



# ŻYWNOSĆ

Nauka  
Technologia  
Jakość

**Nr 2(47) Supplement**

**Kraków 2006**

**Rok 13**

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

**Sekretarz redakcji:** dr Ewa Ślawska; tel. 012/ 662-51-61; 657-69-78;

e-mail: ewaslawska@wp.pl

**Redaktorzy:** prof. dr hab. Bohdan Achremowicz, prof. dr hab. Włodzimierz Grajek, prof. dr hab. Danuta Kolożyn-Krajewska, prof. dr hab. Bogusław Król, prof. dr hab. Krzysztof Krygier, prof. dr hab. Mieczysław Pałasiński, dr Teresa Woźniakiewicz prof. dr hab. Stefan Ziajka  
**Stali współpracownicy:** prof. dr hab. Teresa Fortuna (Kraków), prof. dr hab. Jacek Kijowski (Poznań), dr Grażyna Morkis (Warszawa), prof. AE dr hab. inż. Stanisław Popek (Kraków), prof. dr hab. Maria Soral-Śmietana (Olsztyn)

**RADA PROGRAMOWA:** prof. dr Antoni Rutkowski (*przewodniczący*), dr hab. Kazimierz Dąbrowski (*sekretarz*), prof. dr hab. Barbara Baraniak, prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna, prof. dr hab. Józefa Chrzanowska, prof. dr hab. Janusz Czapski, prof. dr hab. Zbigniew Czarniecki, prof. dr hab. Mirosław Fik, prof. dr hab. Józef Fornal, prof. dr hab. Roman A. Grzybowski, prof. dr hab. Jan Iciek, prof. dr hab. Edward Kołakowski, prof. dr hab. Henryk Kostyra, prof. dr hab. Andrzej Lenart, prof. dr hab. Paweł M. Pisulewski, prof. dr hab. Piotr Przybyłowski, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz

**KONSULTANCI NAUKOWI:** prof. dr hab. Zbigniew Duda, prof. dr hab. Jan Kiszka, prof. dr hab. Helena Oberman

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

**WYDAWCA:**

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI  
WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2006

*Printed in Poland*

Wydawanie publikacji dofinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wzwyższego

ISSN 1425-6959  
ISBN 83-89541-81-5

**ADRES REDAKCJI:**

31-425 KRAKÓW, AL. 29 LISTOPADA 46

Nakład: 300 egz.

---

**SKŁAD I DRUK:**



Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków

tel./fax (012) 280-71-51; www.akapit.krakow.pl

e-mail: wn@akapit.krakow.pl

---

## SPIS TREŚCI

Od Redakcji .....	7
<i>Katarzyna Marciniak-Lukasiak, Stanisław Kalisz: XI Sesja Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ nt. " Jakość i prozdrowotne cechy żywności"</i> .....	9
<i>Monika Adamczyk, Ewa Rembiałkowska, Grażyna Wasiak-Zys: Porównanie jakości sensorycznej jabłek z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej oraz po przechowywaniu</i> .....	11
<i>Justyna E. Bojarska, Sylwester Czaplicki, Katarzyna Zarecka, Ryszard Zadernowski: Związki fenolowe owoców wybranych odmian truskawki</i> .....	20
<i>Joanna Bryś, Magdalena Wirkowska, Bolesław Kowalski: Przeestryfikowanie mieszanin tłuszczu mlekowego z olejem słonecznikowym w obecności preparatu Novozym 435</i> .....	28
<i>Anna Bzducha, Mieczysław W. Obiedziński: Badania nad związkami lotnymi serów z przerostem pleśni techniką analizy fazy nadpowierzchniowej (SPME) i chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią masową (GC/MS)</i> .....	36
<i>Marta Ciecierska, Mieczysław Obiedziński: Zanieczyszczenie olejów roślinnych wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi</i> .....	48
<i>Agnieszka Ciurzyńska, Andrzej Lenart: Wpływ odwadniania osmotycznego na właściwości mechaniczne liofilizowanych truskawek</i> .....	56
<i>Katarzyna Grzelak: Cebula jako źródło prebiotyków w okresie jesienno-zimowym</i> .....	67
<i>Monika Jarych-Szyska: Wpływ nawożenia azotowego na zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka</i> .....	76
<i>Iwona Jasińska, Piotr Kołodziejczyk, Jan Michniewicz: Ziarno żyta jako potencjalne źródło składników prozdrowotnych w diecie</i> .....	85
<i>Stanisław Kalisz, Michał Wolniak: Zmiany związków fenolowych podczas przechowywania soków malinowych</i> .....	93
<i>Anna Kamińska, Piotr P. Lewicki: Wpływ wstępnej obróbki osmotycznej na przebieg procesów zamrażania i rozmrażania jabłek</i> .....	101
<i>Joanna Kobus, Dominik Kmecik: Jakość mikrobiologiczna i skład chemiczny mleka surowego pochodzącego z wielkich i małych gospodarstw rolnych Wielkopolski w 2004 roku</i> .....	108
<i>Magdalena Kopera, Marta Mitek: Wpływ dodatku kwasu L-askorbinowego do miazgi owocowej na zawartość polifenoli w sokach gruszkowych</i> .....	116
<i>Monika Kosmala, Krzysztof Kołodziejczyk: Procyjanidyny najpopularniejszych w polsce deserowych odmian jabłek</i> .....	124
<i>Hanna Kowalska: Kinetyka osmotycznego odwadniania dyni</i> .....	135

<i>Małgorzata Kowalska, Agnieszka Górecka, Krzysztof Śmiechowski, Krzysztof Krygier:</i> Fizyczna stabilność emulsji niskotłuszczowej w zależności od zastosowanych hydrokoloidów.....	143
<i>Joanna Kraszewska, Wiesław Wzorek, Iwona Wojtasik:</i> Wpływ warunków hodowli szczepów z gatunku <i>Lactobacillus plantarum</i> na ich aktywność antagonistyczną.....	153
<i>Ewelina Król, Halina Staniek, Alina Przybylska, Zbigniew Krejpcio, Danuta Olejnik:</i> Charakterystyka wybranych aspektów sposobu żywienia pacjentów z chorobami układu krążenia na podstawie preferencji pokarmowych.....	162
<i>Tomasz Krupa, Kazimierz Tomala:</i> Wpływ warunków przechowywania na zawartość antocyjanów i aktywność przeciwutleniającą jagód borówki wysokiej.....	171
<i>Maciej Kuligowski, Jacek Nowak:</i> Aktywność antybakteryjna izolatów z podłoża pochodowlanych pleśni <i>Rhizopus oligosporus</i> .....	182
<i>Ewa Majewska, Ewa Białecka-Florjańczyk, Kinga Sułowska:</i> Drożdże piekarskie jako biokatalizator reakcji hydrolizy estrów.....	190
<i>Katarzyna Maksimowicz, Kinga Grodzka, Krzysztof Krygier:</i> Ocena wpływu dodatku celulozymikrokrystalicznej jako stabilizatora do owocowych lodów wodnych.....	198
<i>Katarzyna Marciniak-Lukasiak, Anna Żbikowska, Krzysztof Krygier:</i> Wpływ stosowania azotu na stabilność oksydacyjną mieszanin oleju rzepakowego z olejem lnianym.....	206
<i>Lidia Markiewicz, Elżbieta Biedrzycka, Maria Bielecka:</i> Różnicowanie mleczarskich szczepów <i>Lactobacillus</i> metodą PFGE.....	216
<i>Agata Marzec, Ewa Gondek:</i> Zależności pomiędzy wybranymi wyróżnikami tekstury krakersów oznaczonymi instrumentalnie i sensorycznie.....	223
<i>Magdalena Michalczyk, Kamila Nowaczek:</i> Jakość mikrobiologiczna warzyw mało przetworzonych oferowanych w sklepach Małopolski.....	231
<i>Joanna Niewczas, Małgorzata Kamionowska, Marta Mitek:</i> Zawartość azotanów (III) i (V) w owocach nowych odmian dyni olbrzymiej ( <i>Cucurbita maxima</i> ).....	238
<i>Katarzyna Olborska, Piotr P. Lewicki:</i> Organizacja procesu pakowania produktów mleczarskich i jej wpływ na stan mikrobiologiczny powietrza w hali produkcyjnej.....	246
<i>Antoni Pluta, Anna Berthold, Jarosław Kielak:</i> Zmiany wybranych cech chemicznych, teologicznych i sensorycznych w czasie dojrzewania sera typu holenderskiego o różnej zawartości tłuszczu.....	255
<i>Katarzyna Ratusz, Magdalena Wirkowska:</i> Skuteczność działania preparatu przeciwutleniającego na rafinowane oleje roślinne i ich matryce triacyloglicerolowe.....	262
<i>Millena Ruszkowska, Aneta Ociczek, Piotr Palich:</i> Właściwości sorpcyjne grzanek zawartych w zupach instantyzowanych.....	271
<i>Małgorzata Rząca, Dorota Witrowa-Rajchert:</i> Aktywność przeciwrodnikowa związków fenolowych zawartych w suszu jabłkowym.....	280

---

<i>Katarzyna Sadowska</i> : Owoce ostropestu plamistego jako prozdrowotny dodatek do pieczywa .....	290
<i>Urszula Samotyja, Maria Małecka, Anna Chmielnik</i> : Ocena zmian oksydacyjnych w prażynkach ziemniaczanych z wykorzystaniem techniki headspace .....	297
<i>Magdalena Skotnicka</i> : Matematyczny model wpływu temperatury przechowywania na zmiany reologiczne mrożonych ciast drożdżowych.....	305
<i>Małgorzata Sobczyk</i> : Wpływ mrożenia międzyproduktów piekarskich na jakość gotowego wyrobu.....	314
<i>Bartosz Sołowiej, Waldemar Gustaw, Paweł Glibowski, Dominik Szwałgier, Tomasz Czernecki</i> : Właściwości reologiczne oraz struktura polimerów izolatu białek serwatkowych.....	325
<i>Ewa Sosińska, Rafał Wołosiak</i> : Aktywność przeciwutleniająca koenzymu Q <sub>10</sub> , fitosteroli oraz glutationu w reakcji autooksydacji emulsji tłuszczu roślinnego.....	334
<i>Halina Staniek, Ewelina Król, Zbigniew Krejpcio</i> : Ocena zawartości żelaza, cynku i miedzi w całodziennych racjach pokarmowych wybranych grup ludności.....	342
<i>Karolina Stempińska, Maria Soral-Smietana</i> : Składniki chemiczne i ocena fizykochemiczna ziarniaków gryki - porównanie trzech polskich odmian.....	348
<i>Magdalena Wirkowska, Joanna Bryś, Katarzyna Ratusz, Bolesław Kowalski</i> : Stabilność przeciwutleniająca lipidów kukurydzy.....	358
<i>Małgorzata Wroniak, Joanna Ramotowska, Monika Matuszewska, Mieczysław Obiedziński</i> : Możliwości zastosowania oznaczania izomerów trans kwasów tłuszczowych i 3,5-stigmastadienu do badania autentyczności olejów tłoczonych na zimno .....	365
<i>Anna Żbikowska, Katarzyna Marciniak-Lukasiak, Krzysztof Krygier</i> : Wpływ zawartości izomerów trans w tłuszczach na jakość ciastek francuskich z mąk o różnej wartości technologicznej .....	374
<i>Monika Kepińska</i> : Analiza epidemiologiczna zatruc pokarmowych w Polsce w porównaniu z danymi Unii Europejskiej .....	382



## OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu suplement nr 2 (47) kwartalnika „Żywność”, w którym zamieściliśmy artykuły będące pokłosem XI Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ nt. „Jakość i prozdrowotne cechy żywności”. Sesję zorganizowała Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ wspólnie z Wydziałem Technologii Żywności SGGW w Warszawie, przy współdziałaniu Oddziału Warszawskiego i Zarządu Głównego PTTŻ. Szczególne podziękowania należy przekazać Dziekanowi Wydziału, Panu Profesorowi Andrzejowi Lenartowi, który wsparł młodych adeptów nauki nie tylko pod względem organizacyjnym, ale także współuczestniczy w sfinansowaniu wydania niniejszego suplementu

Sesja zgromadziła liczne grono młodych naukowców, którzy zaprezentowali 20 referatów i 83 postery, z czego kilkadziesiąt opracowań w formie artykułów polecamy uwadze naszych Czytelników. Wyrażamy nadzieję, że znajdą w nich Państwo wiele interesujących zagadnień.

Kraków, czerwiec 2006 r.

Redaktor Naczelny

A handwritten signature in black ink, consisting of a series of loops and a long horizontal stroke, positioned above the name Tadeusz Sikora.

*Tadeusz Sikora*





## **XI SESJA SEKCJI MŁODEJ KADRY NAUKOWEJ PTTŻ „JAKOŚĆ I PROZDROWOTNE CECHY ŻYWNOSCI”**

Już po raz jedenasty spotkaliśmy się na Sesji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ. W tym roku odbyła się ona w dniach 24-25 maja 2006 roku w Warszawie. I tym razem tematem przewodnim była „Jakość i prozdrowotne cechy żywności”. Organizatorami tegorocznej Sesji była Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ oraz Wydział Technologii Żywności SGGW w Warszawie. Natomiast współorganizatorami Sesji był Zarząd Główny PTTŻ i Oddział Warszawski PTTŻ.

Swój udział zaznaczyli przedstawiciele większości krajowych ośrodków naukowych zajmujących się szeroko rozumianą problematyką nauk o żywności i żywieniu. Zagadnienia badawcze przedstawiono w sposób kompleksowy, dający pogląd na wytwarzanie i przetwarzanie żywności w ujęciu mikrobiologii, biotechnologii, chemii żywności, technologii, towaroznawstwa żywności oraz żywienia. Problematyka żywnościowa rozpatrywana z różnych perspektyw miała stanowić przyczynek do interdyscyplinarnych prac badawczych oraz pomóc w weryfikacji dotychczasowych poczynań naukowych.

Organizowana wzorem lat ubiegłych Sesja dała możliwość spotkania się młodych adeptów nauki, zintegrowania środowiska, prezentacji wyników, wymiany poglądów i dyskusji. Tegoroczne spotkanie zaszczytli swoim udziałem przedstawiciele następujących ośrodków: Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego (Warszawa), Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego (Warszawa), Akademia Rolnicza (Kra-ków), Akademia Rolnicza (Wrocław), Akademia Rolnicza (Poznań), Akademia Mor-ska (Gdynia), Akademia Rolnicza (Lublin), Uniwersytet Warmińsko-Mazurski (Olsz-tyn), Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN (Olsztyn), Politechnika Łódzka (Łódź), Politechnika Radomska (Radom), Akademia Techniczno-Rolnicza (Byd-goszcz), Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (Oddział Jadwisin), Politechnika Koszalińska (Koszalin), Politechnika Gdańska (Gdańsk), Instytut Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego (Warszawa), Akademia Ekonomiczna (Poznań), Związek Producentów Cukru w Polsce (Warszawa). W spotkaniu uczestniczyło 115 osób. Podczas Sesji przedstawiono 20 doniesień ustnych i 83 plakaty.

Sesji towarzyszyły referaty plenarne wygłoszone przez Profesorów: Henryka Ko-styrę, Tadeusza Sikorę, Krzysztofa Krygiera oraz Mieczysława Obiedzińskiego. Po-nadto prezentowana była aparatura analityczno-badawcza przez przedstawicieli firm Konica Minolta Sensing Europe B.V., Merck, SHIM-POL A. M. Borzymowski, WITKO.

W otwarciu Sesji udział wzięli m.in. Pani Rektor SGGW do spraw dydaktyki - Prof. Krystyna Gutkowska, dziekan Wydziału Technologii Żywności Prof. Andrzej Lenart oraz Prof. Tadeusz Sikora prezes Towarzystwa. Sesję uświetniła także obecność Prof. Niny Baryłko-Pikielnej, Prof. Antoniego Rutkowskiego, Prof. Małgorzaty Noga-

li-Kałuckiej, Prof. Marii Wojtatowicz, Prof. Doroty Witrowej-Rajchert, którzy żywo uczestniczyli w dyskusji z doktorantami nie tylko w czasie trwania sesji referatowej, ale również podczas prezentacji posterów.

Spośród prezentowanych prac Zarząd Główny PTTŻ przyznał wyróżnienia i ufundował nagrody:

- Panu mgr. inż. Arturowi Szwengielowi z Akademii Rolniczej w Poznaniu za najlepsze doniesienie ustne pt. „Badania nad przebiegiem skojarzonej syntezy lewanu na drodze enzym – mikroorganizm”.
- Panu mgr inż. Wojciechowi Łaby z Akademii Rolniczej we Wrocławiu za oryginalny temat naukowy o dużym potencjalnym znaczeniu aplikacyjnym pracy pt. „Mikrobiologiczna utylizacja odpadów keratynowych”.

W tym roku po raz drugi w historii naszych spotkań oprócz profesorów jurorami byli również wszyscy uczestnicy. W przeprowadzonym plebiscycie pierwszą nagrodą wyróżnili doniesienie ustne mgr. inż. Wojciecha Łaby (Akademia Rolnicza Wrocław) pt. „Mikrobiologiczna utylizacja odpadów keratynowych”. Dwie równorzędne drugie nagrody otrzymali mgr inż. Dominik Kmiecik (Akademia Rolnicza Poznań) za doniesienie ustne pt. „Zmiany zawartości fitosteroli i izomerów trans kwasów tłuszczowych w czasie ogrzewania oleju rzepakowego” oraz mgr inż. Małgorzata Neumann (Akademia Rolnicza Poznań) za poster pt. „Wpływ mikroflory jelitowej człowieka na stabilność antyoksydantów w trawionych produktach spożywczych”. Fundatorem nagród w plebiscycie uczestników była firma WITKO.

Pierwszy dzień sesji zakończyło integracyjne spotkanie towarzyskie w Klubie Studenckim Rezerwat, gdzie młodzi przedstawiciele nauki bawili się wraz z Wielce Szanownym gronem profesorskim.

W związku z zakończeniem poprzedniej kadencji podczas Sesji wybrano nowy Zarząd Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ. Tworzą go przedstawiciele większości krajowych ośrodków naukowych związanych z naukami o żywności. Przewodnicząca Sekcji wybrano Katarzyna Marciniak-Lukasiak (SGGW Warszawa). Wiceprzewodniczącymi sekcji wybrano Katarzynę Grzelak (Politechnika Łódzka) oraz Macieja Kulińskiego (Akademia Rolnicza Poznań). Na członków powołano: Katarzynę Sadowską (Akademia Techniczno-Rolnicza Bydgoszcz), Karolinę Stempińską (IRZiBŻ PAN Olsztyn), Barbarę Mazur (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski Olsztyn), Izabelę Bodzarczyk (Akademia Rolnicza Kraków), Urszulę Samotyję (Akademia Ekonomiczna Poznań), Łukasza Bosaka (Akademia Rolnicza Wrocław), Katarzynę Kycię (SGGW Warszawa), Małgorzatę Kowalską (Politechnika Radomska).

Wybory nowego Zarządu poprzedziła dyskusja plenarna na temat przyszłości Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ oraz jej roli w integrowaniu środowiska młodych pracowników nauki, czego pokłosiem są coroczne cykliczne spotkania. Kolejna XII Sesja MKN PTTŻ odbędzie się w dniach 23-24 maja 2007 r. w Lublinie, gdzie już teraz w imieniu Organizatorów serdecznie zapraszamy.

*Katarzyna Marciniak-Lukasiak, Stanisław Kalisz*

MONIKA ADAMCZYK, EWA REMBIAŁKOWSKA, GRAŻYNA WASIAK-ZYS

## **PORÓWNANIE JAKOŚCI SENSORYCZNEJ JABŁEK Z PRODUKCJI EKOLOGICZNEJ I KONWENCJONALNEJ ORAZ PO PRZECHOWYWANIU**

### Streszczenie

Celem pracy było porównanie jakości sensorycznej jabłek odmiany Jonagold i Idared z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej po zbiorze i po przechowywaniu w chłodni. Ocenę sensoryczną wykonano metodą ilościowej analizy opisowej (QDA) i w kategoriach jakości konsumenckiej (ocena preferencji). Do opisanego jakości zastosowano 11 wyróżników wytypowanych przez zespół ekspertów. W ocenie konsumenckiej zastosowano metodę parzystą.

Odmiany jabłek różniły się pod względem wielu wyróżników sensorycznych m.in. zapachu kwaśnego, słodko-nektarowego oraz zapachu innych owoców, a także twardości, soczystości, smaku słodkiego, kwaśnego i aromatyczno-jabłkowego oraz jakości ogólnej. Metoda uprawy nie wpłynęła na jakość sensoryczną badanych odmian. Proces przechowywania przyczynił się do obniżenia jakości sensorycznej obu badanych odmian jabłek, a w szczególności ich zapachu słodko-nektarowego, zapachu innych owoców oraz trawiastego, twardości, soczystości, smaku słodkiego, kwaśnego i aromatyczno-jabłkowego oraz jakości ogólnej. W ocenie konsumenckiej jabłka ekologiczne różniły się od owoców wyprodukowanych metodami konwencjonalnymi pod względem barwy skórki w przypadku odmiany Jonagold.

**Słowa kluczowe:** jabłka, jakość sensoryczna, produkcja ekologiczna, produkcja konwencjonalna

### Wprowadzenie

Produkcja jabłek w Polsce, w porównaniu z innymi owocami, należy do największych i najbardziej rozpowszechnionych. Jabłka uważane są za najbardziej preferowany owoc przez dwie trzecie polskich konsumentów [13].

Pod pojęciem jakości sensorycznej owoców rozumie się głównie wygląd, zapach, teksturę i smakowitość. Zabarwienie jabłek jest zdeterminowane zieloną zasadniczą barwą skórki, którą nadaje chlorofil oraz barwą rumieńca wywołaną obecnością antocyjanin [4, 9]. Ważnym czynnikiem wpływającym na jędrność tkanki i związkiem

---

*Mgr inż. M. Adamczyk, dr hab. E. Rembiałkowska prof. SGGW, mgr inż. G. Wasiaak-Zys, Katedra Żywności Funkcjonalnej i Towaroznawstwa, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

spajającym ściany komórkowe są pektyny [7]. Swoj specyficzny smak jabłka zawdzięczają zawartości cukrów i kwasów organicznych, a dokładnie stosunkowi ilości cukrów do kwasów [9].

W ostatnich latach zarówno w krajach wysoko rozwiniętych, jak i w Polsce, wzrasta zainteresowanie ekologicznymi metodami uprawy. Jest to przejawem dbałości o zdrowie człowieka i ochronę środowiska. Wiele badań wskazuje, że ekologiczne produkty, w porównaniu z konwencjonalnymi, zawierają mniej skażeń, takich jak: azotany(V) i azotany(III) oraz pozostałości pestycydów [11]. Niemniej niewiele jest prac poświęconych jakości sensorycznej owoców w zależności od sposobu produkcji.

W związku z powyższym za celowe uznano przeprowadzenie badań, w których porównano jakość sensoryczną jabłek z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej w zależności od okresu przechowywania.

### **Materiał i metody badań**

Doświadczenie wykonano w Katedrze Żywności Funkcjonalnej i Towaroznawstwa SGGW. Materiałem badawczym były jabłka odmiany Jonagold i Idared. Pochodziły one z certyfikowanego sadu ekologicznego i położonego w tej samej okolicy sadu konwencjonalnego. Sady zlokalizowane były w województwie mazowieckim.

Ocena sensoryczna jabłek składała się z dwóch typów analiz: oceny konsumencjonalnej i analitycznej oceny sensorycznej. W badaniach konsumenckich zastosowano metodę parzystą w celu określenia preferencji barwy skórki i wyglądu zewnętrznego [10]. Próbkę jednostkową stanowiło 8 owoców reprezentatywnych dla danej partii jabłek. Ocenę prowadzono po zbiorze każdej odmiany jabłek, a brało w niej udział 50 konsumentów. W drugiej części badań ocenę sensoryczną przeprowadzono z zastosowaniem metody ilościowej analizy opisowej QDA (Quantitative Descriptive Analysis) [5, 12]. Analizę sensoryczną przeprowadzał przeszkolony 10-osobowy zespół ekspertów, mający przygotowanie metodyczne (teoretyczne i praktyczne) w zakresie metod sensorycznych. Listę terminów opisujących wyróżniki sensoryczne jabłek oraz określenia brzegowe przedstawiono w tab. 1. Ocenę wykonywano w Laboratorium Analiz Sensorycznych Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW z zastosowaniem skomputeryzowanego systemu wspomagania analiz sensorycznych ANALSENS NT. Próbkę do badań sensorycznych metodą QDA stanowiły owoce uprzednio wyselekcjonowane pod względem wybarwienia i wielkości owoców. Jako próbkę jednostkową pobierano z dwóch jabłek po 1/8 cząstki. Ocenę prowadzono na materiale w stadium dojrzałości konsumpcyjnej - w listopadzie badano jabłka odmiany Jonagold, a w styczniu Idared, a następnie powtórzono ocenę po 2,5 miesiącach przechowywania w chłodni zwykłej w temp. 3°C i 90% wilgotności względnej powietrza.

