazali autorzy we wcześniejszej pracy [17]. Nie stwierdzono zależności pomiędzy zawartością SFA a masą właściwą miękiszu. Wysoka zawartość izomerów cis wpływała negatywnie na jakość miękiszu ( $r = 0,71$ ) – tab. 2.

Oznaczenie ściśliwości jest częstym sposobem w obiektywnym pomiarze tekstury wyrobów piekarskich i ciastkarskich [14]. Ściśliwość miękiszu w przypadku analizowanych wyrobów wynosiła od 790 do 1189,3 N/m w zależności od zastosowanych tłuszczów (rys. 2). Na podstawie wyników analizy statystycznej (tab. 2) wykazano znaczącą zależność pomiędzy ściśliwością miękiszu a zawartością sumy nasyconych kwasów tłuszczowych i izomerów trans ( $r = 0,84$ ) oraz zawartością fazy stałej w temp. 25°C ( $r = 0,82$ ). Wraz ze wzrostem zawartości izomerów cis i niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych w tłuszczach maleje ściśliwość miękiszu, co jest cechą niepożądaną w wyrobach biszkoptowo-tłuszczowych.

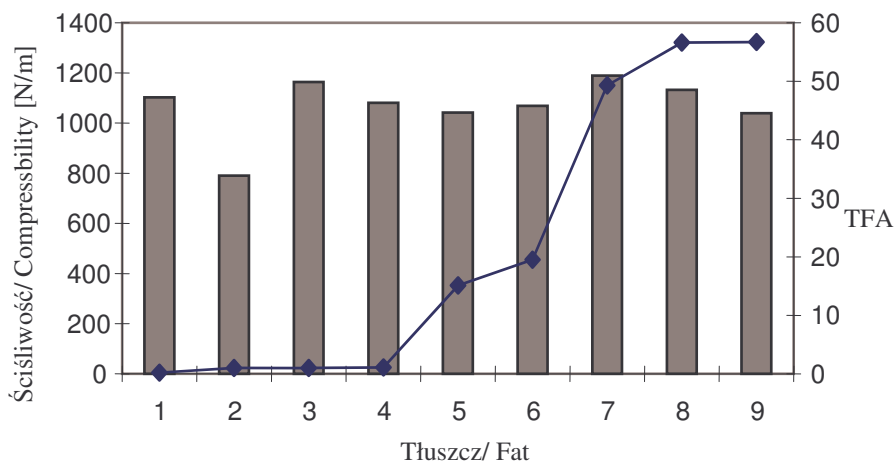
Tabela 2

Wartości współczynników korelacji wyliczone na podstawie jednoczynnikowej analizy regresji. ( $n = 6$ ).  
Coefficients of correlation as calculated on the basis of one-factor analysis of regression. ( $n = 6$ ).

Parametry Parameters	Masa właściwa miękiszu Mass density of crumb	Ściśliwość miękiszu Compressibility of crumb	Struktura miękiszu Structure of crumb
TFA	-0,83*	0,34	-0,11
SFA	0,27	0,56	-0,25
SFA i TFA	-0,71*	0,84*	-0,33
suma cis	0,71*	-0,83*	0,35
NNKT	0,52	-0,70*	0,14
tt / SPM	-0,11	0,55	-0,69*
SFC (25°C)	-0,18	0,82*	-0,59

\*-  $p < 0,05$

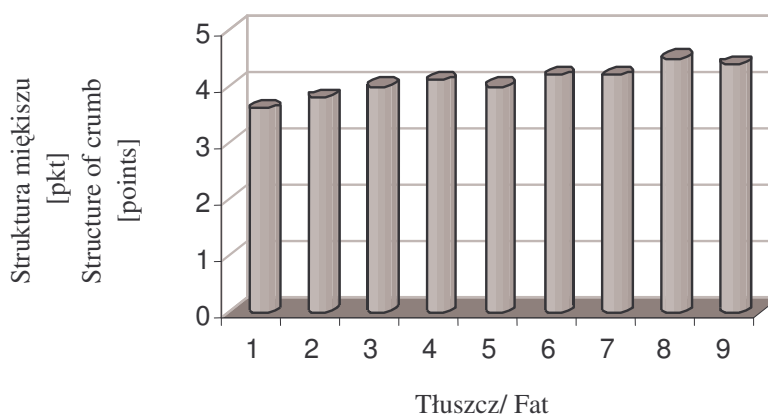
W odniesieniu do wyrobów ciastkarskich bardzo ważna jest ocena sensoryczna. W przypadku miękiszu Polska Norma zaleca ocenę jego struktury przekroju i takich właściwości, jak elastyczność, kruchość [13]. Sensorycznie miękisz został oceniony na poziomie od 3,5 do 4,5 pkt (rys. 3). Najwyżej były ocenione te wyroby, których masy właściwe były najmniejsze. Najniższe noty uzyskały miękisze produktów otrzymanych przy udziale smalca (1) i oleju (2). Były to tłuszcze, które charakteryzowały się najmniejszą zawartością TFA i największą NNKT.



Rys. 2. Ścisłość wyrobów biszkoptowo-tłuszczowych.

Fig. 2. Compressibility of a sponge – fatty cake products.

Objaśnienia jak w tab. 1 / Explanatory notes as in Tab. 1



Rys. 3. Sensoryczna ocena struktury miękiszu.