Tabela 1

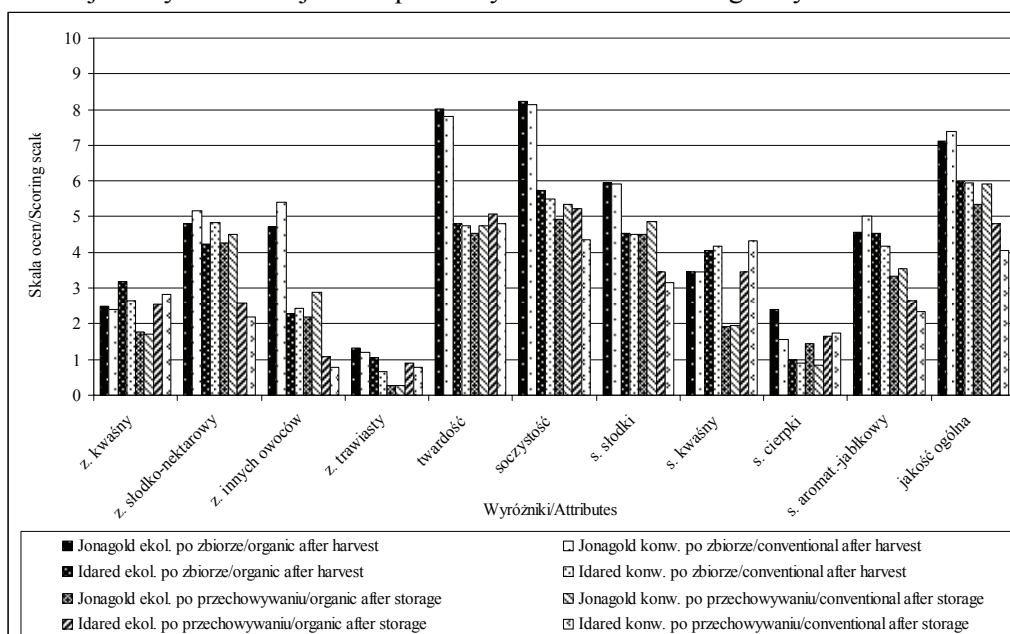
Wyróżniki jakości sensorycznej jabłek oraz odpowiadające im definicje i określenia brzegowe.  
Distinguishing marks of sensory quality of apples and their definitions and marginal determinations.

Wyróżniki Distinguishing marks	Definicje Definitions	Określenia brzegowe Marginal determinations
Zapach kwaśny Acid odour	Zapach niedojrzałego jabłka lub śliwki	niewyczuwalny b. intensywny
Zapach aromatyczny słodko-nektarowy Aromatic sweet-nectar odour	Łagodny zapach typu jabłkowego i nektarowego	niewyczuwalny b. intensywny
Zapach innych owoców Other fruit odour	Słodki zapach typu owocowego, (np.: gruszkowy, brzoskwiniowy, morelowy)	niewyczuwalny b. intensywny
Zapach trawiasty Grassy odour	Zapach charakterystyczny dla świeżo ściętej trawy lub świeżo zerwanej kory z drzewa	niewyczuwalny b. intensywny
Twardość Firmness	Opór jaki stawia próbka przy rozgryzaniu	miękki twardy, zbity
Soczystość Juiciness	Stopień soczystości próbki	suche, mączyste b. soczyste
Smak słodki Sweet taste	Podstawowa jakość smaku, nie wymaga definiowania	niewyczuwalny b. intensywny
Smak kwaśny Sour taste	Podstawowa jakość smaku, nie wymaga definiowania	niewyczuwalny b. intensywny
Smak cierpki Astringent taste	Wrażenie ściągające, odczuwalne szczególnie na krawędziach języka	niewyczuwalny b. intensywny
Smak aromatyczno – jabłkowy Aromatic apple taste	Smak charakterystyczny dla świeżego, w pełni dojrzałego, aromatycznego jabłka, np.: typu Koxa	pusty, wodnisty pełny, aromatyczny
Jakość ogólna Overall quality	Ogólne wrażenie sensoryczne dobrego zharmonizowania wszystkich wyróżników smakowo-zapachowych	zła bardzo dobra

Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu komputerowego Statgraphics 4.1., stosując trójczynnika analizę wariancji (ANOVA) z uwzględnieniem sposobu uprawy, odmiany i okresu przechowywania ( $\alpha = 0,05$ ). Korzystano także z tablic statystycznych do metody parzystej według norm [10].

## Wyniki i dyskusja

Wyniki oceny konsumenckiej jabłek wskazują, że owoce uprawiane w sposób ekologiczny i konwencjonalny nie różniły się istotnie w ocenie preferencji wyglądu zewnętrznego. Spośród 50 konsumentów, 19 (38%) osób bardziej preferowało ekologicznie uprawiane owoce odmiany Jonagold, a 20 (40%) osób odmiany Idared. Istotnie wyżej preferowana była barwa jabłek ekologicznych (35 opinii – 70%) w przypadku odmiany Jonagold, w stosunku do owoców konwencjonalnych (15 opinii – 30%). Metoda uprawy nie wpłynęła na preferencje barwy jabłek odmiany Idared. Konsumenty przy uzasadnieniu swojego wyboru wskazywali, że owoce ekologiczne były intensywniej wybarwione. Również Bloksma i wsp. [1] oraz Bordeleau i wsp. [2] zaobserwowali silniejsze wybarwienie jabłek uprawianych metodami ekologicznymi.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

z - zapach / odour, s - smak / taste; objaśnienie cech sensorycznych jak w tab. 1. / explanatory attributes as in Tab. 1.

Rys. 1. Wyniki oceny sensorycznej, przeprowadzonej metodą profilową, jabłek z uprawy konwencjonalnej i ekologicznej.

Fig. 1. Sensory evaluation results of apples coming from conventional and organic cultivation system conducted by profile method.

Wyniki oceny sensorycznej, przeprowadzonej metodą profilowania, przedstawiono na rys. 1., a opracowanie statystyczne w tab. 2. Wykazano, że metoda uprawy nie miała wpływu na jakość sensoryczną jabłek badanych odmian. Inne badania również

Tabela 2

Opracowanie statystyczne wyników oceny intensywności cech sensorycznych jabłek, przeprowadzonej metodą profilowania.

Statistical analysis of the evaluation results of sensorial features intensity of apples conducted by profile method.

Wyróżniki Distinguishing marks	Wartość średnia / Mean value					
	Uprawa Cultivation system		Odmiana Cultivar		Okres przechowywania Storage duration	
	Ekol. Organic	Konw. Conventional	Jonagold	Idared	Po zbiorze After harvest	Po przechow. After storage
Zapach kwaśny Acid odour	2,49	2,39	2,09	2,79	2,67	2,21
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		0,494		N.I.	
Zapach słodko- nektarowy Aromatic sweet- nectar odour	3,99	4,17	4,70	3,45	4,78	3,38
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		0,584		0,584	
Zapach innych owoców Other fruit odour	2,57	2,88	3,79	1,65	3,71	1,73
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		0,574		0,574	
Zapach trawiasty Grassy odour	0,88	0,73	0,76	0,85	1,06	0,55
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		N.I.		0,314	
Twardość Firmness	5,61	5,52	6,28	4,85	6,34	4,78
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		0,519		0,519	
Soczystość Juiciness	6,03	5,84	6,66	5,20	6,89	4,96
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		0,500		0,500	
Smak słodki Sweet taste	4,60	4,61	5,31	3,91	5,22	3,99
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		0,455		0,455	
Smak kwaśny Sour taste	3,22	3,46	2,69	3,99	3,78	2,91
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		0,535		0,535	
Smak cierpki Astringent taste	1,62	1,27	1,56	1,32	1,46	1,42
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		N.I.		N.I.	

c.d. Tab. 2.

Smak aromat.- jabłkowy Aromatic apple taste	3,73	3,76	4,10	3,38	4,53	2,96
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		0,621		0,621	
Jakość ogólna Overall quality	5,82	5,83	6,44	5,20	6,61	5,03
NIR <sub>/0,05/</sub>	N.I.		0,467		0,467	

Objaśnienia / Explanatory notes: N.I. – różnice statystycznie nieistotne/no statistically significant differences; Objasnienia cech sensorycznych jak w tab. 1/Explanatory attributes as in Tab. 1.

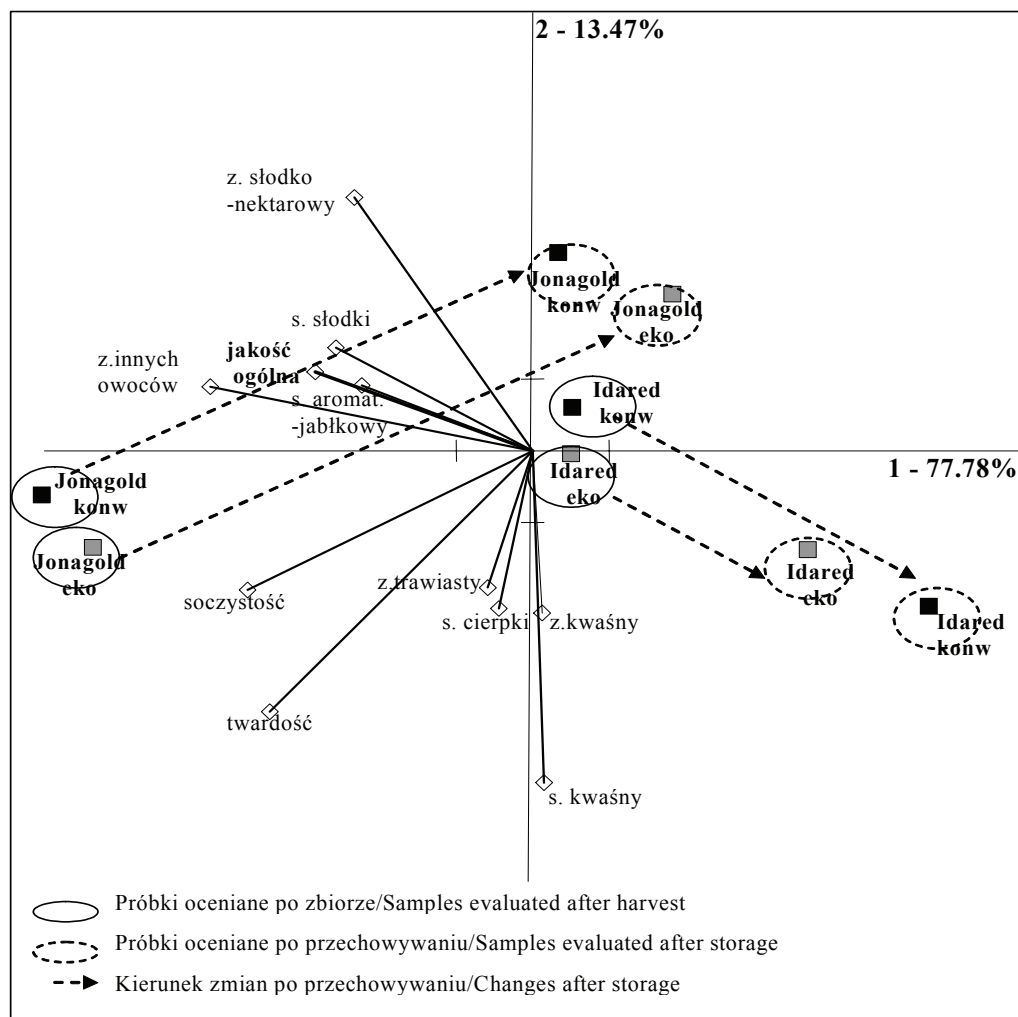
dowodzą, że ekologiczne i konwencjonalne odmiany jabłek McIntosh i Cortland nie różniły się pod względem soczystości, słodyczy i kwasowości. Różnice na korzyść uprawy ekologicznej stwierdzono jedynie w ocenie jędrności jabłek odmiany McIntosh [3].

Stwierdzono istotny wpływ badanych odmian jabłek na większość wyróżników sensorycznych, z wyjątkiem zapachu trawiastego i smaku cierpkiego. Intensywność takich cech sensorycznych, jak: zapach słodko-nektarowy, zapach innych owoców, twardość, soczystość, smak słodki, smak aromatyczno-jabłkowy i jakość ogólna oceniono istotnie wyżej w jabłkach odmiany Jonagold w porównaniu z odmianą Idared. Warto wspomnieć, że zapach innych owoców definiowany był jako gruszkowy.

Wyżej oceniono zapach kwaśny jabłek odmiany Idared. Również jabłka tej odmiany były zdaniem osób oceniających bardziej kwaśne. Znaczne różnice jakości sensorycznej odmian można wytłumaczyć różną zawartością związków wpływających na wyróżniki sensoryczne jabłek. Od odmiany zależy skład substancji lotnych determinujących aromat [6]. Różnica tekstury pomiędzy odmianami jabłek mogła wynikać ze składu polisacharydów w ścianach komórkowych [8]. Z kolei zawartość cukrów ogółem i kwasów organicznych jest też silnie determinowana odmianą [9].

Proces przechowywania spowodował pogorszenie jakości sensorycznej jabłek i istotnie obniżył intensywność wszystkich badanych cech sensorycznych, oprócz zapachu kwaśnego i smaku cierpkiego. Obniżenie jakości sensorycznej podczas przechowywania związane jest z typowymi procesami życiowymi, takimi jak oddychanie, transpiracja i mięknięcie. Owoce przechowywane, głównie w chłodni w kontrolowanej atmosferze, wykazują mniejszą zdolność do syntezy substancji zapachowych [4]. W procesie utleniania związków organicznych następuje głównie zmniejszenie zawartości cukrów prostych, czasami również kwasów organicznych w komórkach [9]. Podczas pozbiorecznego dojrzewania i przechowywania w owocach zachodzą zmiany tekstury polegające przede wszystkim na degradacji ścian komórkowych, w następstwie czego występuje separacja komórek i maceracja tkanek powodująca miękkość, kruchość oraz spadek jędrności [4].





Objaśnienia: / Explanatory notes:

z-zapach / odour, s – smak / taste; objaśnienie cech sensorycznych jak w tab. 1. / explanatory attributes as in Tab. 1.

Rys. 2. Graficzny obraz PCA wyników sensorycznej analizy opisowej 2 odmian jabłek pochodzących z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej, z uwzględnieniem okresu przechowywania.

Fig. 2. PCA biplot of sensory profiling data of 2 cultivars apples from organic and conventional production depending on storage time.

Uzyskane w analizie profilowej wyniki jakości sensorycznej badanych jabłek poddano analizie składowych głównych. Syntetyczny obraz wyników przedstawiono na rys. 2. w układzie dwóch składowych głównych PC1 i PC2, którym przyporządkowane było 91,25% zmienności całkowitej. Projekcja PCA wykazała, że z jakością

ogólną pozytywnie skorelowane był noty: smak słodki, smak aromatyczno-jabłkowy, zapach słodko-nektarowy oraz zapach innych owoców, a także soczystość i twardość owoców - o czym świadczy bliskie położenie wektorów opisujących te cechy względem wektora jakości ogólnej. Smak kwaśny i cierpki oraz zapach kwaśny i trawiasty były niezależne od jakości ogólnej. Cechy sensoryczne w niewielkim stopniu różnicują próbki badanych jabłek tych samych odmian pochodzące z różnych upraw. Analiza składowych głównych PCA wskazuje, że jabłka obu odmian po przechowywaniu różniły się znacząco jakością ogólną. Nastąpiło istotne obniżenie jakości ogólnej owoców, związane głównie ze zmniejszeniem soczystości i twardości jabłek (szczególnie odmiany Jonagold).

### **Wnioski**

1. Metoda uprawy nie wpłynęła na preferencje konsumentów dotyczące oceny wyglądu zewnętrznego. Wyniki oceny barwy były rozbieżne. Barwa ekologicznych jabłek odmiany Jonagold była bardziej preferowana aniżeli owoców konwencjonalnych. W przypadku odmiany Idared nie wykazano statystycznie istotnych różnic między sposobami uprawy.
2. Metoda uprawy nie miała wpływu na jakość sensoryczną jabłek badanych odmian.
3. Jabłka odmiany Jonagold, w porównaniu z odmianą Idared, charakteryzowały się istotnie wyższą twardością, soczystością, zapachem słodko-nektarowym i zapachem innych owoców, smakiem słodkim i aromatyczno-jabłkowym oraz jakością ogólną. Z kolei jabłka odmiany Idared wykazały wyższą intensywność zapachu i smaku kwaśnego.
4. Proces przechowywania wpłynął na obniżenie jakości sensorycznej jabłek i istotnie przyczynił się do zmniejszenia intensywności wszystkich badanych cech sensorycznych, za wyjątkiem zapachu kwaśnego i smaku cierpkiego. W okresie przechowywania jabłka odmiany Jonagold odznaczały się szybszym obniżaniem jakości sensorycznej, głównie takich cech, jak twardość i soczystość, w porównaniu z odmianą Idared.

### **Literatura**

- [1] Bloksma J., Northolt M., Huber M., Jansonius P., Zanen M.: Parameters for apple quality-2 and the development of the 'inner quality concept'. Ed. Louis Bolk Instituut, Driebergen 2004.
- [2] Bordeleau G., Midak M., Myers-Smith I., Szeremeta A.: Food Quality: A comparison of organic and conventional fruits and vegetables. Course Project – Den Kongelige Veterinaer og Landbohøjskole. Denmark 2002.
- [3] DeEll J.R., Prange R., K.: Postharvest quality and sensory attributes of organically and conventionally grown apples. Hort Science, 1992, **27**, 1096-1099.

- [4] Grzesiuk S., Górecki R.: Fizjologia plonów – wprowadzenie do przechowalnictwa. Wyd. ART, Olsztyn 1994.
- [5] ISO 13299: 2003. Sensory analysis – Methodology – General guidance for establishing a sensory profile.
- [6] Kondo S., Setha S., Rudel D.R., Buchanan D.A., Mattheis J. P.: Aroma volatile biosynthesis in apples affected by 1-MCP and methyl jasmonate. *Postharvest Biol. Technol.*, 2005, **36**, 61-68.
- [7] Lo Scalzo R., Testoni A., Genna A.: ‘Annurca’ apples fruit, a southern Italy apple cultivar: textural properties and aroma composition. *Food Chemistry*, 2001, **73**, 333-343.
- [8] Nara K., Kato Y., Motomura Y.: Involvement of terminal-arabinose and – galactose pectic compounds in mealiness of apples fruit during storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 2001, **22**, 141-150.
- [9] Pieniążek S. A. (red.): Sadownictwo. Wyd. PWRiL, Warszawa 2000.
- [10] PN-ISO 6658: 1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne.
- [11] Rembiałkowska E.: Jakość żywności pochodzącej z gospodarstw organicznych. W: Jakość żywności a rolnictwo ekologiczne. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2002, s.19-30.
- [12] Stone H., Sidel J. L.: Sensory evaluation practices. Wyd. Academic Press, Orlando 1985.
- [13] Trębach A.: Polacy lubią jabłka. *Hasło Ogrodnicze*, 2001, **4**, 14-17.

#### **THE COMPARISON OF SENSORY QUALITY OF APPLES FROM ORGANIC AND CONVENTIONAL PRODUCTION AND AFTER STORAGE**

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

The aim of the study was the comparison of sensory quality of ‘Jonagold’ and ‘Idared’ cultivars from organic and conventional production after harvest and after storage in cold store. The sensory attributes of the apples were assessed using a Quantitative Descriptive Analysis (QDA) and additionally, as a consumers’ quality (preference assessment). To describe the quality, 11 distinguishing marks appointed by a panel of experts were used. In consumers’ preference assessment a paired comparison test was applied.

The results obtained indicated the difference between cultivars, namely in some aroma and taste attributes. The cultivars showed also difference in firmness, juiciness and in general quality. The method of production did not influence the sensory quality of apples. However the storage process has reduced most sensory attributes of the both examined cultivars, except acid odor and astringent taste. In the consumers’ preference assessment of peel colour in the organic ‘Jonagold’ apples was better than of ‘Jonagold’ apples from conventional production.

**Key words:** apples, sensory quality, organic production, conventional production ☒

JUSTYNA E. BOJARSKA, SYLWESTER CZAPLICKI, KATARZYNA ZARECKA,  
RYSZARD ZADERNOWSKI

## ZWIĄZKI FENOLOWE OWOCÓW WYBRANYCH ODMIAN TRUSKAWKI

### Streszczenie

W pracy przedstawiono zawartość związków fenolowych w owocach 11 odmian truskawki (Senga Sengana, Thuriga, Polka, Camarosa, Dukat, Elsanta, Onebor, Heros, Kent, Kama, Honeoye), uprawianych na poletkach doświadczalnych założonych w 2004 r. w Jarotach k. Olsztyna. Analizie poddano owoce świeże zebrane w czerwcu 2005 roku. Związki fenolowe wyodrębniano poprzez czterokrotną macerację owoców 80% metanolem o pH=2.

W ekstraktach metanolowych oznaczono zawartości związków fenolowych ogółem, antocyjanów, tanin skondensowanych oraz określono ich zdolności do wiązania rodnika DPPH\*.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że największą zawartością związków fenolowych ogółem charakteryzowały się truskawki odmiany Polka i Elsanta (powyżej 8000 mg/100 g suchej masy; w przeliczeniu na kwas galusowy), najmniejszą zaś Kent i Kama (poniżej 5300 mg/100 g s.m.). Zawartość antocyjanów kształtowała się na poziomie od 29,5 mg/100 g s.m. w owocach odmiany Kent, do 79,3 mg/100 g s.m. w owocach odmiany Honeoye. Zdolność do wiązania rodnika DPPH\* była zróżnicowana w zależności od odmiany i wahała się od 44,8% w truskawkach odmiany Honeoye do 62,9% w owocach odmiany Senga Sengana. W większości odmian zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy ogólną zawartością polifenoli a zdolnością neutralizacji rodnika DPPH\*.

Zawartość tanin skondensowanych w badanych owocach zawierała się w przedziale od 977,2 mg/100 g s.m. w truskawkach odmiany Kent, do 2356,4 mg/100 g s.m. w owocach odmiany Honeoye. Zaobserwowano odwrotną proporcjonalność pomiędzy zawartością antocyjanów i tanin skondensowanych a aktywnością przeciwutleniającą ekstraktów badanych odmian truskawek ( $r = -0,91$ ).

**Słowa kluczowe:** truskawki, polifenole ogółem, antocyjany, taniny skondensowane, aktywność przeciwutleniająca

## **Wprowadzenie**

W ostatnich latach produkcja truskawek w Polsce wynosiła od 150 do 200 tys. t. Powyższe zbiory stanowiły około 20% truskawek produkowanych w krajach UE. W produkcji tych owoców ustępujemy jedynie Hiszpanii [12].

Spośród owoców jagodowych, truskawki wyróżnia bardzo duża zasobność w różnorodne substancje biologicznie aktywne. Np. zawierają dużą ilość kwasów fenolowych (2,4-2,5 mg/100 g ś.m.) i flawonoidów (5,2-8,2 mg/100 g ś. m.) [5, 6, 8, 18], witamin, a ponadto wykazują działanie antybakteryjne oraz przeciwdziałają powstawaniu i rozwojowi chorób cywilizacyjnych, takich jak: nowotwory, nadciśnienie, zawał serca czy nadmiar cholesterolu [3, 4, 9, 11, 14, 22]. Hannum [7] twierdzi, że zawartość związków fenolowych w owocach truskawek zmienia się wraz z odmianą, warunkami uprawy, stopniem dojrzałości i postępowaniem pozbiornym.

Celem pracy była ocena odmian truskawek pod względem zawartości bioaktywnych składników z grupy związków fenolowych oraz ich zdolności wiązania wolnych rodników.

## **Material i metody badań**

Material do badań stanowiły owoce 11 odmian truskawki: Senga Sengana, Thuri-ga, Polka, Camarosa, Dukat, Elsanta, Onebor, Heros, Kent, Kama, Honeoye. Próby do badań pobierano z poletek doświadczalnych założonych w 2004 r. w Jarotach k. Olsztyna. Plantację założono na wyrównanej glebie klasy IIIa i IIIb.

Badaniom poddano owoce świeże, które zebrano w roku 2005, w stadium dojrzałości konsumpcyjnej, w trzech terminach, tak aby uzyskane wyniki jak najlepiej odzwierciedlały zasób analizowanych związków. Oznaczenia wykonywano w trzech równoległych powtórzeniach z każdej z zebranych partii owoców.

Związki fenolowe wyodrębniano poprzez czterokrotną macerację owoców 80% metanolem zakwaszonym do pH = 2.

W ekstraktach oznaczano: zawartość związków fenolowych ogółem stosując do wywołania barwy reagent Folina-Ciocalteu'a, zawartość antocyjanów metodą opracowaną przez Wrolstada [20], zawartość tanin skondensowanych metodą z zastosowaniem odczynnika wanilinowego. Podczas oznaczania wyżej wymienionych związków fenolowych kierowano się zaleceniami opisanymi w normach AOAC [1]. Aktywność przeciwutleniającą określano stosując test wiązania rodnika DPPH• opisany przez Moure i wsp. [10], a suchą masę oznaczano metodą wagową zgodnie z PN-90/A-75101/03 [13].

## Wyniki i dyskusja

Poszczególne odmiany owoców truskawek różniły się zawartością suchej masy. Najwięcej suchej masy stwierdzono w owocach odmiany Kent (11,53%), Senga Sengana (11,51%) i Thuriga (11,30%), a najmniej w truskawkach odmiany Elsanta (9,64%) i Onebor (9,73%). W pozostałych badanych owocach zawartość suchej masy mieściła się w zakresie od 9,86 do 10,89%. W celu zobiektywizowania poziomu badanych związków otrzymane wyniki podano w przeliczeniu na masę owoców świeżych i w przeliczeniu na suchą masę (tab. 1).

Zawartość związków fenolowych uzyskaną w świeżej masie i w przeliczeniu na suchą masę badanych owoców przedstawiono w tab. 1. i 2.

Tabela 1

Zawartość poszczególnych grup związków fenolowych w świeżej masie owoców truskawki.  
Content of particular groups of phenolic compounds in fresh mass of strawberry fruit.

Odmiana Cultivar	Sucha masa Dry mass	Polifenole ogółem Total polyphenols	Antocyjany Anthocyanins	Taniny skondensowane Condensed tannins
	[%]	[mg/100 g ś.m.] / [mg/100 g f.m.]		
Senga Sengana	11,51 ± 1,20	651,01 ± 62,78	3,89 ± 0,74	127,84 ± 6,49
Thuriga	11,30 ± 1,22	646,70 ± 140,01	4,55 ± 1,46	156,20 ± 33,17
Polka	10,56 ± 0,95	787,94 ± 65,69	4,34 ± 1,95	149,84 ± 40,42
Camarosa	10,08 ± 0,80	724,46 ± 37,26	4,51 ± 0,87	138,71 ± 5,87
Dukat	10,18 ± 1,32	640,76 ± 19,45	7,13 ± 0,40	198,05 ± 11,50
Elsanta	9,64 ± 0,86	724,25 ± 48,64	4,88 ± 1,47	153,89 ± 33,83
Onebor	9,73 ± 0,90	661,26 ± 52,11	5,32 ± 0,99	166,56 ± 20,53
Heros	9,86 ± 0,69	561,49 ± 15,40	6,74 ± 2,78	195,40 ± 58,96
Kent	11,53 ± 1,00	498,18 ± 11,07	2,98 ± 0,43	99,21 ± 9,12
Kama	10,89 ± 1,11	497,20 ± 34,61	5,23 ± 1,58	192,99 ± 76,73
Honeoye	9,99 ± 0,89	566,84 ± 15,10	7,55 ± 1,28	224,93 ± 30,68

Ustalono, że zawartość polifenoli ogółem wahała się od 497,20 mg/100 g ś.m., w przeliczeniu na kwas galusowy, do 787,94 mg/100 g ś.m. (tab. 1). Przeliczając powyższe dane na suchą masę koncentracja polifenoli stanowiła od 4864,1 do 8329,2 mg/100 g. Najwięcej polifenoli ogółem w suchej masie miała odmiana Polka (8329,2 mg kwasu galusowego w 100 g s.m. owoców), a najmniej Kent (4864,1 mg/100 g s.m.). W pozostałych badanych odmianach wartości kształtowały się na poziomie od 5230,9 do 8161,5 mg/100 g s.m. w przeliczeniu na kwas galusowy (tab. 2).

Wielkości te były o 12,3 do 105,2% wyższe od wartości poszczególnych odmian przedstawionych przez Skupień i Oszmiańskiego [17] oraz kilkukrotnie wyższe od

wyników uzyskanych przez innych autorów [5, 7]. Występujące różnice między poszczególnymi badaniami mogą wynikać z niedoskonałości zastosowanej metody Foli-na-Ciocalteu'a. Na przykład Shahidi i Naczk [16] podają, że metoda ta nie daje dokładnej oceny zawartości polifenoli, ponieważ zastosowane w niej reagenty mogą tworzyć reakcję barwną pod wpływem innych związków redukujących, np. witaminy C lub niektórych aminokwasów. Stąd też na wielkość otrzymanych wyników mogą wpływać także inne substancje biologicznie aktywne o właściwościach przeciwutlenia-czy rozpuszczalnych w metanolu.

Tabela 2

Zawartość poszczególnych grup związków fenolowych w suchej masie owoców truskawki  
Content of particular groups of phenolic compounds in dry mass of strawberry fruit

Odmiana Cultivar	Polifenole ogółem Total polyphenols	Antocyjany Anthocyanins	Taniny skondensowane Condensed tannins
	[mg/100 g s.m.] / [mg/100 g d.m.]		
Senga Sengana	5726,83 ± 1022,15	33,52 ± 3,64	1113,62 ± 50,04
Thuriga	5765,26 ± 832,73	41,93 ± 16,30	1380,38 ± 361,82
Polka	8329,23 ± 1141,21	44,73 ± 17,96	1558,38 ± 337,72
Camarosa	7701,56 ± 478,92	48,04 ± 9,83	1474,47 ± 77,36
Dukat	6948,62 ± 278,94	77,52 ± 7,34	2151,98 ± 201,71
Elsanta	8161,47 ± 539,27	54,93 ± 16,51	1733,84 ± 379,05
Onebor	7284,28 ± 398,00	58,91 ± 12,53	1843,04 ± 277,31
Heros	6084,78 ± 72,24	73,66 ± 31,81	2131,06 ± 688,86
Kent	4864,08 ± 402,84	29,47 ± 7,16	977,21 ± 184,51
Kama	5230,91 ± 337,35	55,11 ± 16,98	2034,96 ± 819,88
Honeoye	5870,86 ± 441,32	79,34 ± 20,47	2356,41 ± 528,58

Zawartość antocyjanów w świeżej masie badanych owoców truskawki wynosiła od 2,98 do 7,55 mg/100 g, a w przeliczeniu na suchą masę od 29,47 do 79,34 mg/100 g (tab. 1 i 2). Najwięcej antocyjanów zawierały truskawki odmiany Honeoye (79,34 mg/100 g) i Dukat (77,52 mg/100 g), a najmniej Kent (29,47 mg/100 g) i Senga Sengana (33,52 mg/100 g). W pozostałych odmianach wartości kształtowały się na poziomie od 41,93 do 73,66 mg/100 g.

Otrzymane wyniki były od dwóch do dziesięciu razy niższe od wartości literaturowych [7, 8, 17, 19]. O rozbieżnościach w wynikach mogły decydować warunki pogodowe w jakich dojrzewały owoce oraz sposób ich uprawy. W literaturze przedmiotu występują informacje, że na biosyntezę antocyjanów poważny wpływ wywierają pro-

mienie słoneczne oraz niedobór azotu przy jednoczesnym nadmiarze węglowodanów [14].

Zawartość tanin skondensowanych w owocach badanych odmian kształtowała się na poziomie od 99,21 do 224,93 mg/100 g ś.m., co odpowiadało wartościom od 977,21 do 2356,41 mg/100 g s.m. Najwięcej tanin skondensowanych było w odmianach Honeoye (2356,41 mg/100 g s.m.), Dukat (2151,98 mg/100 g s.m.) i Heros (2131,06 mg/100 g s.m.), a najmniej w odmianie Kent (977,21 mg/100 g s.m.). W pozostałych odmianach truskawek wartości były na poziomie od 1113,62 do 2034,96 mg/100 g s.m. (tab. 1, 2).

Wartości te były zgodne z przedstawionymi w literaturze, tj. 97,0-183,0 mg/100 g ś.m. [21] i 145,0 mg/100 g ś.m. [2], chociaż okazały się wyższe niż podane przez Santos-Buelga i Scalbert [15] - 2-50 mg/100 g ś.m. Różnice te mogą częściowo wynikać z zastosowania innej metody ich oznaczania.

W trakcie prowadzonych badań ustalono, że zdolność poszczególnych wyciągów do wiązania rodnika DPPH• kształtowała się na poziomie od 44,8 do 62,9% (tab. 3). Najwyższą aktywnością charakteryzowały się owoce odmiany Senga Sengana (62,9%), a najmniejszą Honeoye (44,8%). W pozostałych odmianach truskawek wartości mieściły się w zakresie od 48,2 do 61,9%. Otrzymane wyniki były zbliżone do wartości przedstawionych w pracy Cordenunsi i wsp. [5].

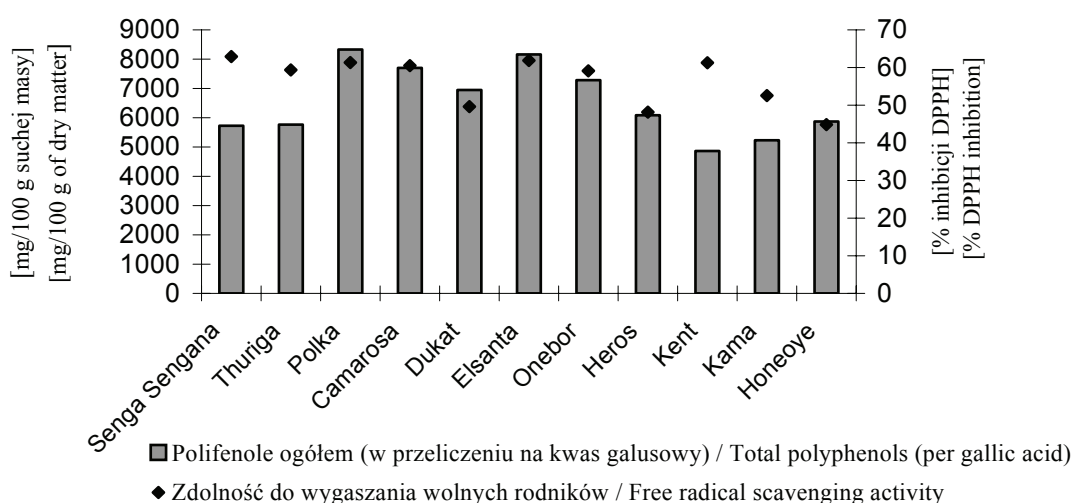
Tabela 3

Zdolność metanolowych ekstraktów owoców truskawki do wygaszania rodnika DPPH•.  
DPPH• radical scavenging activity of methanol extracts of strawberry fruit.

Odmiana Cultivar	Zdolność do wygaszania rodnika DPPH• DPPH• radical scavenging activity [%]
Senga Sengana	62,92 ± 2,45
Thuriga	59,36 ± 7,27
Polka	61,33 ± 8,24
Camarosa	60,50 ± 1,89
Dukat	49,61 ± 6,73
Elsanta	61,87 ± 2,62
Onebor	59,11 ± 4,97
Heros	48,15 ± 13,83
Kent	61,26 ± 3,38
Kama	52,56 ± 9,19
Honeoye	44,84 ± 8,74



Na podstawie otrzymanych wyników wyliczono zależność pomiędzy zawartością antocyjanów i tanin skondensowanych a zdolnością badanych związków do wiązania rodnika DPPH<sup>•</sup>. Analiza statystyczna wykazała w tym przypadku odwrotną proporcjonalność ( $r = -0,91$ ) uzyskanych wyników. Natomiast zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy ogólną zawartością polifenoli w poszczególnych odmianach truskawek a zdolnością przeciwrodnikową (rys. 1).



Rys. 1. Ogólna zawartość związków polifenolowych w ekstraktach z owoców truskawki oraz ich zdolność do wygaszania rodnika DPPH<sup>•</sup>.

Fig. 1. Total content of polyphenol compounds in extracts of strawberry fruit and their DPPH<sup>•</sup> radical scavenging activity.

## Wnioski

1. Największą zawartością związków fenolowych ogółem charakteryzowały się truskawki odmiany Polka i Elsanta (powyżej 8000 mg/100 g s.m. w przeliczeniu na kwas galusowy), najmniejszą zaś Kent i Kama (poniżej 5300 mg/100 g s.m.).
2. Zawartość antocyjanów kształtowała się na poziomie od 29,5 mg/100 g s.m. w owocach odmiany Kent, do 79,3 mg/100 g s.m. w truskawkach odmiany Honeoye.
3. Zawartość tanin skondensowanych wyniosła od 977,2 mg/100 g s.m. w truskawkach odmiany Kent do 2356,4 mg/100 g s.m. w owocach odmiany Honeoye.
4. Zdolność do wiązania rodników DPPH<sup>•</sup> była zróżnicowana w zależności od odmiany i wahała się od 44,8% - truskawki odmiany Honeoye do 62,9% - owoce odmiany Senga Sengana.

5. W większości odmian truskawek stwierdzono dodatnie korelacje pomiędzy ogólną zawartością polifenoli a zdolnością wiązania rodników DPPH<sup>•</sup>.
6. Pomiedzy zawartością antocyjanów i tanin skondensowanych a aktywnością przeciwutleniającą ekstraktów badanych odmian truskawek stwierdzono wysoką, lecz ujemną korelację ( $r = -0,91$ ).

### Literatura

- [1] AOAC. 1974. Official Methods of Analysis. 12<sup>th</sup> ed.. Washington DC, **9**, 110.
- [2] Beattie J., Crozier A., Duthie G.G.: Potential health benefits of berries. *Curr. Nutr. Food Sci.*, 2005, **1**, 71-86.
- [3] Borowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy (1). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **5**, 11-12.
- [4] Borowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy (2). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **6**, 29-30.
- [5] Cordenunsi B.R., Genovese M.I., do Nascimento J.R.O., Hassimotto N.M.A., dos Santos R.J., Lajolo F.M.: Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *Food Chem.*, 2005, **91**, 113-121.
- [6] Häkkinen S., Heinonen M., Kärenlampi S., Mykkänen H., Ruuskanen J., Törrönen R.: Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Res. Int.*, 1999, **32**, 345-353.
- [7] Hannum S.M.: Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2004, **44**, 1-17.
- [8] Mättä-Riihinen K.R., Kamal-Eldin A., Törrönen A.R.: Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* Sp. (Family *Rosaceae*). *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 6178-6187.
- [9] Moszczyński P.: Rola polifenoli roślinnych we współczesnym żywieniu. *Zdrowa Żywność – Zdrowy Styl Życia*, 1997, **2 (36)**, 8-11.
- [10] Moure A., Franco D., Sineiro J., Dominguez H., Núñez M.J., Lema J.M.: Antioxidant activity of extracts from *Gevuina avellana* and *Rosa rubiginosa* defatted seeds. *Food Res. Int.*, 2001, **34**, 103-109.
- [11] Naumann R.: Nie tylko witaminy... Bioaktywne jedzenie od A do Z. Wydawnictwo Sic. s.c., Warszawa 1998.
- [12] Nosecka B., Klimek G.: Rynek truskawek w Polsce. *Mat. Ogólnopol. Konf. Truskawkowej ISiK, Skierniewice 2005*, s. 5-18.
- [13] PN-90/A-75101/03. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [14] Rosicka-Kaczmarek J.: Polifenole jako naturalne antyoksydanty w żywności. *Przeg. Piek. Cuk.*, 2004, **6**, 12-16.
- [15] Santos-Buelga C., Scalbert A.: Review Proanthocyanidins and tanin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80**, 1094-1117.
- [16] Shahidi F., Naczk M.: *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. CRC Press LLC, 2004.
- [17] Skupień K., Oszmiański J.: Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) grown in northwest Poland. *Eur. Food Res. Technol.*, 2004, **219**, 66-70.
- [18] Törrönen R., Häkkinen S., Kärenlampi S., Mykkänen H.: Flavonoids and phenolic acids in selected berries. *Canc. Lett.*, 1997, **114**, 191-192.

- [19] Wicklund T., Rosenfeld H.J., Martinsen B.K., Sundfør M.W., Lea P., Bruun T., Blomhoff R., Haffner K.: Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. *LWT*, 2005, **38**, 387-391.
- [20] Wrolstad R.E.: color and pigment analyses in fruit products. Agricultural Experiment Station, Oregon State University, Station Bulletin 624, Reprinted May 1993.
- [21] [www.lpi.oregonstate.edu](http://www.lpi.oregonstate.edu)
- [22] Ziemiański Ś.: Normy żywienia człowieka. Fizjologiczne podstawy. Rozdział 8. Rola antyoksydantów żywieniowych w stanie zdrowia i choroby. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2001.

### PHENOLIC COMPOUNDS IN FRUIT OF SELECTED VARIETIES OF STRAWBERRY

#### S u m m a r y

This study presents the content of basic phenolic compounds in the fruit of 11 cultivars of strawberries (Senga Sengana, Thuriga, Polka, Camarosa, Dukat, Elsanta, Onebor, Heros, Kent, Kama and Honeoye), cultivated on experimental plots established in 2004 in Jaroty, near Olsztyn. The analysis included fresh fruit harvested in June 2005. Phenolic compounds were isolated by macerating the fruit four times with 80% methanol.

Methanol extracts were analysed to determine the content of general phenolic compounds, anthocyanins, and condensed tannins. Additionally, their DPPH<sup>•</sup> radical scavenging activity was determined.

On the basis of the results obtained, it was established that the Polka and Elsanta cultivars of strawberry had the highest total content of phenolic compounds (over 8,000 mg/100 g of dry mass; per gallic acid), while Kent and Kama varieties showed the lowest value (below 5,300 mg/100 g of dry mass). Anthocyanin content ranged from 29.5 mg/100 g d. m. in fruit of Kent variety, to 79.3 mg/100 g d. m. for Honeoye variety. DPPH<sup>•</sup> radical scavenging activity varied depending on the cultivar and ranged from 44.8% for strawberries of Honeoye variety to 62.9% for Senga Sengana variety of fruit. For most varieties, there was a positive correlation between the content of general polyphenols and DPPH<sup>•</sup> radical scavenging activity.

Condensed tannins content in the analysed fruit ranged from 977.2 mg/100 g d.m. in the Kent variety of strawberries to 2356.4 mg/100 g d. m. in fruit of the Honeoye variety. There was an inverse proportion between the content of anthocyanins and condensed tannins and the antioxidant activity of the examined varieties of strawberries ( $r = -0.91$ ).

**Key words:** strawberries, general polyphenols, anthocyanins, condensed tannins, antioxidant activity 

JOANNA BRYŚ, MAGDALENA WIRKOWSKA, BOLESŁAW KOWALSKI

## PRZEESTRYFIKOWANIE MIESZANIN TŁUSZCZU MLEKOWEGO Z OLEJEM SŁONECZNIKOWYM W OBECNOŚCI PREPARATU NOVOZYM 435

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian, jakie zachodzą w mieszaninach tłuszczu mlekowego z olejem słonecznikowym w wyniku przeestryfikowania w obecności preparatu Novozym 435. Przedmiotem badań były mieszaniny tłuszczu mlekowego i oleju słonecznikowego o składzie wagowym odpowiednio 1:3, 1:1, 3:1. Mieszaniny przeestryfikowano w temp. 80°C przez 2, 4 i 8 h w obecności preparatu enzymatycznego Novozym 435. Przeestryfikowanie spowodowało wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych we wszystkich mieszaninach. Temperatura mięknięcia i zawartość fazy stałej produktów przeestryfikowania zależała przede wszystkim od składu mieszanin wyjściowych. Przeestryfikowanie nie spowodowało zmian składu kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach, zmieniła się natomiast struktura triacylogliceroli.

**Słowa kluczowe:** przeestryfikowanie, tłuszcz mlekowy, olej słonecznikowy, Novozym 435

### Wprowadzenie

Tłuszcz mlekowy stanowi mieszaninę ponad stu tysięcy różnych triacylogliceroli. Z ponad 400 różnych kwasów występujących w tłuszczu mlekowym długołańcuchowe nasycone kwasy tłuszczowe stanowią około 45%, natomiast krótkołańcuchowe stanowią około 25% wszystkich kwasów tłuszczowych. Dzięki specyficznemu składowi kwasów tłuszczowych tłuszcz mlekowy jest jednym z najlepiej przyswajalnych tłuszczów jadalnych, w związku z tym powinien zajmować ważne miejsce w żywieniu człowieka [1, 4]. W ostatnich dwóch dekadach można jednak zaobserwować zmniejszenie konsumpcji masła. Główną barierą zwiększenia sprzedaży produktów, w skład których wchodzi wyłącznie tłuszcz mlekowy jest między innymi ich wysoka cena oraz ograniczone właściwości plastyczne. Funkcjonalność tłuszczu mlekowego oraz jego

wartość zdrowotną można polepszyć poprzez mieszanie go z olejami roślinnymi oraz poddanie mieszanin modyfikacjom [8].

Potencjalnie największe znaczenie technologiczne ma reakcja przeestryfikowania, która umożliwia dokonywanie zmian rozmieszczenia kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach. Dzięki temu można otrzymywać tłuszcze zmodyfikowane o pożądanej temperaturze topnienia i o określonych właściwościach krystalizacyjnych [6]. Proces przeestryfikowania może zachodzić w obecności katalizatorów chemicznych i biologicznych. Obecnie coraz większym zainteresowaniem cieszy się przeestryfikowanie tłuszczów z zastosowaniem katalizatorów biologicznych, jakimi są enzymy lipolityczne. W procesie enzymatycznego przeestryfikowania tłuszczów reakcje przebiegają z dostateczną szybkością w łagodnych warunkach, co umożliwia łatwiejsze sterowanie procesem i przerwanie go na z góry założonym etapie [15].

Celem pracy było określenie zmian, jakie zachodzą w mieszaninach tłuszczu mlekowego z olejem słonecznikowym w wyniku przeestryfikowania w obecności preparatu Novozym 435.

### **Materiał i metody badań**

Przedmiotem badań były mieszaniny tłuszczu mlekowego i oleju słonecznikowego o składzie wagowym odpowiednio 1:3, 1:1, 3:1. Głównymi składnikami tłuszczu mlekowego są kwasy: palmitynowy (29,9%) oraz oleinowy (20,9%). W oleju słonecznikowym występuje głównie kwas linolowy (61,2%) oraz oleinowy (25,3%). Reakcje przeestryfikowania mieszanin wykonywano przez 2, 4 i 8 h w temp. 80°C w obecności preparatu enzymatycznego Novozym 435. Preparat ten zawiera lipazę niespecyficzną, otrzymaną z *Candida antarctica*, immobilizowaną na makroporowatej żywicy akrylowej. Zawartość wody w preparacie wynosiła 2%, a jego dozowanie wynosiło 8% względem masy tłuszczu.

W mieszaninach przed i po przeestryfikowaniu oznaczano liczbę kwasową metodą miareczkową [14]. Frakcje triacylogliceroli (TAG) izolowano metodą chromatografii kolumnowej [12]. W wyizolowanych z mieszanin fizycznych i produktów ich przeestryfikowania frakcjach triacylogliceroli oznaczano temperaturę mięknięcia metodą kapilary otwartej [13] – wykonywano dwa równoległe oznaczenia, a bezwzględne różnice pomiędzy wynikami nie przekraczały 0,5°C - oraz zawartość fazy stałej metodą pulsacyjnego protonowego magnetycznego rezonansu jądrowego [11] – wykonywano po dwa równoległe oznaczenia, a bezwzględne różnice pomiędzy wynikami nie przekraczały wartości przewidzianych w Polskiej Normie [11].

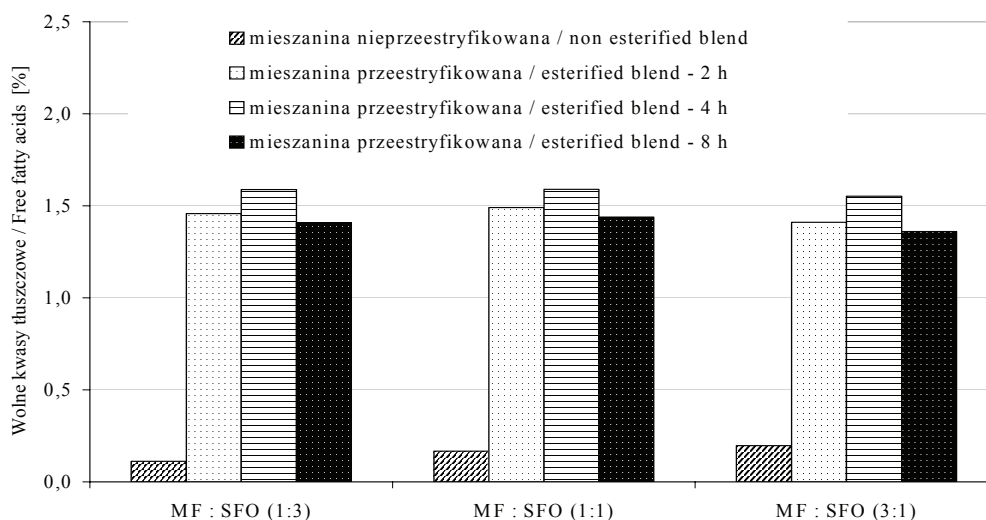
Określano również skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej [10] oraz ich rozmieszczenie w pozycjach *sn-2* i *sn-1,3* triacylogliceroli [2].

W tłuszczach, obok triacylogliceroli, znajdują się również pewne ilości mono- i diacylogliceroli, a także wolnych kwasów tłuszczowych stanowiących frakcję nietria-

cyloglicerolową. Zwiększona zawartość tej frakcji w produkcie tłuszczowym może zmniejszać jego odporność na utlenianie, a także jest przyczyną strat substancji tłuszczowej [7]. Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) w mieszaninach fizycznych oraz w produktach ich przeestryfikowania została obliczona na podstawie liczb kwasowych oraz wyników oznaczeń GLC. Bezwzględna różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wolnych kwasów tłuszczowych nie przekraczała 3% średniej arytmetycznej tych wyników, co jest zgodne z Polską Normą [14].

### Wyniki i dyskusja

W wyniku przeestryfikowania zaobserwowano znaczący wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych (rys. 1). W procesie enzymatycznego przeestryfikowania zachodzą dwie przeciwstawne reakcje: częściowa hydroliza i ponowna estryfikacja niepełnych acylogliceroli, co powoduje, że w końcowym produkcie obecne są, obok acylogliceroli, również pewne ilości wolnych kwasów tłuszczowych [6]. Największy wpływ na zawartość FFA ma czas trwania procesu enzymatycznego. Niezależnie od początkowego składu mieszanin fizycznych obserwowano wzrost zawartości FFA w ciągu pierwszych 2 h trwania procesu. Okres, po którym ustalała się równowaga wynosił około 4 h.



Rys. 1. Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) w mieszaninach tłuszczu mlekowego (MF) z olejem słonecznikowym (SFO) przed i po przeestryfikowaniu.

Fig. 1. The concentration of free fatty acids (FFA) for milkfat (MF) with sunflower oil (SFO) blends before and after interesterification.

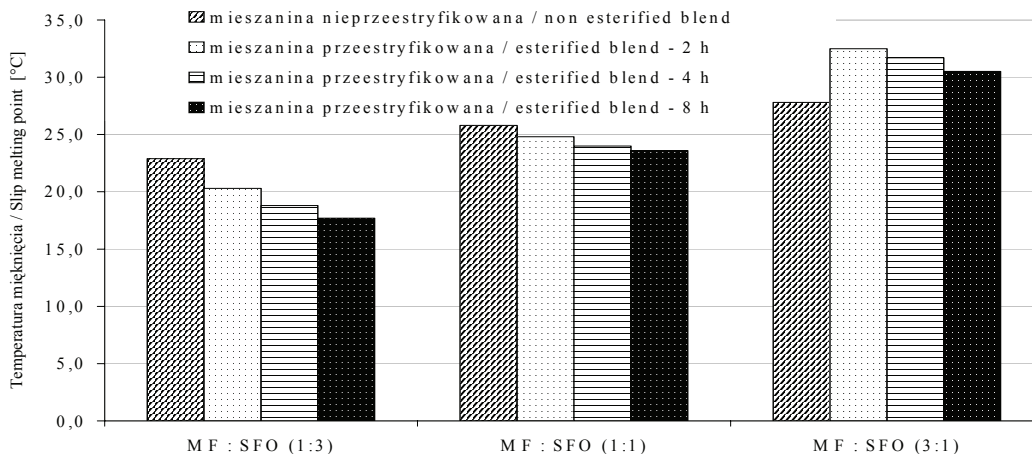
Jedną z cech tłuszczów w znacznym stopniu określającą ich przydatność użytkową jest konsystencja. Cecha ta najczęściej musi być kształtowana w drodze różnorod-

nych zabiegów (fizycznych, chemicznych, mikrobiologicznych). Wynika to z faktu, że tłuszcze wprost pozyskiwane z surowców roślinnych lub zwierzęcych w nielicznych tylko przypadkach są akceptowane przez odbiorców i konsumentów. Najbardziej rozpowszechnionym wskaźnikiem konsystencji tłuszczów jest temperatura mięknięcia [5]. Analizując wartości tego parametru produktów przeestryfikowania w obecności preparatu Novozym 435 (rys. 2) stwierdzono, że temperatura mięknięcia zależała przede wszystkim od składu mieszanin wyjściowych. W przypadku mieszanin zawierających 25% lub 50% tłuszczu mlekowego obserwowano obniżenie temperatury mięknięcia frakcji triacylogliceroli wyizolowanych z produktów przeestryfikowania, natomiast w przypadku mieszaniny zawierającej 75% tłuszczu mlekowego obserwowano wzrost temperatury mięknięcia po przeestryfikowaniu. Obniżenie temperatury mięknięcia było tym większe, im mniejsza była zawartość tłuszczu mlekowego w mieszaninach wyjściowych. Wyniki te znajdują potwierdzenie w naszych wcześniejszych badaniach [3].