Fig. 3. Sensory evaluation of the crumb.

Objaśnienia jak w tab. 1 / Explanatory notes as in Tab. 1

## Wnioski

1. Na jakość miękiszu pozytywnie wpływały tłuszcze o dużej zawartości izomerów trans kwasów tłuszczowych oraz dużej łącznej zawartości izomerów trans i nasyconych kwasów tłuszczowych.

- Najwyższe korelacje uzyskano pomiędzy zawartością izomerów trans a masą właściwą ( $r = -0,83$ ,  $p < 0,05$ ) oraz pomiędzy sumą izomerów trans i nasyconych kwasów tłuszczowych a masą właściwą ( $r = -0,71$ ) i ściśliwością ( $r = 0,84$ ).
2. Najmniej pożądanymi cechami charakteryzowały się miękiszce produktów uzyskanych z użyciem tłuszczów, które zawierały duże ilości korzystnych żywieniowo niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych i duże ilości wszystkich izomerów cis. Izomery cis kwasów tłuszczowych negatywnie wpływały na masę właściwą ( $r = 0,71$ ) i ściśliwość miękiszu ( $r = -0,83$ ).
  3. Tłuszcze o wysokiej łącznej zawartości izomerów trans i nasyconych kwasów tłuszczowych gwarantują odpowiednią jakość wyrobów biszkoptowo-tłuszczowych. W związku z ich negatywnym wpływem żywieniowym należy podjąć działania nad zastąpieniem ich innymi składnikami pozwalającymi uzyskać wysoką jakość ciast.

### Literatura

- [1] Anonim B.: Unilever Canada takes the „trans” out of fat. Food navigator, 2004.
- [2] Ambroziak Z.: Produkcja piekarsko-ciastkarska. Cz. 2 WSiP. Warszawa 1999, s. 132-135.
- [3] Bartnik M., Jakubczyk T.: Surowce w piekarstwie. WSiP. Warszawa 1995, s. 71-72.
- [4] Dojutrek Cz., Pietrzyk A.: Ciastkarstwo. WSiP. Warszawa 1991, s. 73-77.
- [5] Erp-Baart M.A., Couet C., Cuadrado C., Kafatos A., Stanley J., Poppel G.: Trans fatty acids in bakery products from 14 European countries. J. Food Comp. Anal., 1998, **11**, 161-169.
- [6] Fennema O.R.: Food chemistry. Marcel Dekker INC, New York 1996, p. 310.
- [7] Krygier K.: Współczesne roślinne tłuszcze jadalne. Przem. Spoż., 1997, **4**, 11-13.
- [8] BN – 85/8089-07. Wyroby ciastkarskie z ciasta biszkoptowo – tłuszczowego. Babki biszkoptowo – tłuszczowe. Wymagania wspólne.
- [9] PN-ISO 5509: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [10] PN-EN ISO 5508: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [11] PN-ISO 6321: 1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie punktu topnienia w kapilarze otwartej (punkt płynięcia).
- [12] PN-EN ISO 8292: 1995. Oznaczanie zawartości fazy stałej. Metoda pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego.
- [13] PN-A-88115: 1998. Wyroby ciastkarskie. Wyroby biszkoptowe i biszkoptowo-tłuszczowe.
- [14] Praca zbiorowa (red. Jakubczyka T. i Habera T.): Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Wyd. SGGW, Warszawa 1983, s. 101-103.
- [15] Rutkowska J., Neryng A.: Możliwości przewidywania jakości ciast cukierniczych na podstawie instrumentalnej oceny tekstury. Mat. Kongresu Polskiej Gospodarki Żywnościowej i Nauki o Żywieniu Człowieka. Wydział Żywnienia Człowieka i Konsumpcji. Warszawa 2000, s. 158-162.
- [16] Wasyluk K., Krygier K.: Współczesne margaryny i szorteningi piekarskie i cukiernicze. Przegł. Piek. Cuk., 1995, **1**, 12.
- [17] Żbikowska A., Krygier K.: Wpływ zawartości izomerów trans w tłuszczach na jakość ciast wysokotłuszczowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2003, **2 (35)** Supl., 207-216.

**THE EFFECT OF FATTY ACIDS' COMPOSITION ON THE PARAMETERS  
OF THE SPONGE – FATTY CAKES' CRUMB****S u m m a r y**

The objective of this study was to determine the effect of the main groups of fatty acids, used to make sponge-fatty cakes, on the quality of their crumb. There were developed chemical profiles of eight plant fats and lard. There were evaluated physical and sensory properties of a crumb of products made using the above named fats. The analyzed material constituted fats showing the following differences among themselves: content of the main groups of fats, melting point, and solid phase content. The content of trans isomers in fats studied varied most of all (from 0.2 to 56.7%). Crumbs of the sponge-fatty cakes made had a mass density ranging from 560 to 504 g/dm<sup>3</sup>, and their compressibility was from 790 to 1189 N/m depending on the fat type used. It was evidenced that trans isomers of non-saturated fatty acids, sums of trans isomers, as well as of saturated fatty acids had a favourable effect on the mass density of the crumb of backed cakes. Furthermore, it was stated that the compressibility of crump increased along with the increase in the sum of content of the saturated fatty acids, what was contrary with regard to cis isomers and indispensable non-saturated fatty acids.

**Key words:** fatty acids content, trans isomers, crumb, sponge – fatty cake ☒