Redukcja lub podwyższenie temperatury mięknięcia nie zawsze jest oczywistym dowodem powstających po przeestryfikowaniu zmian w strukturze triacylogliceroli, a tym samym zmian konsystencji. Lepszym odzwierciedleniem jest zawartość fazy stałej, mierzona w szerokim zakresie temperatury [5]. W celu wzbogacenia tłuszczu mlekowego w niżej topliwe triacyloglicerole przeestryfikowywano go olejem słonecznikowym. Takie postępowanie pozwala również na wzbogacenie finalnego tłuszczu w kwasy polienowe, co ma istotne znaczenie ze względów żywieniowych.

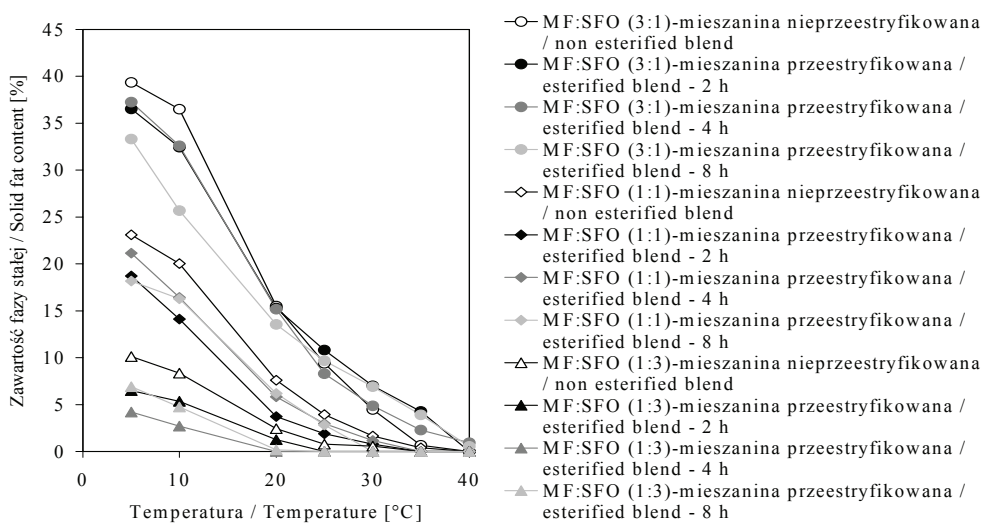
Analizując profile zmian zawartości fazy stałej (rys. 3) w triacyloglicerolach wyizolowanych z produktów przeestryfikowania mieszanin tłuszczu mlekowego z olejem słonecznikowym stwierdzono, że przeestryfikowanie spowodowało zmniejszenie zawartości fazy stałej w prawie wszystkich mieszaninach doświadczalnych. Redukcja zawartości fazy stałej jest związana z tym, że zmienia się stosunek wyżej topliwych triacylogliceroli do pozostałej ich części obecnej w mieszaninie po przeestryfikowaniu.

W analizie lipidów dużo uwagi poświęca się badaniom kwasów tłuszczowych. Rodzaj kwasów tłuszczowych występujących w danym tłuszczu oraz ich rozmieszczenie w cząsteczkach triacylogliceroli decydują o jego właściwościach. Analizując skład procentowy kwasów tłuszczowych w mieszaninach przeestryfikowanych (tab. 1) stwierdzono, że zmienił się on nieznacznie w porównaniu ze składem kwasów tłuszczowych mieszanin fizycznych. Wyniki wskazują na występowanie korzystnych ze względów żywieniowych kwasów polienowych w triacyloglicerolach finalnych produktów reakcji. Oznacza to, że nastąpiło wbudowanie się tych kwasów w powstałe w wyniku przeestryfikowania struktury triacylogliceroli.



Rys. 2. Temperatura mięknięcia triacylogliceroli mieszanin tłuszczu mlekowego (MF) z olejem słonecznikowym (SFO) przed i po przeestryfikowaniu.

Fig. 2. Slip melting points of triacylglycerols of milkfat (MF) with sunflower oil (SFO) blends before and after interesterification.



Rys. 3 Zawartość fazy stałej w funkcji temperatury w triacyloglicerolach mieszanin tłuszczu mlekowego (MF) z olejem słonecznikowym (SFO) przed i po przeestryfikowaniu.

Fig. 3 The solid fat content profiles as a function of temperature in triacylglycerols of milkfat (MF) with sunflower oil (SFO) blends before and after interesterification.

W trakcie przeestryfikowania zmienia się rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w pozycjach *sn-2* i *sn-1,3* triacylogliceroli. Preparat Novozym 435 zawiera lipazę niespecyficzną, zatem rozmieszczenie kwasów tłuszczowych pomiędzy pozycje *sn-2* i *sn-1,3* triacylogliceroli mieszanin przeestryfikowanych jest bliskie statystycznemu. W tab.



1. zamieszczono dane dotyczące udziału kwasów tłuszczowych w pozycjach wewnętrznych triacylogliceroli (TAG) wybranej mieszaniny przeestryfikowanej (czas reakcji - 4 h). Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych pomiędzy pozycje wewnętrzną i zewnętrzną TAG mieszanin przeestryfikowanych przez 8 h jest również bliskie statystycznemu. W naturalnym tłuszczu mlekowym nasycone kwasy tłuszczowe, takie jak palmitynowy czy mirystynowy są zlokalizowane w pozycji *sn*-2 triacylogliceroli. W procesie enzymatycznego przeestryfikowania z użyciem lipazy niespecyficzej następuje równomierny rozkład tych kwasów pomiędzy wszystkie pozycje w cząsteczkach triacylogliceroli [16].

Tabela 1

Skład wybranych kwasów tłuszczowych oraz udział poszczególnych kwasów w pozycjach wewnętrznych (*sn*-2) triacylogliceroli (TAG) mieszaniny tłuszczu mlekowego z olejem słonecznikowym (1:1) przed i po przeestryfikowaniu (czas reakcji: 4 h).

Fatty acid compositions and percentage of a given fatty acid in *sn*-2 position of triacylglycerols of 50% MF + 50% SFO mixture and its chosen interesterification product (time of interesterification: 4 h).

Kwas tłuszczowy Fatty acid n:m*	Skład kwasów tłuszczowych Fatty acid compositions [%]		Udział głównych kwasów tłuszczowych w pozycji <i>sn</i> -2 TAG Percentage of a given fatty acid in <i>sn</i> -2 position of TAG [%]	
	Mieszanina nieprzeestryfikowana Non esterified blend	Mieszanina przeestryfikowana Esterified blend	Mieszanina nieprzeestryfikowana Non esterified blend	Mieszanina przeestryfikowana Esterified blend
14:0	5,2	5,9	53,8	39,0
16:0	20,1	20,7	31,0	35,9
18:0	7,2	6,2	14,4	27,4
18:1 (9-cis)	23,0	22,1	31,6	31,7
18:2 (all-cis)	32,1	32,5	38,4	31,9
18:3 (all-cis)	0,4	0,4	33,3	33,3

\* n – liczba atomów węgla / number of carbon atoms; m – liczba podwójnych wiązań / number of double bonds

Zastosowanie katalizatora chemicznego także umożliwia uzyskanie ujednoczenia składu kwasów tłuszczowych we wszystkich pozycjach cząsteczek triacylogliceroli [3]. Przeestryfikowanie chemiczne wiąże się z koniecznością stosowania wysokiej temperatury oraz związków chemicznych jako katalizatorów, co może skutkować pogorszeniem jakości produktu końcowego [9]. Przeestryfikowanie w obecności lipaz przebiega natomiast w łagodnych warunkach, z dostateczną szybkością pozwalającą na

przerwanie procesu na założonym etapie. Technologia związana z użyciem naturalnych katalizatorów, jakimi są lipazy, nie stanowi zagrożenia dla środowiska oraz jest praktycznie bezodpadowa [15].

### Wnioski

1. W przeestryfikowanych w obecności preparatu Novozym 435 mieszaninach tłuszczu mlekowego z olejem słonecznikowym stwierdzono wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w stosunku do ich zawartości w mieszaninach wyjściowych.
2. Temperatura mięknięcia i zawartość fazy stałej produktów przeestryfikowania zależały przede wszystkim od składu mieszanin wyjściowych.
3. Potwierdzono, że przeestryfikowanie nie powoduje zmian składu procentowego kwasów tłuszczowych w produktach w stosunku do mieszanin wyjściowych.
4. W wyniku przeestryfikowania nastąpiła zmiana rozmieszczenia kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach produktów reakcji w stosunku do ich rozmieszczenia w mieszaninach wyjściowych.
5. Rozkład kwasów tłuszczowych po reakcji przeestryfikowania w obecności preparatu Novozym 435 jest bliski statystycznemu.

### Literatura

- [1] Balcao V. M., Malcata F. X.: Lipase catalyzed modification of milkfat. *Biotech. Adv.*, 1998, **16** (2), 309–341.
- [2] Brockerhoff H.: A stereospecific analysis of triglycerides. *J. Lipid Res.*, 1965, **6**, 10–15.
- [3] Bryś J., Gruczyńska E., Kowalski B., Tarnowska K.: Przeestryfikowanie mieszanin tłuszczu mlekowego i oleju rzepakowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3** (40) Supl., 18–26.
- [4] Chmura M., Staniewski B.: Przeestryfikowanie enzymatyczne jako metoda modyfikacji składu i właściwości tłuszczu mlekowego. *Przeł. Mlecz.*, 2001, **6**, 271–275.
- [5] Jakubowski A.: Przeestryfikowanie jako metoda modyfikacji konsystencji tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 1990, **28** (2), 21–29.
- [6] Ledóchowska E., Datta I.: Enzymatyczne i chemiczne przeestryfikowanie mieszaniny oleju rzepakowego i stearyny palmowej. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30** (4), 169–183.
- [7] Ledóchowska E., Datta I.: Wpływ frakcji nietriacyloglicerolowej na stabilność oksydacyjną tłuszczu przeestryfikowanego chemicznie i enzymatycznie. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1999, **18** (1), 15–23.
- [8] Marangoni A. G., Rousseau D.: Chemical and enzymatic modification of butterfat and butterfat-canola oil blends. *Food Res. Int.*, 1998, **31** (8), 595–599.
- [9] Marangoni A. G., Rousseau D.: Engineering triacylglycerols: the role of interesterification. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6** (10), 329–335.
- [10] PN-EN ISO 5508: 1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metyloowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.

- [11] PN-EN ISO 8292: 1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości fazy stałej. Metoda pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego.
- [12] PN-EN ISO 8420: 1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości związków polarnych.
- [13] PN-ISO 6321: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie punktu topnienia w kapilarze otwartej (punkt płynięcia).
- [14] PN-ISO 660: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [15] Quinlan P., Moore S.: Modification of triglycerides by lipases: process technology and its application to the production of nutritionally improved fats. *International News on Fats, Oils and Related Materials*, 1993, **4 (5)**, 580–585.
- [16] Rodrigues J. N., Gioielli L. A.: Chemical interesterification of milkfat and milkfat-corn oil blends. *Food Res. Int.*, 2003, **36 (2)**, 149–159.

#### INTERESTERIFICATION OF MILKFAT WITH SUNFLOWER OIL MIXTURES IN PRESENCE OF NOVOZYM 435

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

The aim of the research was to investigate the changes of the milkfat with sunflower oil mixtures as a result of the interesterification in the presence of enzymatic preparation Novozym 435. The subject of the examination were the milkfat with sunflower oil mixtures with the following weight composition: 1:3, 1:1, 3:1. The mixtures have been interesterified at the temperature of 80°C for 2, 4 and 8 hours in the presence of enzymatic preparation Novozym 435. After interesterification an increase in the free fatty acids content for all mixtures was observed. The slip melting temperatures and the solid fat contents of the interesterification products depended on the mixtures composition before the process. The interesterification has not influenced the composition of the fatty acids in triacylglycerols, but the structure of the triacylglycerols changed.

**Key words:** interesterification, milkfat, sunflower oil, Novozym 435 ☒

ANNA BZDUCHA, MIECZYSLAW W. OBIEDZIŃSKI

**BADANIA NAD ZWIĄZKAMI LOTNYMI SERÓW Z PRZEROSTEM  
PLEŚNI TECHNIKĄ ANALIZY FAZY NADPOWIERZCHNIOWEJ  
(SPME) I CHROMATOGRAFII GAZOWEJ SPRĘŻONEJ ZE  
SPEKTROMETRIĄ MASOWĄ (GC/MS)**

Streszczenie

W pracy dokonano identyfikacji lotnych związków fazy nadpowierzchniowej - zapachowej wybranych polskich serów Rokpol oraz Lazor z przerostem pleśni *Penicillium roqueforti*. Do badań zastosowano technikę mikroekstrakcji związków lotnych z fazy nadpowierzchniowej próbki do fazy stałej (SPME) przy zastosowaniu włókien krzemowych pokrytych fazami DVB/CAR/PDMS, a następnie rozdzielania i identyfikacji związków techniką chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrem mas (GC/MS). W badanych serach zidentyfikowano ponad dwadzieścia lotnych związków, których skład jakościowy był podobny, aczkolwiek występowały różnice w ilościowych stosunkach poszczególnych komponentów zapachu.

Badania zmian związków lotnych wsparto określeniem stopnia proteolizy na podstawie stosunku zawartości azotu rozpuszczalnego w środowisku o pH 4,6 do azotu ogółem. W serach typu Lazor stosunek ten określono na blisko 39% - w serze Lazor perłowy i ok. 49% - w serze Lazor blue. Stopień lipolizy badano określając zawartość lotnych kwasów tłuszczowych. Zawartość lotnych kwasów tłuszczowych była największa w serze Lazor perłowy (ok. 238 mg/kg sera), zaś najmniejszą zawartością lotnych kwasów tłuszczowych charakteryzował się ser Rokpol (ok. 85 mg/kg).

**Słowa kluczowe:** sery pleśniowe, związki lotne, SPME-GC-MS

## Wprowadzenie

Powstawanie związków lotnych kształtujących cechy sensoryczne serów związane jest z katabolicznymi przemianami białek, lipidów, laktozy oraz cytrynianów mleka podczas dojrzewania skrzepu kazeinowego [12]. Proteoliza, lipoliza i glikoliza zachodzą w wyniku procesów fermentacyjnych wywołanych mikroflorą stosowanych kultur starterowych i endogennych enzymów mleka, a także przemian nieenzymatycznych,

---

Mgr inż. A. Bzducha, prof. dr hab. M. W. Obiedziński, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02- 776 Warszawa

jak na przykład autooksydacja tłuszczów i białek [4]. W serach z dodatkiem pleśni *Penicillium roqueforti* szczególne znaczenie ma intensywność procesów lipolizy i proteolizy [6]. Powstające w wyniku lipolizy i procesów utleniania wolne kwasy tłuszczowe (WKT) są prekursorami ketonów metylowych, aldehydów, estrów aromatycznych i alifatycznych czy laktonów. Krótko- i średniołańcuchowe WKT, mające znaczący wpływ na cechy sensoryczne serów, mogą powstawać również na drodze przemian oksydatywnej deaminacji aminokwasów [3].

Bukiet zapachowy serów jest rezultatem kształtowania się pożądanej przez konsumenta relacji między związkami lotnymi fazy nadpowierzchniowej serów (ang. headspace), typowy zapach zależy również od wzajemnych stosunków ilościowych występujących związków [4, 7].

Związki lotne w żywności występują zazwyczaj w bardzo niskiej koncentracji i w badaniach ich składu niezbędne są: izolacja z matrycy produktu oraz zatężanie, aby można było scharakteryzować ich skład i zawartość poszczególnych związków chemicznych technikami chromatograficznymi przez zastosowanie dostępnych detektorów. Od kilku lat techniką do wyodrębnienia i koncentracji związków lotnych z fazy nadpowierzchniowej produktów spożywczych stosuje się mikroekstrakcję do fazy stałej włókna krzemionkowego pokrytego fazą stacjonarną o odpowiedniej polarności (Solid Phase Microextraction), co zdecydowanie uprościło stosowane w poprzednich dziesięcioleciach uciążliwe postępowania izolacji związków zapachowych na drodze ekstrakcji czy ekstrakcji połączonej z destylacją i inne [8].

Celem pracy było wstępne określenie składu związków lotnych wybranych polskich serów wytwarzanych z przerostem pleśni *Penicillium roqueforti* oraz rozpoznanie zmian ilościowych i jakościowych podczas ich technologicznego dojrzewania, uwzględniając wybrane wskaźniki lipolizy i proteolizy zachodzących podczas dojrzewania.

### **Material i metody badań**

Materiał do badań stanowiły dostępne w obrocie na rynku warszawskim polskie sery z przerostem pleśni *Penicillium roqueforti* typu Lazur: „blue”, „turkusowy” i „perłowy” oraz Rokpol.

Charakterystykę procesów lipolizy i proteolizy serów prowadzono odpowiednio poprzez oznaczenie zawartości i składu lotnych kwasów tłuszczowych oraz oznaczenie zawartości azotu ogółem i azotu rozpuszczalnego w środowisku o pH 4,6 metodą Kjeldahla.

#### *Analiza lotnych kwasów tłuszczowych techniką HS-SPME- GC-MS*

Do badań pobierano 5 g sera i ucierano w moździerz z 10 g NaCl uprzednio odwonionego w termostacie w temp. 100°C, dodawano 20 cm<sup>3</sup> zakwaszonej wody desty-

lowanej i przenoszono do szklanego naczynia z zamknięciem. Tak przygotowaną próbkę termostatowano w temp. 50°C przez 15 min, po czym wprowadzano do fazy nadpowierzchniowej włókno z fazą typu DVB/CAR/PDMS (diwinylobenzen/carboksen/polidimetylosiloksan; film o grubości faz 30/50  $\mu\text{m}$ ), termostatowano przez dalsze 15 min w temp. 50°C. Po tym czasie związki z włókna desorbowano przez 2 min w temp. 220°C komory nastrzykowej chromatografu gazowego połączonego ze spektrometrem masowym firmy Shimadzu Model GCMS-QP 2010. Warunki analizy GCMS były następujące: kolumna kapilarna, spieczony kwarc pokryty fazą stacjonarną ZB-WAX (30 m x 0,25  $\mu\text{m}$  x 0,25 mm) zastosowana w systemie bezdzielnikowym. Temperatura pracy kolumny: początkowa 40°C przez 2 min, a następnie wzrost temp. z szybkością 4°C/min do 220°C i izoterma końcowa 5 min. Gazem nośnym był hel o przepływie 0,69  $\text{cm}^3/\text{min}$ . Stosowano następujące warunki pracy spektrometru masowego: temp. źródła jonów 190°C, temp. linii łączącej GC-MS 200°C, jonizacja elektronowa o energii 70eV, napięcie detektora 0,9 kV, zakres przemiatań filtra quadropulowego 40 - 300 m/z. Analizy każdego rodzaju sera wykonywano w trzech powtórzeniach. Identyfikacji kwasów dokonano na podstawie porównania czasu retencji z czasem retencji dostępnych standardów oraz widm masowych analizowanych związków z widmami w bibliotekach NIST 147 oraz Wiley 175. Do obliczeń ilościowych zastosowano technikę dodatku standardów kwasów (Sigma-Aldrich) na poziomach: kwas butanowy 600 ppm, heksanowy 200 ppm i oktanowy 160 ppm.

#### *Badanie stopnia proteolizy*

W celu oznaczenia azotu ogółem odważano 0,5 g sera i poddawano bezpośredniej mineralizacji, a do oznaczenia azotu rozpuszczalnego w środowisku o pH 4,6 w mózdzierzu rozcierano 2 g sera, dodając stopniowo ok. 50  $\text{cm}^3$  wody destylowanej o temp. ok. 40°C. Emulsję przenoszono ilościowo do kolby miarowej o pojemności 250  $\text{cm}^3$  i umieszczano na 10 min w łaźni wodnej o temp. 35°C. Następnie dodawano stopniowo 4  $\text{cm}^3$  10% roztworu kwasu octowego i pozostawiono na 10 min, po czym dodawano 4  $\text{cm}^3$  1 M roztworu octanu sodu. Po schłodzeniu dopełniano do kreski wodą destylowaną i przesączano. Do mineralizacji pobierano 20  $\text{cm}^3$  przesączu. Mineralizację próbek, a następnie destylację amoniaku, prowadzono przy użyciu aparatów firmy BÜCHI. Miareczkowanie destylatów 0,1 M roztworem HCl prowadzono w aparacie Titroline Easy Schott. Oznaczenie wykonywano w dwóch powtórzeniach. Stopień proteolizy określano wyznaczając indeks stosunku azotu rozpuszczalnego w środowisku o pH 4,6 do azotu ogółem.

#### *Badania profili związków lotnych techniką SPME- GC-MS*

Próbkę 5 g sera ucierano w mózdzierzu z 10 g soli kuchennej uprzednio poddanej dearomatyzacji i dodawano standard wewnętrzny (0,356 mg estru metyloвого kwasu

pentanowego). Dalsze postępowanie stosowano podobnie jak podczas analizy lotnych kwasów tłuszczowych, z tą różnicą, że szklane pojemniki z próbkami termostатовano w temp. 21°C. Obliczenia zawartości wykonywano stosując technikę standardu wewnętrznego bez stosowania współczynników korekcyjnych poszczególnych związków chemicznych.

Analiza statystyczna obejmowała określenie istotności różnic między wartościami średnimi przy zastosowaniu analizy wariancji ( $\alpha = 0,05$ ) w programie Statgraphics 4.1.

### Wyniki i dyskusja

W ramach prac wstępnych dokonano charakterystyki badanych serów pod względem dojrzałości, wyznaczając indeksy proteolizy, których wartości podano w tab. 1.

Zmiany cech sensorycznych dojrzewających serów są powiązane m.in. z hydrolizą białek pod wpływem procesów życiowych mikroflory, aktywności enzymów endogennych mleka i enzymów dodawanych w czasie procesu technologicznego. W wyniku proteolizy białek uwalniane są peptydy i wolne aminokwasy, będące prekursorami związków lotnych lub bezpośrednio wpływające na aromat serów [9]. Ekstrakcja i ilościowe oznaczenie azotu rozpuszczalnego w środowisku o pH 4,6, którego ilość wzrasta w czasie dojrzewania serów, jest jednym z prostych wskaźników określania stopnia proteolizy na podstawie indeksu proteolizy, który stanowi udział azotu rozpuszczalnego w środowisku o pH 4,6 w odniesieniu do azotu ogółem [10]. Według dostępnych danych literaturowych, w dojrzałych serach z dodatkiem *Penicillium roqueforti* zawartość azotu rozpuszczalnego najczęściej zawierała się w granicach od 38 do 73% [5]. W badanych serach pleśniowych indeks ten wynosił odpowiednio od ok. 35% w przypadku sera Rokpol i od 38 do 49% w serach Lazurek. Ser Rokpol charakteryzował się niższym stopniem proteolizy w porównaniu z pozostałymi produktami, co może wskazywać na krótszy okres dojrzewania i niższy stopień proteolizy.

Kolejnym etapem charakterystyki badanych serów było oznaczenie lotnych kwasów tłuszczowych metodą SPME-GC-MS. Zawartość oznaczonych kwasów w poszczególnych serach podano w tab. 2., a rozdziały chromatograficzne przedstawiono na rys. 1.

Krótko- i średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe bezpośrednio wpływają na cechy sensoryczne serów [1]. Metoda z wykorzystaniem SPME pozwoliła zidentyfikować we wszystkich badanych serach następujące kwasy: butanowy, izowalerianowy, heksanowy, oktanowy, dekanowy, dodekanowy i tetradekanowy. Stwierdzono, że łączna zawartość oznaczanych lotnych wolnych kwasów tłuszczowych była najwyższa w serze Lazurek perłowy średnio 238 mg/kg sera, a następnie odpowiednio 139 mg/kg (Lazurek turkusowy) i 124 mg/kg (Lazurek blue). W serze Rokpol stwierdzono najniższą zawartość, tj. 85 mg/kg wolnych kwasów tłuszczowych, co w porównaniu z zawartością WKT w serach typu Lazurek wskazuje na niższe zaawansowanie lipolizy tłuszczów oraz,

jak uprzednio stwierdzono, proteolizy. Powyższe dane zdają się wskazywać na niższą aktywność procesów biochemicznych w serach Rokpol w porównaniu z serami Lazur, co jest obecnie przedmiotem dalszych badań. Dominującymi kwasami w składzie WKT były kwas butanowy i heksanowy.

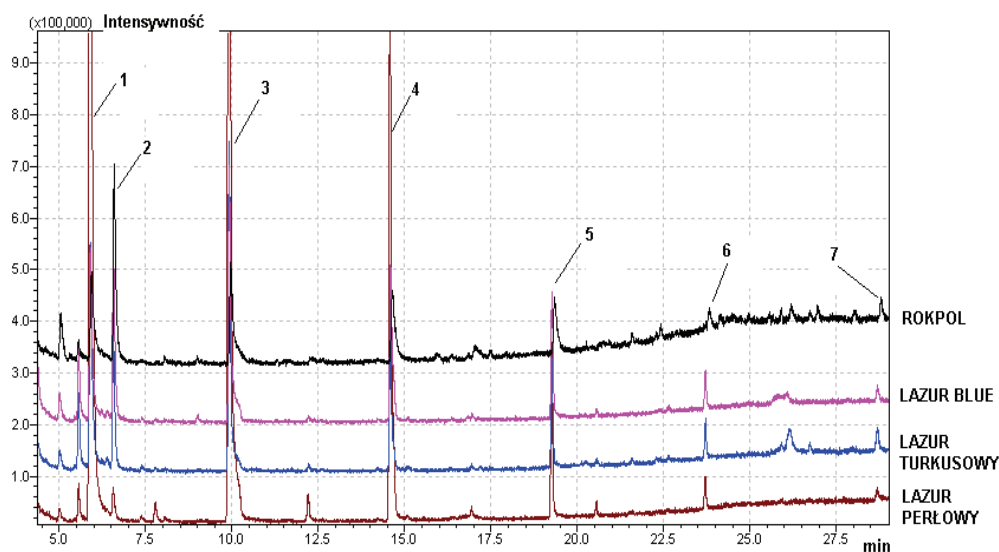
Tabela 1

Indeks proteolizy jako stosunek azotu rozpuszczalnego w środowisku o pH 4,6 do azotu ogółem w serze [%].  
Index of proteolysis as a ratio of the soluble nitrogen in the environment about pH 4,6 to total nitrogen in cheese.

Rodzaj sera Type of the cheese	Stosunek azotu rozpuszczalnego do azotu ogółem [%] The ratio of soluble nitrogen to total nitrogen [%] ( $\bar{X} \pm s$ )
Lazur blue	48,94 ± 1,64 a
Lazur turkusowy	41,15 ± 0,18 b
Lazur perłowy	38,68 ± 1,54 b, c
Rokpol	35,11 ± 1,58 c

Objaśnienia: / Explanatory notes:

x - wartość średnia / mean value, s - odchylenie standardowe / standard deviation, a, b, c, d – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ( $p > 0,05$ ) / a, b, c, d – mean values indicated with the same letters do not statistically significantly differ ( $p > 0,05$ ).



Rys. 1. SPME-GC-MS chromatogramy lotnych kwasów tłuszczowych w badanych serach (numeracja pików zgodnie z tab. 2)

Fig. 1. SPME-GC-MS chromatograms of volatile fatty acids of investigated cheeses (peak no. in accordance with no. in tab. 2).



Tabela 2

Zawartość lotnych kwasów tłuszczowych oznaczonych techniką SPME-GC-MS w badanych serach [ppm].

Content of volatile fatty acids measured by SPME-GC-MS in investigated cheeses [ppm].

Nazwa kwasu Name of the acid	Nr piku Peak no.	Rodzaj sera / Type of the cheese							
		Lazur blue		Lazur turkusowy		Lazur perłowy		Rokpol	
		$\bar{X} \pm s$ [ppm]	RSD [%]	$\bar{X} \pm s$ [ppm]	RSD [%]	$\bar{X} \pm s$ [ppm]	RSD [%]	$\bar{X} \pm s$ [ppm]	RSD [%]
Kwas butanowy Butanoic acid	1	32,33 ± 0,98 a	3,02	30,61± 0,79 a	2,58	119,05± 9,82 b	8,25	26,75 ± 3,54 c	13,24
Kwas izo- walerianowy Isovaleric acid	2	24,26 ± 2,18 a	8,97	13,79 ± 0,36 b	2,58	1,88 ± 0,40 c	21,10	41,59 ±5,34 d	12,84
Kwas heksanowy Heksanoic acid	3	10,31 ± 1,00 a	9,68	9,81 ± 0,66 a	6,75	61,38±1 1,04 b	18,00	4,00 ± 0,58 c	14,40
Kwas oktanowy Octanoic acid	4	30,22 ± 5,41 a	17,89	42,80 ± 0,17 b	0,41	42,41± 7,61 b	17,94	6,15 ± 0,21 c	3,40
Kwas dekanowy Decanoic acid	5	17,87 ± 1,42 a	7,94	26,40 ± 0,11 b	0,41	10,39± 0,17 c	1,65	3,97 ± 0,51 d	12,91
Kwas dodekano- wy Dodecanoic acid	6	5,99 ± 0,52 a	8,73	8,58 ± 0,03 a b	0,41	1,66 ± 0,50 c	30,00	1,40 ± 0,05 d	0,39
Kwas tetradeka- nowy Tetradecanoic acid	7	3,40 ± 1,70 a	49,94	6,68 ± 0,03 b	0,41	nie policzo- no	-	1,02 ± 0,13 c	12,46

Objaśnienia: / Explanatory notes:

x - wartość średnia / mean value; s - odchylenie standardowe / standard deviation; a, b, c, d - wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie ( $p > 0,05$ ) / a, b, c, d – mean values marked with the same in line indicate lack of statistical significant differences ( $p > 0,05$ ), RSD - względne odchylenie standardowe / relative standard deviation.

Najwyższa koncentracja kwasu butanowego była charakterystyczna dla sera Lazur perłowy i wynosiła 119 mg/kg sera. W pozostałych serach koncentracje kwasu butanowego były zdecydowanie niższe w granicach od 27 mg/kg (Rokpol) do 32 mg/kg (Lazur blue). Podobnie kwasu heksanowego było najwięcej w serze Lazur perłowy (ponad 61 mg/kg), zaś kwasu oktanowego ponad 42 mg/kg w serach Lazur

Tabela 3

Zawartość związków lotnych w badanych serach [ppm].  
 Volatile components content in investigated cheeses [ppm].

Nr piku Peak no.	Nazwa związku Name of component	Lazur blue $\bar{X} \pm s$ [ppm]	RSD [%]	Lazur turkusowy $\bar{X} \pm s$ [ppm]	RSD [%]	Lazur perłowy $\bar{X} \pm s$ [ppm]	RSD [%]	Rokpol $\bar{X} \pm s$ [ppm]	RSD [%]
1	2-butanon / 2-butanone	-	-	-	-	7,63 ± 0,95 a	12,48	75,2 ± 0,62 b	0,82
2	3-metylobutanal / 3-methylbutanal	3,57 ± 0,30 a	8,45	-	-	-	-	-	-
3	etanol / ethanol	1,68 ± 0,41 a	24,40	3,60 ± 0,70 b	19,44	-	-	-	-
3	2-pentanon / 2-pentanone	22,48 ± 0,98 a	4,35	57,89 ± 10,92 b	18,86	454,84 ± 88,69 c	19,50	13,38 ± 1,87 d	13,95
4	alpha pinen / alpha pinene	-	-	1,95 ± 0,41 a	21,03	-	-	-	-
5	2-butanol	-	-	-	-	-	-	118,82 ± 22,85 a	19,25
6	dimetylodisulfid / dimethyldisulfide	-	-	1,01 ± 0,11 a	11,29	-	-	-	-
7	2-heksanon / 2-hexanone	-	-	-	-	9,22 ± 0,57 a	6,14	-	-
9	2-pentanol	-	-	3,64 ± 1,08 a	29,62	27,97 ± 4,32 b	15,42	2,48 ± 0,02 a	0,67
10	1-metoksy, 2-propanol / 1-methoxy, 2-propanol	23,3 ± 2,64 a	11,32	29,26 ± 2,43 a	8,30	38,97 ± 26,64 b	68,35	-	-
11	2-etoksy, 1-propanol / 2-ethoxy, 1-propanol	74,86 ± 21,03 a	28,09	46,83 ± 23,65 b	50,51	38,85 ± 32,04 b	71,94	-	-
12	2-heptanon / 2-heptanone	140,04 ± 8,71 a	6,22	88,68 ± 12,74 b	14,37	434,76 ± 87,61 c	20,15	20,11 ± 2,16 d	10,74
13	3-metyl, 1 butanol / 3-methyl, 1 butanol	5,82 ± 1,01 a	17,45	1,4 ± 0,13 b	9,40	-	-	27,23 ± 5,08 c	18,66
14	2- etoksypropan / 2-ethoxypropane	3,63 ± 0,71 a b	19,61	5,98 ± 1,24 b	20,72	4,77 ± 0,38 b	7,92	-	-
15	3-hydroksy, 2-butanon (acetoina) 3-hydroksy, 2-butanone ( acetoin)	5,79 ± 0,93 a	16,14	5,42 ± 1,29 a	23,86	-	-	56,24 ± 8,7 b	15,47
16	2- oktanon / 2- octanone	2,84 ± 0,52 a	18,34	-	-	3,73 ± 0,02 a	0,47	-	-
17	2- heptanol	8,71 ± 1,45 a	16,67	4,68 ± 1,1 b	23,42	16,86 ± 3,03 c	17,94	5,55 ± 0,24 a b	4,24
18	2,4,6-trimetylpirydyna 2,4,6-trimethylpyridine	1,15 ± 0,15 a	12,64	-	-	-	-	-	-
19	2-nonanon / 2-nonanone	89,94 ± 5,82 a	6,47	47,97 ± 3,97 b	8,28	102,71 ± 6,88 c	6,70	19,73 ± 2,4 d	12,18

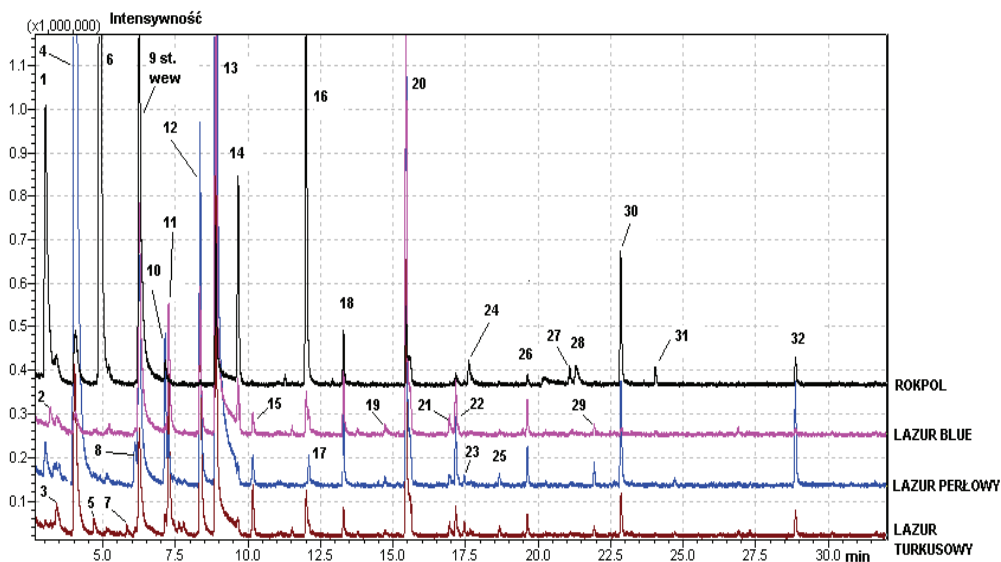
20	4- metyl, 1-metoksybenzen 4- methyl, 1-methoxybenzene	-	-	1,74 ± 0,26 a	14,86	1,63 ± 0,19 a	11,40	-	-
21	8-nonen-2-on / 8-nonen-2-one	8,03 ± 0,59 a	7,32	3,28 ± 0,16 b	4,84	12,24 ± 3,01 a	24,61	1,39 ± 0,54 c	38,45
23	1-okten-3-ol	-	-	1,48 ± 0,04 a	3,00	1,17 ± 0,01 a	0,75	-	-
24	kwasy octowy / acetic acid	-	-	-	-	-	-	5,53 ± 2,73 a	49,25
25	2-etyln, 1-heksanol / 2-ethyl, 1-hexanol	-	-	1,28 ± 0,38 a	29,75	-	-	-	-
26	2-nonanol	5,11 ± 0,14 a	2,69	2,84 ± 0,09 b	3,23	4,97 ± 1,38 a	27,80	2,48 ± 0,4 b	16,05
27	kwasy 2-metylopropanowy 2-methylpropanoic acid	-	-	-	-	-	-	2,50 ± 0,68 a	27,40
28	2,3-butanediol	-	-	-	-	-	-	3,66 ± 0,72 a	19,78
29	2-undekanon	1,12 ± 0,24 a	21,58	1,18 ± 0,18 a	15,08	2,21 ± 0,73 a	32,79	-	-
30	kwasy butanowy / butanoic acid	tab.1	-	tab.1	-	tab.1	-	tab.1	-
31	kwasy 3-metylobutanowy 3-methylbutanoic acid	-	-	-	-	-	-	1,98 ± 0,29 a	14,56
32	kwasy heksanowy / heksanoic acid	tab.1	-	tab.1	-	tab.1	-	tab.1	-

Objaśnienia: / Explanatory notes:

x - wartość średnia / mean value, s - odchylenie standardowe / standard deviation, a, b, c, d - wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie ( $p > 0,05$ ) / the mean values in line marked with the same letter indicate lack of statistical significant differences ( $p > 0,05$ ), RSD - względne odchylenie standardowe / relative standard deviation.

turkusowy i perłowy, różniąc się istotnie od zawartości w serze Rokpol (ok. 6,1 mg/kg). Według piśmiennictwa fachowego [12], w dojrzałych serach pleśniowych wolne kwasy tłuszczowe mogą występować w stężeniach nawet do 32000 mg/kg, jednakże autorzy nie podają zawartości poszczególnych kwasów krótko-, średnio- i długołańcuchowych uwalnianych podczas przemian lipolitycznych w serach pleśniowych. Niewątpliwie dane te należy zweryfikować w dalszych pracach.

Na rys. 2. przedstawiono typowe profile chromatograficzne badanych serów, a w tab. 3. zidentyfikowane związki oraz ich zawartość. Wśród zidentyfikowanych związków lotnych najczęściej obecne były ketony oraz alkohole, w tym alkohole drugorzędowe o rozgałęzionym łańcuchu alifatycznym. Wśród ketonów 2-pentanon, 2-nonanon i 2-heptanon zaznaczyły się przeważającym udziałem wśród zidentyfikowanych związków lotnych. Występowały one we wszystkich analizowanych serach. W serze Lazur „perłowy” związki te wykazały dominujący udział, występując odpowiednio w stężeniu ok. 455 ppm (2-pentanon), 435 ppm (2-heptanon) i ok. 103 ppm (2-nonanon). W pozostałych serach ich udział był mniejszy; 2-pentanon w granicach od 13,4 ppm do 140 ppm odpowiednio w Rokpolu i Lazurze blue; 2-heptanon występował w stężeniach od 20 ppm (Rokpol) do 89 ppm w Lazurze turkusowym, a 2-nonanon w najmniejszej ilości oznaczono w Rokpolu (ok. 20 ppm). Wydaje się wysoce prawdopodobne, że zawartość ketonów, a w szczególności wyższych homologów, jest związana ze stopniem dojrzałości sera, a więc i zaawansowaniem lipolizy oraz proteolizy. Acetoina (3-hydrokso, 2-butanon) w stężeniu powyżej 56 ppm oznaczono w serze Rokpol. Wśród pozostałych zidentyfikowanych ketonów były: 2-butanon, 2-heksanon, 2-oktanon, 8-nonen-2-on, 2-undekanon. Ketony uważane są za najważniejsze komponenty aromatu serów z przerostem pleśni [11]. Ich powstawanie jest rezultatem enzymatycznej oksydacji WKT do  $\beta$ -ketokwasów i ich dekarboksylacji, chociaż 2-butanon powstaje z diacetylu - produktu fermentacji laktozy i przemian cytrynianów. Alkohole występowały w znacznie mniejszych stężeniach, ale były równie liczną grupą związków. Alkohole pierwszorzędowe powstają w przemianach aminokwasów oraz WKT, etanol w przemianach laktozy lub redukcji acetaldehydu. Alkohole drugorzędowe są produktami redukcji ketonów - 2-butanol dominował wśród związków lotnych sera Rokpol (ok. 119 ppm). Związek ten w serach nadaje owocową nutę zapachową. Charakterystyczne dla serów Lazur były tylko 2-etoksy,1-propanol i 1-metoksy,2-propanol, zaś 2,3-butanediol występował w Rokpolu. Ponadto, w profilach zapachowych badanych serów z przerostem pleśni zidentyfikowano m.in. 3-metylbutanal w serze Lazur blue (ok. 3,60 ppm), alpha pinen (ok. 2 ppm) i dimetylodisulfid (ok. 1 ppm) w Lazurze turkusowym, a także kwasy octowy w Rokpolu (ok. 6 ppm) oraz uprzednio wymienione WKT.



Rys. 2. SPME-GC-MS chromatogramy lotnych związków zawartych w badanych serach (pik nr 9-standard wewnętrzny).

Fig. 2. SPME-GC-MS chromatograms of volatile components in investigated cheeses (peak no. 9-internal standard).

## Wnioski

1. Zastosowana metoda badań profili zapachowych SPME wraz z chromatografią gazową sprzężoną ze spektrometrią masową pozwala na różnicowanie profili zapachowych badanych rodzajów serów i może być stosowana do dalszych badań wyznaczenia składowych głównych charakteryzujących stopień dojrzałości serów w powiązaniu z badaniami sensorycznymi.
2. Ser Lazur charakteryzował się typową dla serów z przerostem pleśni zawartością azotu rozpuszczalnego w środowisku o pH 4,6, która wynosiła od blisko 39% w serze Lazur perłowy do ok.49% azotu ogółem w Lazurze blue. W przypadku sera Rokpol niższy indeks proteolizy może wskazywać na krótszy czas dojrzewania sera.
3. Łączna zawartość oznaczonych krótko- i średniołańcuchowych lotnych kwasów tłuszczowych w serze Lazur perłowy (ok. 238 mg/kg sera) wskazuje na bardziej rozległą lipolizę w porównaniu z badanymi serami. Najmniejszą zawartością lotnych kwasów tłuszczowych charakteryzował się ser Rokpol (ok. 85 ppm).

4. Każdy z badanych serów Lazur typu blue, turkus i perłowy oraz Rokpol charakteryzował się podobnym jakościowo składem związków zapachowych, jednak stwierdzono różnice pod względem zawartości poszczególnych związków.

### Literatura

- [1] Bosset J., Gauch R.: Comparison of the volatile flavour compounds of six European AOC cheeses by using a new dynamic headspace GC-MS method. *Int. Dairy J.*, 1993, **3**, 359-377.
- [2] Collins Y. F., McSweeney P.L.H., Wilkinson M.G.: Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *Int. Dairy J.*, 2003, **13**, 841-866.
- [3] Dahl S., Tavaría F.K., Malcata X: Relationships between flavour and microbiological profiles in Serra da Estrela cheese throughout ripening. *Int. dairy. J.*, 2000, **10**, 255-262.
- [4] Engels W.J.M., Dekker R., de Jong C., Neeter R. i Visser S.: A comparative study of volatile compounds in the water- soluble fraction of various types of ripened cheese. *Int. Dairy J.*, 1997, **7**, 255-263.
- [5] Fernandez- Salguero J.: Andres Marcos Alcala M., Esteban M.A.: Proteolysis of Cabrales cheese and other European Blue vein cheese varieties. *J. Dairy Res.*, 1989, **56**, 141-145.
- [6] Izco J. M., Torre P.: Characterization of volatile flavour compounds in Roncal cheese extracted by the "purge and trap" method and analysed by GC- MS. *Food Chemistry*, 2000, **70**, 409-417.
- [7] Jeleń H.H.: Związki zapachowe żywności - wyzwanie dla analityka. *Przem. Spoż.*, 2004, **5**, 18-22, 24-47.
- [8] Kataoka H., Lord H.L., Pawliszyn J.: Application of solid-phase microextraction in food analysis. *J. Chromatography*, 2000, **A 880**, 35-62.
- [9] Marilley L. i Casey M.G.: Flavour of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *Int J. Food Microbiology*, 2004, **90**, 139-159.
- [10] McSweeney P.L.H. i Fox P.F.: Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait*, 1997, **77**, 41-76.
- [11] McSweeney P.H.L., Sousa M.J.: Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. *Lait*, 2000, **80**, 293-324.
- [12] Yvon M., Rijnen L.: Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *Int. Dairy J.*, 2001, **11**, 185-201.


### INVESTIGATION OF VOLATILE COMPONENTS OF CHOSEN MOULD CHEESES BY HEADSPACE SOLID PHASE MICROEXTRACTION AND GAS CHROMATOGRAPHY COUPLED WITH MASS SPECTROMETRY

#### Summary

The experiment studied the identification of volatile components of the headspace (HS) phase (flavour) of chosen Polish mould cheeses Rokpol and Lazur with *Penicillium roqueforti*. The solid phase microextraction (SPME) of volatile fraction from the sample headspace to stationary phase of silica fiber DVB/CAR/PDMS was used. Separation and identification of compounds were carried out using gas chromatograph coupled with mass spectrometry (GC/MS). Over twenty volatile components characteristic for investigated cheeses were identified which qualitative composition of volatile components for investi-

gated cheeses was similar, although there were differences in quantitative proportions between particular flavour components.

Investigation of the changes of volatile components was supported by determination of the proteolysis degree on the basis of the ratio of nitrogen soluble at pH 4,6 to total nitrogen in cheese. In Lazur cheeses it was about 39% in Lazur perłowy and about. 49% of total nitrogen content in Lazur blue. The content of volatile fatty acids was determined as a degree of lipolysis. The highest content of volatile fatty acids was in Lazur perłowy cheese (ok. 238 mg/kg sera), while the lowest content of volatile fatty acids was in Rokpol cheese (app. 85 mg/kg).

**Key words:** mould cheeses, volatile components, SPME-GC-MS 

MARTA CIECIERSKA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI

## ZANIECZYSZCZENIE OLEJÓW ROŚLINNYCH WIELOPIERŚCIENIOWYMI WĘGLOWODORAMI AROMATYCZNYMI

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zanieczyszczenia wybranych olejów roślinnych przez 15 WWA wyszczególnionych na liście Komitetu Naukowego UE.

Materiał badawczy stanowiły: oliwa z oliwek extra virgin, oliwa z wyłoków oliwnych Pomace oraz oleje: rzepakowy i słonecznikowy (tłoczone i rafinowane). Metodyka badań obejmowała izolację WWA z matrycy tłuszczowej przy zastosowaniu techniki chromatografii żelowej oraz jakościowe i ilościowe oznaczenie związków przy użyciu chromatografii cieczowej z selektywnymi detektorami (HPLC–FLD/DAD).

Spośród przebadanych olejów najwyższą zawartość WWA stwierdzono w oleju z oliwek typu Pomace. Zanieczyszczenie tego oleju benzo[a]pirenem osiągnęło wartość ponad 30-krotnie wyższą od dopuszczalnego maksymalnego poziomu ustanowionego w Rozporządzeniu Komisji UE nr 208/2005 (2 µg/kg). W przypadku pozostałych olejów stwierdzona zawartość benzo[a]pirenu nie przekroczyła limitu 2 µg/kg. Wykazano, że zanieczyszczenie WWA oliwy typu Pomace była statystycznie istotnie wyższe od skażenia oliwy z oliwek extra virgin. W wyniku porównania zanieczyszczenia WWA tłoczonych olejów: rzepakowego i słonecznikowego oraz ich rafinowanych odpowiedników wykazano, iż oleje tłoczone charakteryzują się statystycznie istotnie wyższą zawartością WWA od olejów rafinowanych.

**Słowa kluczowe:** wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), oleje roślinne, zanieczyszczenia żywności

### Wprowadzenie

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) stanowią bardzo zróżnicowaną i wszechobecną grupę zanieczyszczeń chemicznych występujących w środowisku człowieka. Mogą zanieczyszczać żywność nie tylko poprzez depozycję środowiskową, ale również w trakcie procesów obróbki termicznej, podczas których produkty ter-



micznego rozkładu wchodzi w bezpośredni kontakt z produktem. Dowiedziono, że najważniejszą drogą ekspozycji człowieka na WWA jest żywność, spośród której oleje i tłuszcze jadalne stanowią istotne źródło pobrania tych związków [1, 2, 6, 12, 13]. W licznych pracach badawczych wykazano, że ze względu na wszechobecność WWA w środowisku oraz ich lipofilny charakter, oleje i tłuszcze jadalne mogą zawierać znaczne ilości WWA [7]. Skażenie olejów roślinnych tą grupą kontaminantów jest głównie konsekwencją procesów przetwarzania roślin oleistych (suszenia surowców roślinnych przed właściwą ekstrakcją oraz użycia zanieczyszczonych rozpuszczalników ekstrakcyjnych), a w mniejszym stopniu skutkiem ich środowiskowego zanieczyszczenia [4, 5, 9].

Świadomość oddziaływania mutagennego, kancerogennego i genotoksycznego znacznej grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych spowodowała zainteresowanie wielu dziedzin naukowych tymi związkami, w tym nauki o żywności i żywieniu człowieka. Dotychczas w badaniach żywności podejmowano się oznaczania 16 WWA wg EPA (United States Environmental Protection Agency; EPA/540/1 – 86/013, 1984). Stan wiedzy dotyczący występowania grupy związków określanych jako potencjalnie rakotwórcze i toksyczne jest jednak ograniczony. Odnosi się to w szczególności do takich związków, jak: cyklopenta[c,d]piren, dibenzo[a,e]piren, dibenzo[a,h]piren, dibenzo[a,i]piren, dibenzo[a,l]piren i 5-metylochryzen, a więc do znacznej grupy z 15 związków wytypowanych przez Komitet Naukowy ds. Żywności Komisji Europejskiej UE [3]. Zgodnie z zaleceniem Komisji Europejskiej 2005/108/EC z 4 lutego 2005 [11] niezbędne są we wszystkich krajach członkowskich dalsze badania poziomów benzo[a]pirenu i pozostałych związków należących do 15 WWA wymienionych w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 208/2005 [10] UE. Jedną z grup produktów spożywczych wykazujących skażenie WWA, wobec której ww. rozporządzenie ustanawia maksymalny poziom benzo[a]pirenu stanowią oleje i tłuszcze przeznaczone do bezpośredniego spożycia przez ludzi.

Celem pracy było określenie zanieczyszczenia wybranych olejów roślinnych dostępnych na rynku przez 15 WWA, zgodnie z zaleceniem Komisji Europejskiej [11].

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły następujące oleje zakupione na lokalnym rynku: oliwa z oliwek extra virgin, oliwa z wytlóków oliwnych Pomace, oleje: rzepakowy i słonecznikowy (tłoczone oraz rafinowane). Badaniom poddano po 3 próbki każdego sortymentu. Każdą z 3 próbek tego samego oleju analizowano w 3 powtórzeniach.

Zastosowana metodyka badań obejmowała izolację WWA z matrycy tłuszczowej przy wykorzystaniu chromatografii preparatywnej oraz ilościowe i jakościowe oznaczenie związków przy użyciu chromatografii cieczowej z selektywnymi detektorami (HPLC–FLD/DAD).

W celu oddzielenia frakcji WWA od frakcji tłuszczowej ściśle określoną naważkę oleju roślinnego rozpuszczonego w cykloheksanie poddawano rozdzielowi, stosując kolumnę do chromatografii żelowej Bio-Beads S-X3 330x10 mm. Do rozdziału wprowadzano 1 cm<sup>3</sup> roztworu oleju w cykloheksanie (100 mg/cm<sup>3</sup>). Rozdział prowadzono metodą izokratyczną przy przepływie 0,8 ml/min, a fazę ruchomą stanowiła mieszanina cykloheksan : octan etylu (50 : 50, v/v).

Zebraną frakcję WWA po zateżeniu do objętości 1 cm<sup>3</sup> poddawano analizie metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej przy użyciu aparatu HPLC Shimadzu 2010, składającego się z pompy LC-10AT<sub>VP</sub>, detektora diodowego SPD-M10A<sub>VP</sub>, detektora fluorescencyjnego RF-10A<sub>XL</sub>, degazera DGU-14A, autosamplera SIL-10AD<sub>VP</sub> oraz kontrolera SCL-10A<sub>VP</sub>, współpracującego z systemem do zbierania i przetwarzania danych LabSolution 2.1. Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny chromatograficznej Supelcosil LC-PAH 250 x 4,6 mm, 5 μm firmy Supelco-Sigma. Temp. termostatowania kolumny wynosiła 30°C. Analizy wykonywano metodą gradientową przy przepływie 1,2 ml/min, stosując mieszaninę acetonitryl : woda, 80 : 20 (A) oraz acetonitryl (B). Zastosowano następujący program elucji gradientowej: 0 – 5 min 0%B, 5 – 28 min 0%B do 100%B, 28 – 70 min 100%B.

Warunki detekcji: detektor diodowy – 254 nm; detektor fluorescencyjny – zmienne nastawienia wzbudzenia i emisji (Ex/Em): 270/420, 270/500, 270/470 nm. Analizę jakościowo-ilościową wykonano metodą standardów zewnętrznych, które stanowiły mieszaninę 15 WWA.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu komputerowego Statgraphics Plus 4.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi wykonano stosując test Tukey'a, przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ , gdzie  $n = 9$ .

## Wyniki i dyskusja

Średnie zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w badanych olejach roślinnych przedstawiono w tab. 1.

Spośród wszystkich olejów roślinnych, oliwa z oliwek jest wysoce ceniona nie tylko ze względu na jej walory sensoryczne, ale również właściwości odżywcze oraz prozdrowotne. Jednakże może stanowić istotne źródło pobrania WWA z żywnością. Z przebadanych w niniejszej pracy olejów, oliwa z wycisków oliwnych typu Pomace wykazała największą zawartość WWA (233,59 μg/kg). Zanieczyszczenie tego oleju benzo[a]pirenem osiągnęło wartość ponad 30-krotnie wyższą od dopuszczalnego maksymalnego poziomu ustanowionego w Rozporządzeniu Komisji UE (2 μg/kg). Zawartość dibenzo[a,l]pirenu – najbardziej kancerogennego ze wszystkich dotychczas poznanych WWA wyniosła ok. 1,92 μg/kg. Guillen i wsp. w badaniach oliwy z wycisków oliwnych typu Pomace pobranych z rynku hiszpańskiego stwierdzili występowanie benzo[a]pirenu w granicach od 0,35 do 92,71 μg/kg [4]. Według badaczy wysoka

T a b e l a 1

Średnia zawartość 15 wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych (WWA) w badanych olejach roślinnych [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ].  
 Mean content of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plant oils under investigation [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ].

WWA PAH	Oliwa z oliwek extra virgin Extra virgin olive oil	Oliwa z wytko- ków oliwnych Olive Pomace oil	Olej rzepakowy tłoczony Pressed rapeseed oil	Olej rzepakowy rafinowany Refined rapeseed oil	Olej słonecznikowy tłoczony Pressed sunflower oil	Olej słonecznikowy rafinowany Refined sunflower oil
Cyklopenta[ <i>c,d</i> ]piren Cyclopenta[ <i>c,d</i> ]pyrene	n.w./ n.d.	59,53 $\pm$ 6,75	23,31 $\pm$ 2,00	n.w./ n.d.	27,76 $\pm$ 2,34 <sup>a3</sup>	17,30 $\pm$ 0,91 <sup>A3</sup>
Benzo[ <i>a</i> ]antracen Benzo[ <i>a</i> ]anthracene	1,07 $\pm$ 0,08 <sup>a1</sup>	8,07 $\pm$ 0,18 <sup>A1</sup>	1,51 $\pm$ 0,19 <sup>a2</sup>	0,77 $\pm$ 0,07 <sup>A2</sup>	3,30 $\pm$ 0,31 <sup>b3</sup>	1,06 $\pm$ 0,12 <sup>B3</sup>
Chryzen / Chrysene	1,09 $\pm$ 0,08 <sup>b1</sup>	8,61 $\pm$ 0,18 <sup>B1</sup>	1,73 $\pm$ 0,21 <sup>b2</sup>	0,91 $\pm$ 0,04 <sup>B2</sup>	4,32 $\pm$ 0,38 <sup>c3</sup>	1,25 $\pm$ 0,14 <sup>C3</sup>
5-Metylochryzen 5-Methylchrysene	0,43 $\pm$ 0,02 <sup>e1</sup>	8,69 $\pm$ 0,96 <sup>C1</sup>	0,57 $\pm$ 0,08 <sup>e2</sup>	0,41 $\pm$ 0,06 <sup>C2</sup>	0,59 $\pm$ 0,05 <sup>d3</sup>	0,51 $\pm$ 0,09 <sup>D3</sup>
Benzo[ <i>j</i> ]fluoranten Benzo[ <i>j</i> ]fluoranthene	1,04 $\pm$ 0,13 <sup>d1</sup>	13,30 $\pm$ 0,69 <sup>D1</sup>	1,75 $\pm$ 0,10 <sup>d2</sup>	1,04 $\pm$ 0,11 <sup>D2</sup>	4,12 $\pm$ 0,38 <sup>e3</sup>	1,00 $\pm$ 0,15 <sup>E3</sup>
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranten Benzo[ <i>b</i> ]fluoranthene	0,74 $\pm$ 0,03 <sup>e1</sup>	18,52 $\pm$ 1,97 <sup>E1</sup>	1,41 $\pm$ 0,14 <sup>e2</sup>	0,68 $\pm$ 0,07 <sup>E2</sup>	3,67 $\pm$ 0,32 <sup>F3</sup>	1,05 $\pm$ 0,11 <sup>F3</sup>
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranten Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthene	0,46 $\pm$ 0,05 <sup>f1</sup>	13,17 $\pm$ 0,68 <sup>F1</sup>	0,78 $\pm$ 0,04 <sup>f2</sup>	0,43 $\pm$ 0,03 <sup>F2</sup>	1,89 $\pm$ 0,21 <sup>g3</sup>	0,41 $\pm$ 0,02 <sup>G3</sup>
Benzo[ <i>a</i> ]piren Benzo[ <i>a</i> ]pyrene	0,34 $\pm$ 0,05 <sup>g1</sup>	61,08 $\pm$ 0,95 <sup>G1</sup>	0,60 $\pm$ 0,04 <sup>g2</sup>	0,35 $\pm$ 0,06 <sup>G2</sup>	1,61 $\pm$ 0,22 <sup>h3</sup>	0,44 $\pm$ 0,04 <sup>H3</sup>
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]antracen Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracene	n.w./ n.d.	6,29 $\pm$ 0,62	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.
Dibenzo[ <i>a,l</i> ]piren Dibenzo[ <i>a,l</i> ]pyrene	n.w./ n.d.	1,92 $\pm$ 0,23	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.

c.d. tab. 1

Benzo[g,h,i]perylene Benzo[g,h,i]perylene	0,52 ± 0,03 <sup>h1</sup>	12,94 ± 0,23 <sup>H1</sup>	0,93 ± 0,10 <sup>h2</sup>	0,45 ± 0,02 <sup>H2</sup>	0,79 ± 0,12 <sup>I3</sup>	0,43 ± 0,02 <sup>I3</sup>
Indeno[1,2,3-c,d]pyrene Indeno[1,2,3-c,d]pyrene	1,00 ± 0,10 <sup>i1</sup>	15,90 ± 1,58 <sup>I1</sup>	1,05 ± 0,11	n.w./ n.d.	1,56 ± 0,17	n.w./ n.d.
Dibenzo[a,e]pyrene Dibenzo[a,e]pyrene	n.w./ n.d.	5,58 ± 0,19	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	0,48 ± 0,08	n.w./ n.d.
Dibenzo[a,i]pyrene Dibenzo[a,i]pyrene	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.
Dibenzo[a,h]pyrene Dibenzo[a,h]pyrene	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.
Σ 15WVA/ Σ 15PAHs	6,69 ± 0,20 <sup>j1</sup>	233,59 ± 9,23 <sup>J1</sup>	33,64 ± 2,18 <sup>I2</sup>	5,04 ± 0,34 <sup>I2</sup>	50,09 ± 2,03 <sup>I3</sup>	23,45 ± 1,32 <sup>I3</sup>

Objaśnienia./ Explanatory notes:

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

n.w./ n.d. – nie wykryto/ not detected;

a1, A1; b2, B2; c3, C3 – ta sama mała oraz duża litera przy tej samej cyfrze (czyli w ramach jednego z 3 porównań) w indeksach dwóch wartości średnich oznaczają statystycznie istotną różnicę między średnimi na poziomie  $\alpha = 0,5/$  the same small and capital letters by the same number (within one from 3 comparisons) in indices of two mean values denote statistically significant difference between means at  $\alpha = 0.05$  level.

zawartość policyklicznych węglowodorów w oliwie typu Pomace jest przede wszystkim wynikiem procesu produkcji, który wymaga zredukowania zawartości wody w miazdze przed procesem ekstrakcji oleju, a więc jest wynikiem stosowania zabiegów bezprzeponowego suszenia miazgi jako zabiegu wstępnego do pozyskania pozostałej oliwy [3, 4, 10].

Zarówno zawartość każdego z 15 WWA, jak i ich sumaryczna zawartość w oliwie z oliwek extra virgin (uzyskanej bezpośrednio z oliwek wyłącznie za pomocą tłoczenia) okazała się statystycznie istotnie mniejsza odpowiednio od zawartości tych samych związków i sumarycznych ich zawartości w oliwie z wyłoków oliwnych Pomace. Stwierdzenie to znajduje potwierdzenie w badaniach Guillen i wsp. [4], którzy wykazali zdecydowanie wyższe zawartości WWA w oliwie Pomace w porównaniu z innymi olejami pochodzącymi z oliwek, co było zdeterminowane technologią pozyskiwania tego typu oliwy.

Stwierdzono, że zawartość benzo[a]pirenu we wszystkich badanych olejach z wyjątkiem oliwy typu Pomace nie przekroczyła limitu 2 µg/kg. Porównanie sumarycznego skażenia policyklicznymi węglowodorami aromatycznymi pozwoliło uszeregować badane oleje w kolejności od najwyższej do najniższej ich zawartości: oliwa z wyłoków oliwnych typu Pomace – 233,59 µg/kg, olej słonecznikowy tłoczony – 50,09 µg/kg, olej rzepakowy tłoczony – 33,64 µg/kg, olej słonecznikowy rafinowany – 23,45 µg/kg, oliwa z oliwek extra virgin – 6,69 µg/kg oraz olej rzepakowy rafinowany – 5,04 µg/kg.

Analiza statystyczna tłoczonych olejów: rzepakowego, słonecznikowego i ich rafinowanych odpowiedników wykazała, że zawartość poszczególnych WWA, a także ich suma w oleju rzepakowym i słonecznikowym tłoczonym była statystycznie istotnie wyższa od zawartości poszczególnych WWA, jak i od ich sumarycznej zawartości w odpowiadającym im olejach rafinowanych. Zatem badania potwierdziły, że w technologii przetwórstwa roślin oleistych proces rafinacji powoduje znaczące zredukowanie zawartości WWA. W licznych pracach naukowych wykazano, że zabieg dezodoryzacji redukuje ilość tzw. lekkich WWA (składających się maksymalnie z 4 pierścieni aromatycznych i przede wszystkim należących do grupy 16 WWA wg EPA), natomiast zawartość tzw. ciężkich WWA (stanowiących większość z 15 związków wytypowanych przez Komitet Naukowy UE) ulega redukcji na skutek bielenia za pomocą węgla aktywnego [2, 5, 7, 8, 9, 13].

## Wnioski

1. Największe zanieczyszczenie WWA stwierdzono w oleju z wyłoków oliwnych typu Pomace. Zawartość benzo[a]pirenu przekroczyła ponad 30-krotnie dopuszczalny maksymalny poziom tego związku ustanowiony w Rozporządzeniu Komisji UE (2µg/kg).

2. Zanieczyszczenie WWA oliwy z wyłoków oliwnych Pomace było statystycznie istotnie wyższe od skażenia oliwy z oliwek extra virgin.
3. Zawartość benzo[a]pirenu w pozostałych badanych olejach nie przekroczyła limitu 2 µg/kg.
4. Oleje tłoczone (słonecznikowy oraz rzepakowy) charakteryzowały się statystycznie istotnie wyższą zawartością WWA od ich rafinowanych odpowiedników.

### Literatura

- [1] Barranco A., Alonso-Salces R.M., Bakkali A., Berrueta L.A., Gallo B., Vicente F., Sarobe M.: Solid-phase clean-up in the liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils. *J. Chromatogr. A*, 2003, **988**, 33-40.
- [2] Cejpek K., Hajslova J., Kocourek V., Tomaniova M., Cmolik J.: Changes in PAH levels during production of rapeseed oil. *Food Add. Contam.*, 1998, **15**, 563-574.
- [3] European Commission: Opinion of the Scientific Committee on food on the risks to human health of polycyclic aromatic hydrocarbons in food (expressed on 4 December 2002).
- [4] Guillen M., Sopolana P., Palencia G.: Polycyclic aromatic hydrocarbons and olive Pomace oil. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 2123-2132.
- [5] Lage Yusty M.A., Cortizo Daviña J.L.: Supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection method for PAHs investigation in vegetable oils. *Food Cont.*, 2005, **16**, 59-64.
- [6] Matter L. (ed.): *Food and Environmental Analysis by Capillary Gas Chromatography*. Huthig, Heidelberg 1997, pp. 75-79.
- [7] Moret S., Conte L. S.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *J. Chromatogr. A*, 2000, **882**, 245-253.
- [8] Moret S., Dudine A., Monte L.S.: Processing effects on the polyaromatic hydrocarbons content of grapeseed oil. *J. Americ. Oil Chem. Society*, 2000, **77/12**, 1289-1292.
- [9] Moret S., Purcaro G., Conte L. S.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils from canned foods. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2005, **107**, 488-496.
- [10] Official Journal of the European Union, L 34/3, Commission Regulation (EC) No. 208/2005 of 4 February 2005.
- [11] Official Journal of the European Union, L 34/3, Commission Recommendation 2005/108/EC of 4 February 2005.
- [12] Philips D.H.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation Research*, 1999, **443**, 139-147.
- [13] Vazquez Troche S., Garcia Falcon M.S., Gonzales Amigo S., Lage Yusty M.A., Simal Lozano J.: Enrichment of benzo[a]pyrene in vegetable oils and determination by HPLC-FL. *Talanta*, 2000, **51**, 1069-1076.

### VEGETABLE OILS CONTAMINATION BY POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS

#### Summary

The objective of this study was evaluation of contamination of vegetable oils by 15 PAHs, listed by The Scientific Committee on Food UE.

The material investigated were extra virgin olive oil, olive Pomace oil and rapeseed and sunflower oils (both pressed and refined). Methodology applied for the study consisted of PAHs isolation from the oil samples using GPC – gel permeation chromatography and qualitative-quantitative compound's determination by high pressure liquid chromatography with selective detectors (HPLC–FLD/DAD).

Among all oils under investigation olive Pomace oil showed the highest content of PAHs. Contamination of this oil by benzo[a]pirene was over 30-times higher than maximum tolerable limit stated in Commission Regulation (EC) No. 208/2005 (2 µg/kg). In case of others oils benzo[a]pirene's content didn't exceed the limit of 2 µg/kg. It was shown that olive Pomace oil's contamination was statistically significant higher than extra virgin olive oil's contamination. Moreover comparison of pressed oils: rapeseed and sunflower and their refined equivalents proved that pressed oils had statistically significant higher content of PAHs than refined ones.

**Key words:** polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), vegetable oils, food contaminants ☒

AGNIESZKA CIURZYŃSKA, ANDRZEJ LENART

## WPLYW ODWADNIANIA OSMOTYCZNEGO NA WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE LIOFILIZOWANYCH TRUSKAWEK

### Streszczenie

W pracy przedstawiono wpływ odwadniania osmotycznego na właściwości mechaniczne liofilizowanych truskawek. Jako materiał do badań użyto truskawki odmiany Senga Sengana mrożone, o średnicy 25-30 mm. Do wstępnego odwadniania osmotycznego zastosowano roztwory osmotyczne o aktywności wody  $a_w = 0,9$  (roztwór sacharozy 61,5%, glukozy 49,2% i syropu skrobiowego 67,5%). Odwodnione owoce poddano liofilizacji w temp. półek grzejnych liofilizatora tj. 10, 30, 50 i 70°C przez 24 godz. Otrzymane susze poddawano działaniu siły ściskania do uzyskania 25% odkształcenia początkowej wysokości liofilizatu. Stwierdzono zróżnicowanie przebiegu krzywych ściskania w zależności od rodzaju substancji osmotycznej. Wykazano, że odwadnianie osmotyczne powoduje istotny wzrost siły ściskania owoców liofilizowanych. Liofilizaty przechowywane w eksykatorach o aktywności wody 0,225-0,648, wstępnie odwadniane osmotycznie w roztworze sacharozy, charakteryzowała największa siła ściskania potrzebna do uzyskaniażądanego odkształcenia. Badano także wpływ temperatury liofilizacji na siłę ściskania truskawek nieodwadnianych osmotycznie przed procesem sublimacji. Stwierdzono, że liofilizacja w temp. 30°C powodowała zmniejszenie siły ściskania suszonych owoców w porównaniu z liofilizatami uzyskanymi w temp. 10, 50 i 70°C. W suszach oznaczono także aktywność wody i zawartość wody.

**Słowa kluczowe:** suszenie sublimacyjne, truskawki, odwadnianie osmotyczne, właściwości mechaniczne

### Wprowadzenie

Jednym ze sposobów utrwalania żywności jest zmniejszenie zawartości wody poprzez suszenie. Zapewnia ono usunięcie wody z produktu końcowego, przez co zachowana jest stabilność mikrobiologiczna, a zminimalizowaniu ulegają chemiczne i fizyczne zmiany podczas przechowywania [7]. Najczęściej stosowanym sposobem suszenia jest suszenie konwekcyjne w wysokiej temperaturze. Pomimo popularności, metoda ta powoduje obniżenie jakości suszonego materiału, które polega między innymi na dużych zmianach w strukturze, a także utracie kruchości. Podczas procesu

---

*Mgr inż. A. Ciurzyńska, prof. dr hab. A. Lenart, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*



liczba komórek w tkance roślinnej zmniejsza się, co świadczy o niszczeniu ścian komórkowych i formowaniu w nim większych struktur przez naprężenia skurczowe [6]. Na skutek usuwania wody struktura ulega zniszczeniu, zmieniają się także właściwości reologiczne materiału [4]. Z tego powodu poszukiwano innych metod suszenia, które zapewnią zachowanie właściwości chemicznych, fizycznych i biologicznych naturalnego surowca [5]. Takim rozwiązaniem okazała się liofilizacja, czyli suszenie sublimacyjne, które polega na wymrożeniu wody, a następnie sublimacji powstałych kryształków lodu. Suszenie to znalazło zastosowanie zarówno do utrwalania produktów nieodpornych na ogrzewanie np. preparatów farmaceutycznych, jak i żywności bogatej w witaminy [8].

Liofilizowane owoce cechuje krucha i otwarta struktura, która sprzyja przemianom chemicznym, a także uszkodzeniu produktu w czasie wytwarzania, pakowania, transportu i przechowywania. Istnieje potrzeba zastosowania obróbki wstępnej poprzedzającej suszenie sublimacyjne, aby ograniczyć te niekorzystne zmiany. Jednym z możliwych rozwiązań jest odwadnianie osmotyczne, które polega na usuwaniu wody z tkanki roślinnej przy użyciu roztworów hipertonicznych, w wyniku czego z tkanki usuwana jest woda, a wprowadzane są składniki rozpuszczalne roztworu [1].

Badanie tekstury, w tym kruchości, jest niezwykle ważne dla lepszego zrozumienia zmian zachodzących w tkance roślinnej podczas procesu suszenia [10]. Tekstura jest jednym z ważniejszych wyznaczników jakości produktów żywnościowych. Definiowana jest jako zespół właściwości fizycznych wyczuwalnych przez dotyk, związanych z deformacją, rozdrobnieniem i płynięciem żywności, a więc zmianami wywołwanymi przyłożoną siłą i są określane funkcją siły, czasu i odkształcenia [9]. Czynnikiem określającym wytrzymałość tkanki roślinnej na działanie siły jest odporność ściany komórkowej, która pod wpływem różnych czynników ulega deformacji i zniszczeniu [2].

Celem pracy było określenie wpływu odwadniania osmotycznego na właściwości mechaniczne liofilizowanych truskawek. Truskawki były odwadniane ze stanu zamrożenia do tej samej zawartości wody, zamrażane i liofilizowane.

Zakres pracy obejmował analizę wpływu roztworów odwadniających różnych substancji osmotycznych, lecz o takiej samej aktywności wody, oraz wpływu zróżnicowania temperatury procesu sublimacji na odporność na ściskanie liofilizowanych truskawek.

### **Material i metody badań**

Materiałem do badań były truskawki odmiany Senga Sengana zamrożone przez firmę Binder, bez szypulek, kalibrowane o średnicy 25-30 mm. Surowiec do chwili wykorzystania na potrzeby doświadczenia był przechowywany w stanie zamrożonym w temp -18°C.

Do odwadniania osmotycznego zastosowano trzy substancje osmotyczne: glukozę, sacharozę i syrop skrobiowy. Odwadnianiu osmotycznemu poddawano truskawki zamrożone. Po odwodnieniu owoce zamrażano i suszono sublimacyjnie w temp. półki grzejnej 30°C. Odwadnianie prowadzono w roztworach, o aktywności wody = 0,9, następujących substancji: 61,5% sacharozy, 49,2% glukozy i 67,5% syropu skrobiowego - przez 3 godz. w temp. 30°C, pod ciśnieniem atmosferycznym. Stosunek masy surowca do roztworu wynosił 1:4. Doświadczenie prowadzono w łaźni wodnej przy zadanej temperaturze. Stosowano delikatne wstrząsanie o częstotliwości 100 Hz i amplitudzie 10 Hz. Zamrażanie odwodnionych osmotycznie truskawek prowadzono w zamrażarce National Lab GmbH, w ciągu 2 godz. w temp. -70°C.

Stałe parametry procesu liofilizacji (liofilizator typu ALPHA1-4 LDC-1m firmy Christ, z kontaktowym ogrzewaniem surowca) to: ciśnienie 63 Pa, ciśnienie bezpieczeństwa 103 Pa i czas 24 godz. Natomiast zmiennym parametrem procesu liofilizacji była temperatura półki grzejnej: 10, 30, 50 i 70°C. Jednorazowy załadunek surowca wynosił ok. 500 g.

W tab. 1. przedstawiono symbole otrzymanych liofilizowanych truskawek.

Tabela 1

Symbole liofilizowanych truskawek.

Symbol of freeze-dried strawberries.

Rodzaj suszu / Type of freeze-dried strawberries	Symbol / Symbol
Truskawki liofilizowane w temp [10°C] nieodwadniane osmotycznie / Freeze-dried strawberries in temperature [10°C] of heating shelves, without osmotic dehydration	I
Truskawki liofilizowane w temp [30°C] nieodwadniane osmotycznie / Freeze-dried strawberries in temperature [30°C] of heating shelves, without osmotic dehydration	II
Truskawki liofilizowane w temp [50°C] nieodwadniane osmotycznie / Freeze-dried strawberries in temperature [50°C] of heating shelves, without osmotic dehydration	III
Truskawki suszone w temp [70°C] nieodwadniane osmotycznie / Freeze-dried strawberries in temperature [70°C] of heating shelves, without osmotic dehydration	IV
Truskawki liofilizowane w temp [30°C] odwadniane osmotycznie w 61,5% rozt. sacharozy / Freeze-dried strawberries in temperature [30°C] of heating shelves, osmotically dehydrated in sucrose solution	IIA
Truskawki liofilizowane w temp [30°C] odwadniane osmotycznie w 49,2% rozt. glukozy / Freeze-dried strawberries in temperature [30°C] of heating shelves, osmotically dehydrated in glucose solution	IIB
Truskawki liofilizowane w temp [30°C] odwadniane osmotycznie w 67,5% syropie skrobiowym / Freeze-dried strawberries in temperature [30°C] of heating shelves, osmotically dehydrated in starch syrup	IIC

Oznaczenie właściwości mechanicznych wszystkich rodzajów truskawek liofilizowanych polegało na pomiarze siły ściskania przy użyciu urządzenia TA-XT2i Texture Analyser w temp. pokojowej ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ), w czterech powtórzeniach. Owoce poddawano ściskaniu ze stałą prędkością głowicy 20 mm/min do momentu uzyskania 25% odkształcenia początkowej wysokości suszu. Wyznaczano maksymalną siłę ściskania badanych suszy.

Aktywność wody oznaczano w aparacie Rotronic Hygroscop DT zgodnie z instrukcją producenta w temp.  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Oznaczenie wykonywano w dwóch powtórzeniach.

W otrzymanych suszach oznaczano także zawartość suchej substancji [3].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej (analiza regresji i analiza wariancji), za pomocą programów Statistica, Statgraphics Plus 3.0 oraz Exel 2000. Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono na poziomie ufności  $\alpha=0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Temperatura półki grzejnej – temperatura procesu liofilizacji (10, 30, 50 i  $70^\circ\text{C}$ ) wpłynęła na zróżnicowanie aktywności wody truskawek nieodwadnianych osmotycznie (tab. 2), przy czym im wyższa była temperatura, tym aktywność wody była niższa. Ze wzrostem temperatury półek grzejnych liofilizatora zmniejszeniu ulegała także zawartość wody w liofilizatach.

Tabela 2

Aktywność wody i zawartość wody liofilizowanych truskawek nieodwadnianych osmotycznie, zależnie od temperatury półki grzejnej.

Water activity and water content of freeze-dried strawberries without osmotic dehydration dependent on temperature of heating shelves.

Wyróżnik jakości Quality factor	Rodzaj liofilizatu Type of freeze-dried strawberries			
	I [10°C]	II [30°C]	III [50°C]	IV [70°C]
Aktywność wody Water activity	0,128	0,091	0,062	0,058
Zawartość wody w liofilizacji [%] Water content in freeze-dried strawberries [%]	3,47	3,47	2,34	1,36

Objaśnienia symboli jak w tab. 1 / Explanatory notes of symbols as in Tab. 1).

Wykazano, że odwadnianie osmotyczne spowodowało statystycznie istotne podwyższenie aktywności wody w porównaniu z truskawkami nieodwadnianymi osmo-

tycznie. Stwierdzono także, że odwadnianie w roztworze syropu skrobiowego i sacharozy (tab. 3) spowodowało obniżenie aktywności wody do wartości 0,161–0,174 i zawartości wody do poziomu 2,79–3,86% w stosunku do próbek odwadnianych w roztworze glukozy.

Tabela 3

Aktywność wody i zawartość wody liofilizowanych truskawek odwadnianych osmotycznie, zależnie od rodzaju substancji osmotycznej.

Water activity and water content of osmotically dehydrated and freeze-dried strawberries dependent on type of osmotic solution.

Wyróżnik jakości Quality factor	Rodzaj liofilizatu Type of freeze-dried strawberries			
	II Nieodwadniany osmotycznie Without osmotic dehydration	IIA Roztwór sacharozy Sucrose solution (61,5%)	IIB Roztwór glukozy Glucose solution (49,4%)	IIC Roztwór syropu skrobiowego Starch syrup (67,5%)
Aktywność wody Water activity	0,091	0,174	0,190	0,161
Zawartość wody w liofilizacie Water content in freeze-dried strawberries [%]	3,47	3,86	4,61	2,79

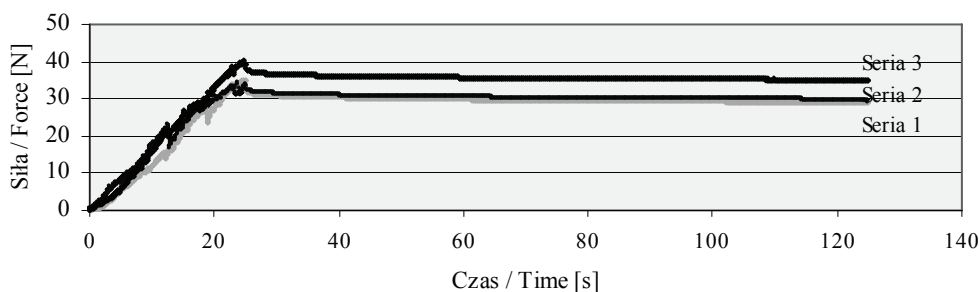
Tabela 4

Zawartość wody w truskawkach odwadnianych osmotycznie zależnie od rodzaju substancji osmotycznej.

Water content of osmotically dehydrated strawberries dependent on type of osmotic solution.

Wyróżnik jakości Quality factor	Nieodwadniane osmotycznie (rozmrózone) Without osmotic dehydration (defrost)	Owadnianie osmotyczne / Osmotic dehydration		
		Roztwór sacharozy Sucrose solution (61,5%)	Roztwór glukozy Glucose solution (49,4%)	Roztwór syropu skrobiowego Starch syrup solution (67,5%)
Zawartość wody Water content [%]	86,86	68,73	69,10	73,70
Ubytek wody Water loss [g H <sub>2</sub> O/g s.s.]	-	2,73	3,07	2,95
Zawartość suchej substancji Dry substance content [%]	13,10	31,26	30,90	26,30
Przyrost masy suchej substancji Growth of dry substance mass [g ss/g ss <sub>0</sub> ]	-	0,77	0,62	0,33

W celu stwierdzenia czy na wyżej wymienione cechy wpływ ma sam proces odwadniania, czy liofilizacji, przeanalizowano wyniki dot. truskawek odwodnionych osmotycznie niepoddanych liofilizacji i porównano z danymi truskawek rozmrożonych nieodwadnianych osmotycznie (tab. 4). Wykazano, że odwadnianie osmotyczne spowodowało zmniejszenie zawartości wody w stosunku do truskawek nieodwadnianych (rozmrożonych). Dowiedzono także statystycznie istotnych różnic ubytku wody pomiędzy truskawkami odwadnianymi w roztworze sacharozy i glukozy oraz odwadnianymi w roztworze sacharozy i syropu skrobiowego. Analizując wpływ rodzaju substancji osmotycznej po odwadnianiu stwierdzono, że odnotowany wzrost zawartości suchej substancji w stosunku do truskawek rozmrożonych nie był statystycznie istotny na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

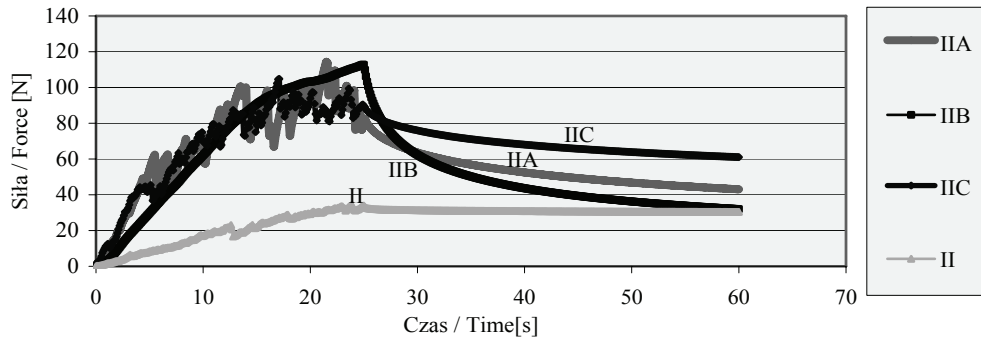


Rys. 1. Siła ściskania truskawek nieodwadnianych osmotycznie, liofilizowanych w temp. półek grzejnych liofilizatora 30°C (II) (objaśnienia jak w tab. 1). Seria 1, 2, 3 (Seria to pojedyncze powtórzenie testu).

Fig. 1. Compression force of freeze-dried strawberries in heating shelves temperature 30°C (II) without osmotic dehydration 3 (explanatory as in Tab. 1). Series 1, 2, 3 (Series is a separately repetition of test).

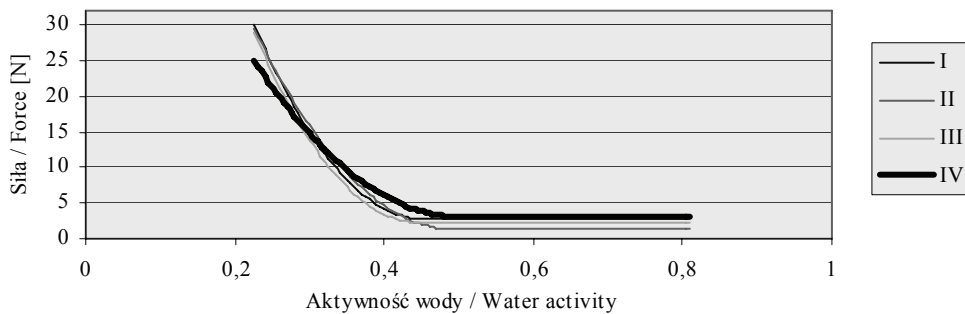
Na rys. 1. przedstawiono powtarzalność pomiaru siły ściskania truskawek nieodwadnianych osmotycznie liofilizowanych w temp. 30°C. Na podstawie pomiaru maksymalnej siły ściskania, powodującej odkształcenie 25% początkowej wysokości truskawek, wykazano, że wielkość ta nie różniła się statystycznie istotnie w przypadku owoców liofilizowanych w temp. półek grzejnych 10, 50 i 70°C. Natomiast sublimacja w temp. 30°C spowodowała istotne zmniejszenie siły ściskania w stosunku do pozostałych, uzyskanych suszy nieodwadnianych osmotycznie.

Badając wpływ odwadniania osmotycznego na właściwości mechaniczne liofilizowanych truskawek stwierdzono, że odwadnianie osmotyczne spowodowało istotny wzrost siły ściskania (rys. 2). Nie stwierdzono natomiast wpływu rodzaju substancji osmotycznej na tę wielkość.



Rys. 2. Wpływ odwadniania osmotycznego na właściwości mechaniczne liofilizowanych truskawek (objaśnienia jak w tab. 1).

Fig. 2. Effect of osmotic dehydration on mechanical properties of freeze-dried strawberries (explanatory as in Tab. 1).



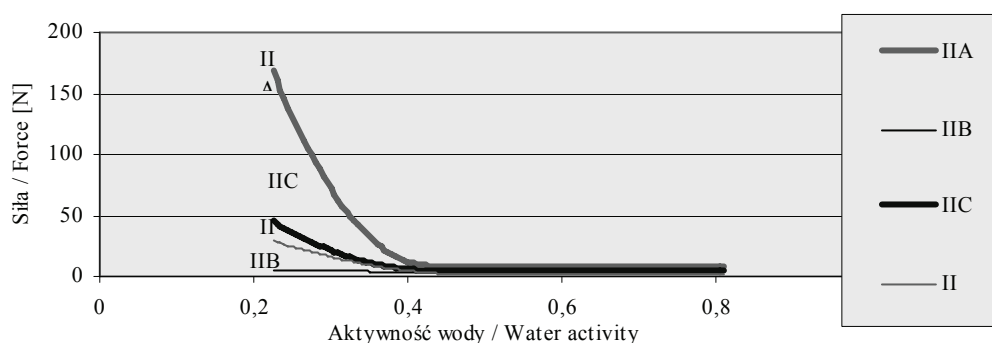
Rys. 3. Wpływ aktywności wody na siłę ściskania liofilizowanych truskawek nieodwadnianych osmotycznie (objaśnienia jak w tab. 1).

Fig. 3. Effect of water activity on compression force of freeze-dried strawberries without osmotic dehydration (explanatory as in Tab. 1).

Liofilizaty różniły się początkową aktywnością wody (tab. 3), dlatego zdecydowano się na zbadanie siły ściskania przy takiej samej aktywności wody suszy. W tym celu przechowywano liofilizowane truskawki przez 3 miesiące w ekzykatorach o aktywności wody od 0,225 do 0,810. W przypadku owoców nieodwadnianych osmotycznie wykazano, że parametry funkcji regresji (dotyczących zależności pomiędzy ww. cechami) nie różnią się statystycznie istotnie, czyli temperatura procesu liofilizacji nie wpłynęła na siłę ściskania liofilizatów w zakresie aktywności wody od 0,225 do 0,810 (rys. 3).

Wzrost aktywności wody od 0,225 do 0,432 spowodował 6-krotne zmniejszenie siły ściskania, a dalszy wzrost aktywności wody nie przyniósł istotnych zmian właściwości mechanicznych. Odwadnianie osmotyczne w roztworze sacharozy spowodowało istotny wzrost siły ściskania przy aktywności wody 0,225 w stosunku do truskawek

nieodwadnianych osmotycznie i odwadnianych w roztworze glukozy i syropu skrobiowego. W przypadku truskawek odwadnianych osmotycznie w roztworze sacharozy wzrost aktywności wody z 0,225 do 0,432 spowodował gwałtowne zmniejszenie siły ściskania ze 168 do 2 N. W przypadku pozostałych liofilizatów różnice były 40-krotnie niższe. Wyższa aktywność wody z zakresu 0,432 – 0,810, truskawek odwadnianych i nieodwadnianych osmotycznie przed liofilizacją nie spowodowały znacznych zmian siły ściskania badanych liofilizatów.

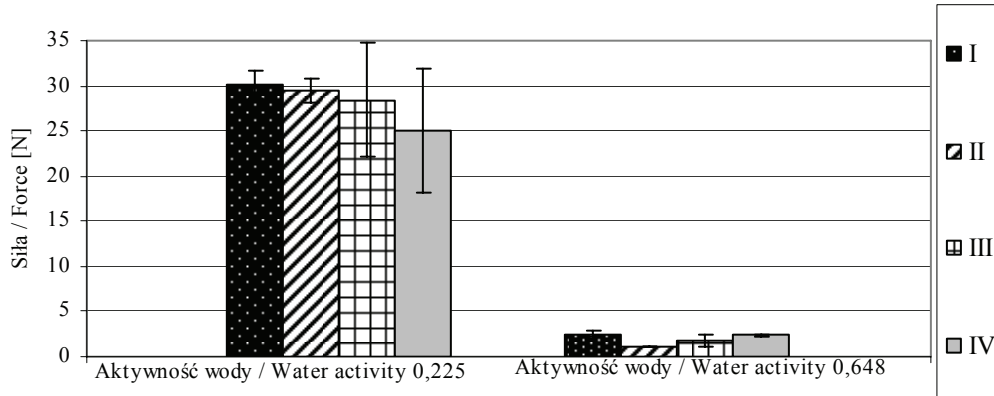


Rys. 4. Wpływ aktywności wody na siłę ściskania liofilizowanych truskawek odwadnianych osmotycznie (objaśnienia jak w tab. 1).

Fig. 4. Effect of water activity on compression force of osmotically dehydrated and freeze-dried strawberries (explanatory as in Tab. 1).

Szczegółowa analiza wyników uzyskanych liofilizatów przechowywanych w eksykatorach o aktywności wody 0,225 i 0,648 wykazała, że w przypadku owoców o aktywności wody 0,225 temp. liofilizacji nie miała istotnego wpływu na siłę ściskania (rys. 5). Wysokie odchylenia standardowe uzyskanych wyników wiążą się ze specyfiką materiału. Liofilizowane truskawki są trudnym materiałem badawczym ze względu na złożoną strukturę. Po procesie liofilizacji część z nich miała wewnętrzną komorę powietrzną, która utrudniała wykonanie badań.

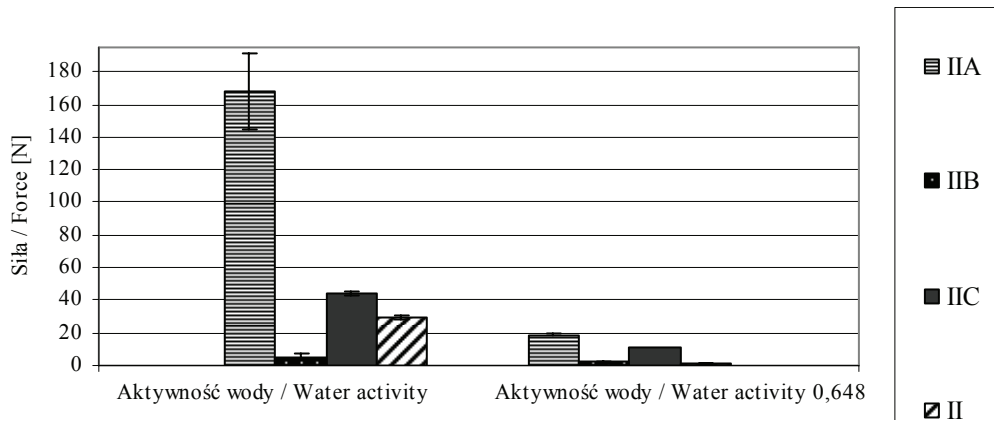
W przypadku owoców przechowywanych w eksykatorze o aktywności wody 0,648 stwierdzono, że temperatura półek grzejnych liofilizatora istotnie wpłynęła na siłę ściskania (rys. 5). Wykazano, że liofilizaty uzyskane w temp. 10 i 70°C charakteryzowały się najwyższą siłą ściskania i wartości te nie różniły się statystycznie istotnie. Natomiast statystycznie istotne zmniejszenie wartości tego parametru stwierdzono w owocach suszonych w temp. 30 i 50°C.



Rys. 5. Wpływ aktywności wody 0,225 i 0,648 na siłę ściskania liofilizowanych truskawek nieodwadnianych osmotycznie (objaśnienia jak w tab. 1).

Fig. 5. Effect of water activity 0,225 and 0,648 on compression force of freeze-dried strawberries without osmotic dehydration (explanatory as in Tab. 1).

Podobne porównania wykonano odnośnie truskawek odwadnianych osmotycznie (rys. 6) stwierdzając, że przy obu aktywnościach wody odwadnianie w roztworze sacharozy spowodowało istotny wzrost siły ściskania w stosunku do pozostałych liofilizatów. Znaczące różnice wykazano także w przypadku truskawek odwadnianych w roztworze glukozy i syropu skrobiowego.



Rys. 6. Wpływ aktywności wody 0,225 i 0,648 na siłę ściskania liofilizowanych truskawek odwadnianych osmotycznie (objaśnienia jak w tab. 1).

Fig. 6. Effect of water activity 0,225 and 0,648 on compression force of osmotically dehydrated and freeze-dried strawberries (explanatory as in Tab. 1).



## Wnioski

1. Zmiana temperatury procesu liofilizacji (10, 30, 50 i 70°C) wpływa na obniżenie aktywności wody [0,128-0,058] oraz zawartości wody [3,5-1,4%] suszonych truskawek. Liofilizacja w temp. 30°C istotnie obniża siłę ściskania owoców bezpośrednio po liofilizacji w porównaniu z suszonymi w temp. 10, 50 i 70°C. Nie stwierdzono istotnych różnic siły ściskania w zależności od zastosowanej temperatury liofilizacji w zakresie aktywności wody od 0,225 do 0,810.
2. Odwadnianie osmotyczne spowodowało podwyższenie aktywności wody liofilizowanych truskawek z 0,161 do 0,190 w zależności od rodzaju substancji osmotycznej przy zróżnicowanej zawartości wody. W wyniku odwadniania osmotycznego następuje istotny wzrost siły ściskania owoców bezpośrednio po liofilizacji. Niewątpliwie wpływa także na wzmocnienie struktury suszy i wydłużenie czasu ich przechowywania. Nie stwierdzono natomiast wpływu rodzaju substancji osmotycznej na właściwości mechaniczne. W zakresie aktywności wody 0,225–0,648 odwadnianie w roztworze sacharozy spowodowało wzrost siły ściskania w stosunku do truskawek nieodwadnianych i odwadnianych w roztworze glukozy i syropu skrobiowego.


## Literatura

- [1] Alvarez C.A., Aguerre R., Gómez R., Vidales S., Alzamora S. M.& Gerschenson L. N.: Air dehydration of strawberries: Effects of blanching and osmotic pretreatments on the kinetics of moisture transport. *J. Food Eng.*, 1995, **25**, 167-178.
- [2] Budrewicz G., Majewska K., Borowska E. J., Zadernowski R.: Texture characteristics of selected carrot varieties for the processing industry. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14/55**, 1, 57-62.
- [3] Drzazga B.: Analiza techniczna w przemyśle spożywczym. Wyd. III. WSiP. Warszawa 1992, s. 302-307.
- [4] Karel M.: Theory of drying process. In: A Spicer (Ed.), *New methods of dehydration and drying of food*. WNT. Warszawa 1980, s. 53-100.
- [5] Krokida M.K., Maroulis Z.B.: Effect of drying method on shrinkage and porosity. *Drying Technol.*, 1997, **15 (10)**, 2441-2458.
- [6] Lewicki P.P., Drzewucha-Bujak J.: Effect of drying on tissue structure of selected fruits and vegetables. Akritidis B., Marinos-Kouris D., Saravacos G.D., Mujumolar A.S. (red.). *Drying'98. Proc of the 11<sup>th</sup> Int Drying Symp, 19-22 VIII 1998*, ZITI Editions, Thessaloniki, pp. 1093-1097.
- [7] Lewicki P.P., Jakubczyk E.: Effect of hot air temperature on mechanical properties of dried apples. *J. Food Eng.*, 2004, **64**, 307-314.
- [8] Nastaj J.F.: Some aspects of freeze drying of dairy materials. *Drying Technol.*, 1996, **14 (9)**, 1967-2002.
- [9] Sadowska M.: Penetrometric evaluation of food products texture. I. Methodology of penetrometric measurements. *Przem. Spoż.*, 1983, **37 (2)**, 65-69.
- [10] Wang N. Brenna J.G.: Changes in structure density and porosity of potato during dehydration. *J. Food Eng.*, 1995, **24**, 61-76.

---

**EFFECT OF OSMOTIC DEHYDRATION ON MECHANICAL PROPERTIES  
OF FREEZE-DRIED STRAWBERRIES****S u m m a r y**

Effect of osmotic dehydration on mechanical properties of freeze-dried strawberries was shown. As investigation material Senga Sengana strawberries about 25-30 mm diameter were used. The osmotic solutions with water activity about 0,9 (sucrose solution 61,5%, glucose 49,2%, starch syrup 67,5%) were used. Osmotically dehydrated fruits were freeze-dried in heating shelves temperature 10, 30, 50 and 70°C for 24 hours. Dried strawberries were compressed to get 25% buckle initial height of freeze-dried fruits. Differences between compression curves dependent on the kind of osmotic solution were found. There was shown that after osmotic dehydration there is essential increase of compression force for freeze-dried fruits. For freeze-dried strawberries osmotically dehydrated in sucrose solution, stored in chambers with water activity solution about 0,225-0,648 the biggest compression force was needed to get demanded buckle. The influence of freeze-drying temperature on compression force of freeze-dried strawberries without osmotic dehydration was investigated. There was shown that freeze-drying in temperature 30°C cause decrease compression force for dried fruits to compare with freeze-dried strawberries in 10, 50 and 70°C. For dried fruits water activity and water contain was investigated to.

**Key words:** freeze-drying, strawberries, osmotic dehydration, mechanical properties 

KATARZYNA GRZELAK

## CEBULA JAKO ŹRÓDŁO PREBIOTYKÓW W OKRESIE JESIENNO-ZIMOWYM

### Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki analizy jakościowego i ilościowego składu  $\beta$ -fruktooligosacharydów w cebuli: żółtej ('Oporto'), czerwonej ('Karmen') i białej ('Alibaba'). Cebule poddano analizie w okresie uśpiania (październik) i w początkowym okresie wzmożonej aktywności enzymatycznej (marzec). Mono-, di- i fruktooligosacharydy (FOS) o DP 3-9 oznaczono w cebuli metodą HPLC z wykorzystaniem ekstraktów wodno-alkoholowych. Wykazano, że cebula biała jedynie w jesieni jest dobrym źródłem fruktooligosacharydów o DP 6-9, które stanowią ponad 50% sumy FOS (DP 3-9). Spośród analizowanych cebul w terminie jesiennym najbogatsza w krótkołańcuchowe fruktooligosacharydy o DP 3-5 była cebula czerwona, która zawierała w 100 g 5,3 g FOS, mniej FOS znajdowało się w cebuli białej 4,7 g w 100 g. Najuboższa we fruktooligosacharydy była cebula żółta, która zawierała 2,7 g FOS/100 g. Cebula żółta wykazała najlepszą zdolność przechowalniczą i stabilną zawartość FOS o DP 3-5 w zakresie 2,2-2,7 g/100 g. Ilość ta pokrywa jedynie w 25% minimalne zapotrzebowanie na prebiotyczne fruktooligosacharydy, które warunkują właściwą regulację flory bakteryjnej.

**Słowa kluczowe:** fruktooligosacharydy, cebula, prebiotyki

### Wprowadzenie

Cebula (*Allium cepa* L.) jest dwuletnią byliną z rodziny liliowatych (*Liliaceae*) [11, 12, 16]. Należy do najważniejszych warzyw, charakteryzuje się pożądanymi cechami smakowymi i wartością odżywczą. Może być spożywana na surowo i po obróbce kulinarnej. W Polsce najbardziej rozpowszechniona jest cebula o żółtej suchej łusce, która występuje w około 80 odmianach o różnym okresie dojrzewania i przeznaczenia [14]. Cebule o czerwonej i białej suchej łusce są spożywane głównie na surowo (jako składniki sałatek) [19].

Oligomery fruktozy (fruktany) występują głównie w roślinach należących do *Liliaceae* (cebula, czosnek, por) oraz do *Compositae* (cykoria, topinambur) [5]. Fruktany

zbudowane są z  $\beta$ -fruktofuranozy połączonej wiązaniem  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 1) z wiązaniami  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2) ostatniej cząsteczki glukopiranozy. Wśród fruktooligosacharydów (FOS) o DP 3÷10 wyróżnia się krótkołańcuchowe o DP3÷DP5 i długołańcuchowe FOS (DP 6÷10). Do FOS krótkołańcuchowych zalicza się 1-kestozę (DP 3), nystozę (DP 4) i fruktozylonozę (DP 5) [7]. Synteza fruktanów następuje podczas wzrostu bulw cebuli. Proces ten rozpoczyna się od konwersji sacharozy do 1-kestozy z udziałem 1-fruktozylotransferazy (EC 2.4.1.1.99), zwanej sacharozo:sacharozo 1-fruktozylotransferazą (1-SST). Dalsze przedłużenie łańcucha 1-kestozy przebiega w obecności fruktan: fruktan 1-fruktozylotransferazy (EC 2.4.1.100), zwanej 1-FFT, co prowadzi do wzrostu długości oligofruktozowych łańcuchów z DP3 do DP15 [8, 10, 13].

Duże zainteresowanie fruktanami związane jest z ideą żywności funkcjonalnej, która wywiera pozytywny wpływ na zdrowie człowieka [6, 15, 17]. Oligosacharydowe fruktany zaliczane są do prebiotyków, gdyż pozytywnie wpływają na mikroflorę jelita grubego, stymulując rozwój bakterii dobroczynnych, takich jak: *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. W celu uzyskania efektu prebiotycznego dzienna dawka FOS wynosi 4-10 g/dobę/osobę [10]. Głównym czynnikiem prozdrowotnego oddziaływania FOS w przewodzie pokarmowym konsumenta są lotne kwasy tłuszczowe, decydujące o obniżeniu pH treści i ograniczeniu roli mikroflory niekorzystnej [6, 7, 10]. Kwas octowy, główny produkt fermentacji poli- i oligosacharydów w jelicie grubym, jest metabolizowany w wątrobie, zwiększając pulę energii pozyskiwanej z diety. Kwas propionowy wykazuje szersze oddziaływanie, m.in. prowadzące do obniżenia syntezy cholesterolu w wątrobie [7, 10]. Kwas masłowy odgrywa ważną rolę w zmniejszaniu ryzyka zmian nowotworowych nabłonka jelita [10]. Spożycie FOS w optymalnej dawce powoduje 20-procentowy wzrost przyswajalności wapnia i magnezu [17].

Metabolizm cukrów jest związany z okresem spoczynku oraz kiełkowania. Najważniejsze biochemiczne zmiany zachodzą podczas długiego przechowywania cebul i są związane z ilościowymi zmianami w składzie węglowodanów. Zmiany zawartości mono- i disacharydów w cebulach podczas przechowywania zostały wielokrotnie opisane, natomiast przechowalnicze zmiany zawartości FOS są mało udokumentowane [2].

Celem pracy była ocena zawartości fruktooligosacharydów w cebuli świeżej w okresie uśpiania (październik - luty) i w początkowym okresie wzmożonej aktywności enzymatycznej (marzec) oraz udokumentowanie przydatności cebuli białej, żółtej i czerwonej jako źródła prebiotyków w diecie jesienno-zimowej.

### **Material i metody badań**

Materiałem badawczym były: cebula zwykła (żółta) odmiany Oporto, cebula czerwona odmiany Karmen i cebula biała (czosnkowa) odmiany Alibaba. Cebule pochodziły z plantacji towarowych z centralnej Polski (rejon Kutna). Warzywa przechodo-

wywano w warunkach chłodniczych w Zakładzie Technologii Chłodnictwa Żywności PŁ w temp.  $2\pm 3^{\circ}\text{C}$  i wilgotności 90%, bez wentylacji.

Do analizy wybierano losowo po 6 cebul, z których usuwano suche łuski, odcinano szyjkę i piętke. Cebule krojono w kostkę (o bokach  $0,3 \times 0,4 \times 0,4$  mm), a następnie rozdrabniano w mikserze. W tak przygotowanej próbce oznaczano zawartość suchej masy oraz skład jakościowy i ilościowy sacharydów metodą chromatografii w cebulach świeżych, w dwóch terminach: jesiennym (październik) i wiosennym przed pojawieniem się szczypioru (marzec).

Wyniki badań zostały poddane jednoczynnikowej analizie wariancji (ANOVA).

#### *Przygotowanie próbek do oznaczeń chromatograficznych*

W kolbie okrągłodennej o poj. 100 ml umieszczano po 5 g średniej próbki oraz 0,2 g węgla wapnia, następnie ekstrahowano trzykrotnie w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 30 min. Do pierwszej ekstrakcji używano 20 ml 88% metanolu, a do drugiej i trzeciej ekstrakcji dodawano po 15 ml 70% metanolu. Kolejne ekstrakty łączono ze sobą i wirowano. Odwirowany roztwór z nad osadu zatężano w wyparce laboratoryjnej do objętości 5 ml. Do bezpośredniej analizy pobierano 0,5 ml badanego roztworu rozcieńczonego acetonitrylem w stosunku 1:1. Wszystkie próbki analizowano trzykrotnie.

#### *Warunki analizy chromatograficznej metodą HPLC*

Do oznaczeń stosowano chromatograf cieczowy HPLC firmy Knauer, z systemem sterowania danych EuroChrom 2000, z zastosowaniem detektora RI i kolumny aminowej Shodex NH2P 250x4, fazą ruchomą była mieszanina acetonitryl:woda (70%:30%). Elucję prowadzono z szybkością przepływu 0,6 ml/min w temp.  $20^{\circ}\text{C}$ .

Zawartość suchej masy oznaczano według PN- 90/A-75101/03 [20] w trzech powtórzeniach.

### **Wyniki i dyskusja**

W tab. 1. przedstawiono zawartość suchej masy oraz skład jakościowy i ilościowy węglowodanów niestrukturalnych w cebuli białej, czerwonej i żółtej. W zastosowanych warunkach przechowania cebuli zaobserwowano nieznaczne podsuszenie oraz statystycznie istotne różnice w składzie oligosacharydów.

Zawartość niestrukturalnych węglowodanów w badanych cebulach w październiku i marcu wynosiła odpowiednio: biała – 63 g/100 g s.m. i 46 g/100 g s.m., czerwona - 78 g/100 g s.m. i 65 g/100 g s.m., żółta - 75 g/100 g s.m. i 69 g/100 g s.m. Oznacza, to że ubytek cukrów w suchej masie cebuli białej, czerwonej i żółtej podczas 5-miesięcznego przechowywania wynosił: 27, 17 i 12%. Według danych literaturowych zawartość niestrukturalnych węglowodanów zawiera się w przedziale 65-80% s.m. [3,

4, 9]. Skład niestrukturalnych węglowodanów w cebuli białej i czerwonej w okresie jesiennym i wiosennym był statystycznie istotnie różny.

Tabela 1

Skład jakościowy i ilościowy węglowodanów niestrukturalnych w cebuli [g/100 g s.m.]  
Qualitative and quantitative composition of non-structural carbohydrates in onion [g/100 g d.m.]

Odmiana cebuli Onion cultivars	Miesiąc oznaczenia Month of determination	Sucha masa Dry matter [%]	DP3	∑DP3-DP5	∑DP6-DP9	∑DP3-DP9	∑ cukrów* ∑ saccharides
biała 'Alibaba' white n=3	X	21,2±0,2	5,7 <sup>Bac</sup> ±0,7	21,9 <sup>Adi</sup> ±2,4	28,1 <sup>Acc</sup> ±2,6	50,1 <sup>Abc</sup> ±3,8	62,5 <sup>Aac</sup> ±4,6
	III	23,2±0,2	7,0 <sup>Bcc</sup> ±0,8	15,5 <sup>Adi</sup> ±2,6	10,3 <sup>Acc</sup> ±1,4	25,8 <sup>Adi</sup> ±2,8	45,7 <sup>Acc</sup> ±3,0
czerwona 'Karmen' red n=3	X	14,8±0,1	15,6 <sup>Dad</sup> ±2,6	35,6 <sup>Cac</sup> ±3,6	6,5 <sup>Cac</sup> ±1,0	42,1 <sup>Cbc</sup> ±4,2	78,2 <sup>Cad</sup> ±5,0
	III	15,1±0,1	12,0 <sup>Dad</sup> ±2,1	20,8 <sup>Gdi</sup> ±2,3	1,5 <sup>Ccd</sup> ±0,6	22,4 <sup>Gdi</sup> ±3,0	65,0 <sup>Ccd</sup> ±4,1
żółta 'Oporto' yellow n=3	X	11,7±0,1	11,1 <sup>Fdc</sup> ±2,0	23,3 <sup>Fdc</sup> ±2,5	4,1 <sup>Ecc</sup> ±0,7	27,4 <sup>Fdc</sup> ±3,1	75,1 <sup>Fdc</sup> ±5,1
	III	12,0±0,1	11,5 <sup>Fdc</sup> ±2,2	18,2 <sup>Fdi</sup> ±3,0	2,1 <sup>Edc</sup> ±0,7	22,2 <sup>Fdi</sup> ±3,0	68,5 <sup>Fdc</sup> ±4,0

Objaśnienia:/ Explanatory notes:

F - fruktoza / fructose, G - glukoza / glucose, S - sacharoza / sucrose, DP3 - kestoza / kestose, DP5 - fruktozylonystoza / fructosyl-nystose;

A,C,E,a,c – wartości średnie oznaczone wymienionymi literami różnią się statystycznie istotnie przy  $\alpha=0,05$  / mean values marked with different letters differ statistically significantly at  $\alpha=0.05$ ;

B,D,F,b,d - wartości średnie oznaczone wymienionymi literami nie różnią się statystycznie istotnie przy  $\alpha=0,05$  / mean values marked with different letters don't differ statistically significantly at  $\alpha=0.05$ ;

\* - suma cukrów obejmuje zawartość fruktozy, glukozy, sacharozy i DP3-9 / total of saccharides contain fructose, glucose, sucrose and DP3-9.

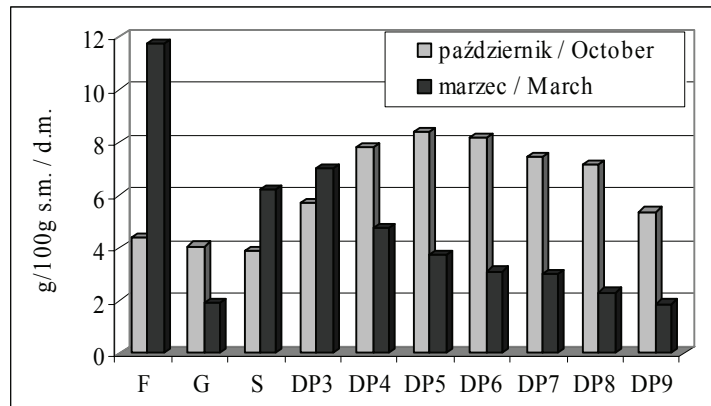
Zawartość FOS o DP3-9 w cebulach: białej, czerwonej i żółtej, analizowanych w październiku wynosiła odpowiednio 80, 54 i 35% sumy niestrukturalnych węglowodanów, tj. 10,6; 6,2; 3,2 g w 100 g ś.m. Stwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy zawartością FOS o DP 3-9 oznaczonych w październiku w cebuli żółtej a zawartością FOS o DP 3-9 w cebuli białej i czerwonej z tego samego okresu. Spośród cebul analizowanych w terminie jesiennym najbogatsza w krótkołańcuchowe fruktooligosacharydy o DP3÷5 była cebula czerwona, która zawierała 5,3 g FOS w 100 g ś.m., nieco mniej FOS znajdowało się w cebuli białej 4,7 g w 100 g ś.m. (tab. 1, rys. 2). Najuboższa we fruktooligosacharydy była cebula żółta, która zawierała 2,7 g FOS/100

g ś.m. We wszystkich badanych odmianach cebuli po 5-miesięcznym okresie przechowywania dominującym składnikiem były fruktooligosacharydy o DP3, które stanowiły odpowiednio: w cebuli czerwonej 57% krótkołańcuchowych FOS, i odpowiednio w cebuli żółtej 63%, a w cebuli białej 45%, co odpowiada zawartości 1,8; 1,4; 1,1 g/100 g ś.m. W okresie jesiennym i wiosennym skład oligomerów o DP3 w cebuli białej był statystycznie istotnie różny w porównaniu z cebulą żółtą i czerwoną. W cebulach: białej i czerwonej, analizowanych w marcu, zawartość fruktozy wzrosła trzykrotnie, natomiast w cebuli żółtej dwukrotnie (rys. 1). Jest to związane z procesem hydrolizy fruktanów. Podczas długiego składowania cebul enzym-exohydrolaza (EC 3.2.1.80) hydrolizuje wiązanie  $\beta$ -2-1 lub  $\beta$ -2-6, odcinając cząsteczkę fruktozy z łańcucha oligosacharydu [2, 8]. W cebulach podczas składowania nastąpiło zmniejszenie udziału glukozy w suchej masie, powodowane przebiegiem procesów fizjologicznych (rys. 1).

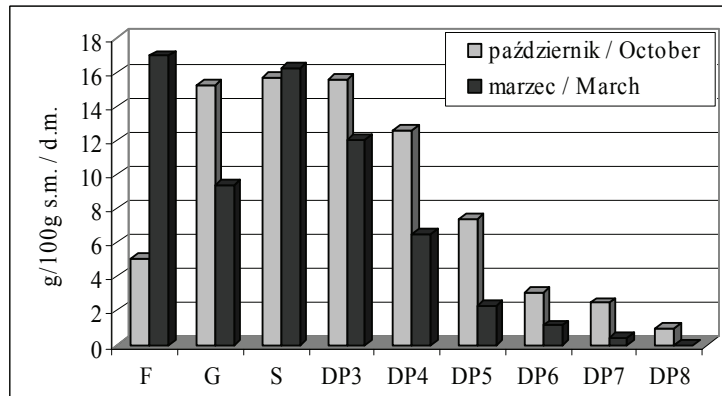
Głównymi składnikami cebuli białej były długołańcuchowe fruktooligosacharydy > DP5 (rys. 1, rys. 2). Ich zawartość w cebuli białej była znacząco wyższa niż w cebuli czerwonej i żółtej. Cebula żółta i czerwona zawierały istotnie mniej długołańcuchowych fruktooligosacharydów niż cebula biała. W początkowym okresie uśpienia cebuli białej FOS o DP6÷DP9 stanowiły 56% FOS, w okresie wiosennym ich zawartość zmniejszyła się do 40%. Wskazuje to na niską zdolność przechowalniczą cebuli białej i na potrzebę zastosowania odpowiednich procesów przetwórczych w celu zachowania cennych prebiotycznych składników tej cebuli. W październiku cebula czerwona i żółta zawierały po około 15% FOS o stopniu polimeryzacji DP6÷DP8. W marcu, w cebuli czerwonej i żółtej FOS o DP6÷DP8 stanowiły odpowiednio 7 i 10%. Statystycznie istotnie różniła się zawartość FOS > 5 w cebuli białej w porównaniu z cebulą żółtą i czerwoną. Statystycznie istotne różnice wystąpiły również pod względem zawartości FOS > 5 w okresie jesiennym i wiosennym w obrębie odmian. Uzyskane wyniki są zbieżne z danymi literaturowymi. W latach 2001-2004 Jaime i wsp. [7] i Benkeblia i wsp. [1] badali zawartość fruktanów w różnych odmianach cebuli zwyczajnej, ilość ta wahała się od 4 do 46 g/100 g s.m., zawartość FOS o DP 3÷5 wynosiła od 2 do 16.

Spożycie dziennie cebuli w Polsce wynosi około 20 g/dobę [18]. Z taką porcją świeżej cebuli białej, czerwonej lub żółtej ze zbiorów jesiennych, można dostarczyć do organizmu odpowiednio 2 g FOS, 1g FOS i 0,6 g FOS. W gospodarstwach domowych cebula zwykła (żółta) jest najpowszechniej spożywana, dlatego ilość FOS dostarczana z tą cebulą pokrywa jedynie w 25% minimalne zapotrzebowanie na prebiotyczne fruktooligosacharydy, które warunkuje właściwą regulację flory bakteryjnej.

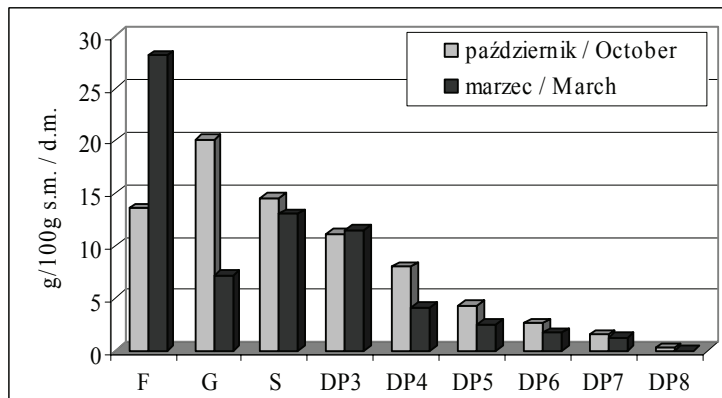
## a) 'Alibaba' (biała / white)



## b) 'Karmen' (czerwona / red)



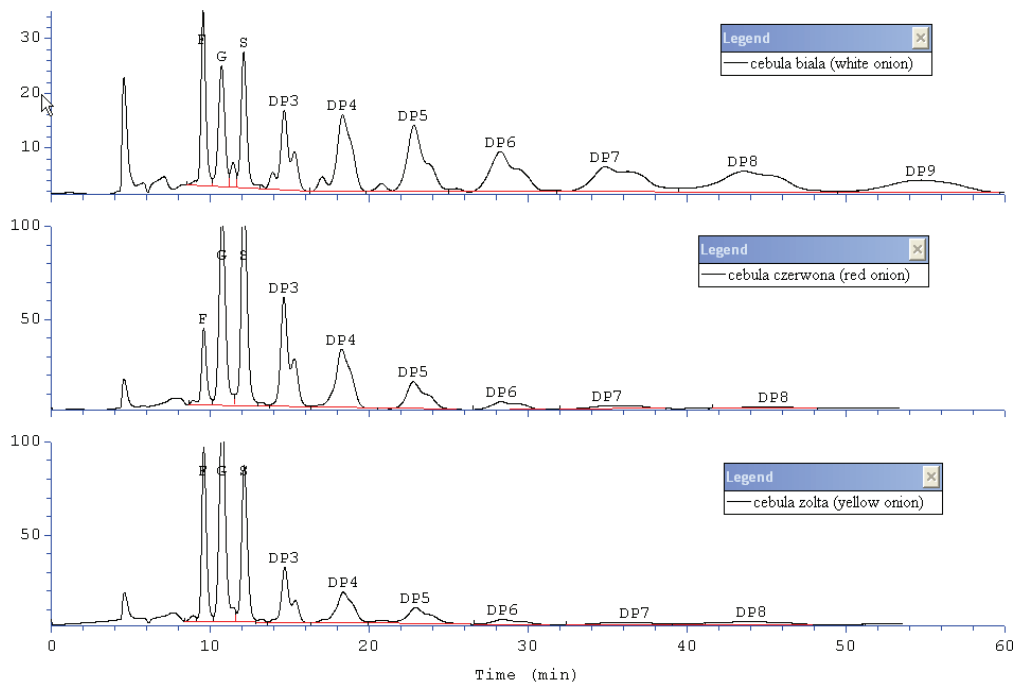
## c) 'Oporto' (żółta / yellow)



Rys. 1. Skład jakościowy i ilościowy mono-, di- i fruktooligosacharydów o DP 3-9 w cebuli [g/100 g s.m.].

Fig. 1. Qualitative and quantitative composition of mono-, di- and fructooligosaccharides of DP 3-9 in onion [g/100 g d.m.].





Rys. 2. Profile chromatograficzne cebuli białej, czerwonej i żółtej wykonane w październiku

Fig. 2. Chromatograms of white, red and yellow onion conducted in October.

### Wnioski

1. Skład jakościowy i ilościowy sacharydów w badanych cebulach charakteryzował się dużą zmiennością w zależności od intensywności przebiegu procesów fizjologicznych, zwłaszcza po zakończeniu stanu spoczynku fizjologicznego.
2. Spośród badanych odmian, cebula biała była dobrym źródłem fruktooligosacharydów o DP 6-9, lecz wykazywała niską zdolność przechowalniczą.
3. Cebulę czerwoną charakteryzował wysoki udział FOS o DP3 i DP4.
4. Cebula żółta wykazała dobrą zdolność przechowalniczą i stabilną zawartość FOS o DP 3-5 w zakresie 2-3 g/100 g. ś.m. w okresie jesienno-zimowym.

*Badania stanowią część grantu nr 2 P06T 052 30 finansowanego w latach 2006-2007 przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.*


### Literatura

- [1] Benkeblia N., Onodera S., Shiomi N.: Effect of gamma irradiation and temperature on fructans (fructo-oligosaccharides) of stored onion bulbs *Allium cepa* L. Food Chem., 2004, **87**, 377-382.
- [2] Benkeblia N., Onodera S., Shiomi N.: Variation in 1-fructo-exohydrolase (1-FEH) and 1-kestose-hydrolysing (1-KH) activities and fructo-oligosaccharide (FOS) status in onion bulbs. Influence of temperature and storage time. J. Sci. Food Agric., 2005, **85**, 227-234.
- [3] Benkeblia N., Takahashi N., Ueno K., Onodera S., Shiomi N.: Tetra- and penta-fructooligosaccharide (FOS) isomers assessment in onion bulb tissues: effect of temperature and storage time. Tetrah:Assym. 2005, **16**, 33-37.
- [4] Benkeblia N., Ueno K., Onodera S., Shiomi N.: Variation of fructooligosaccharides and their metabolizing enzymes in onion bulb (*Allium cepa* L. cv. Tenshin) during long-term storage. J. Food Sci., 2005, **70** (3), 208-214.
- [5] 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** (2), 111-120.
- [6] Hidaka H., Eida T., Tokunaga T., Tashiro Y.: Effects of fruktooligosaccharides on intestinal flora and human health. Bifidobact. Microflor., 1986, **5**, 37-50.
- [7] Jaime L., Martin-Cabrejes M.A., Molla E., Lopez-Andreu F.J., Esteban R.M.: Effect of storage on fructan and fructooligosaccharides of onion (*Allium cepa* L.). J. Agric. Food Chem., 2001, **49**, 982-988.
- [8] Kaack K., Christensen L.P., Hansen S.L., Grevsen K.: Non-structural carbohydrates in processed soft fried onion (*Allium cepa* L.). Eur. Food Res. Technol., 2004, **218**, 372-379.
- [9] Kahane R., Vialle-Guerin E., Boukema I., Tzanoudakis D., Bellamy C., Chamaux C., Kik C.: Changes in non-structural carbohydrate composition during bulbing in sweet and high-solid onions in field experiments. Environ. Exper. Bot. 2001, **45**, 73-83.
- [10] Kołakowski E. (red.): Enzymatyczne modyfikacje żywności. W.: Biokonwersja sacharozy i inuliny do prebiotycznych  $\beta$ -fruktooligosacharydów. Wyd. AR. Szczecin 2005, s. 451-465.
- [11] Ładyżyńska A., Pieniążek J.: Chemia i fizjologia owoców i warzyw. PWRiL, Warszawa 1995, s. 29.
- [12] Małachowski A.: Warzywa cebulowe. PWRiL. Warszawa 1982, s. 10-16.
- [13] McCallum J., Clarke A., Pither-Joyce M.: Genetic mapping of major gene affecting onion bulb fructan content. Theor. Appl. Genet., 2006, **112**, 958-967.
- [14] Rumpel J.: Uprawa cebuli. Hortpress Sp. z o. o. Warszawa 2003, s. 16.
- [15] Skowronek M., Fiedurek J.: Inulina i inulinazy, właściwości, zastosowanie i perspektywy. Przem. Spoż., 2003, **3**, 23.
- [16] Świetlikowska U. (red.): Surowce spożywcze. Wyd. SGGW, Warszawa 1995, s. 45.
- [17] Van den Heuvel E.G.H.M., Muys T., van Dokkum W., Schaafsma G.: Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. Functional properties of non-digestible carbohydrates. INRA Nantes 1998, 138.
- [18] <http://www.odr.net.pl/publikacje/0123.pdf>
- [19] <http://www.kuchnia.bytow.pl/index.php?menu=czytaj&nr=84>
- [20] PN- 90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne. Oznaczenie zawartości suchej masy metodą wagową.

**ONION AS A SOURCE OF PREBIOTICS IN AUTUMN-WINTER PERIOD**

## S u m m a r y

The aim of the study was to compare quantitative and qualitative composition of  $\beta$ -fructooligosaccharides in onions: yellow ('Oporto'), red ('Karmen'), white ('Alibaba'). Onions were analysed in October (hibernation) and March (activation). Mono-, di- and fructooligosaccharides (FOS) of DP 3-9 were determined in onions by HPLC method with the use of water-alcohol extracts. It was proved that the white onion was a good source of FOS (DP 6-9), which gave over 50% of total FOS (DP 3-9) in autumn only. At the same season the red onion was the richest in FOS (DP 3-5) and contained 5.3 g of FOS in 100 g of fresh weight, while the white onion contained 4.7 g in 100 g f.w. and yellow onion contained 2.7 g in 100 g f.w. Yellow onion had the best shelf life and contained stable amount of FOS (DP 3-5) ranging from 2.2 to 2.7 g/ 100 g. f.w. That amount covers only 25% of minimal requirement for prebiotic FOS needed for proper composition of bacterial flora in human colon.

**Key words:** fructooligosaccharides, onion, prebiotics 

MONIKA JARYCH-SZYSZKA

## WPLYW NAWOŻENIA AZOTOWEGO NA ZAWARTOŚĆ AZOTANÓW(V) W BULWACH ZIEMNIAKA

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu stosowania różnych dawek nawożenia azotowego w uprawie czterech odmian ziemniaka na zawartość azotanów(V) w bulwach. Ponadto celem pracy było określenie zmian zawartości azotanów(V) w bulwach podczas przygotowywania ich do spożycia.

Do badań użyto bulw czterech odmian ziemniaka – Bard, Lord, Cedron i Kuba. W doświadczeniu polowym zastosowano trzy dawki nawożenia azotem: 40, 80 i 120 kg N·ha<sup>-1</sup> – odmiany Bard i Lord oraz dwie dawki: 100 i 140 kg N·ha<sup>-1</sup> - odmiany Cedron i Kuba. Z prób ziemniaków nawożonych w uprawie podstawowymi dawkami azotu (40 kg N·ha<sup>-1</sup> - odmiana Bard i Lord; 100 kg N·ha<sup>-1</sup> - odmiana Cedron i Kuba), wydzielono bulwy, które obrano ręcznie i poddano analizie przed i po ugotowaniu. W bulwach oznaczano zawartość suchej masy, skrobi (z wyjątkiem ziemniaków gotowanych) oraz azotanów(V).

Ziemniaki odmian przeznaczonych do bezpośredniej konsumpcji (Bard i Lord) zawierały mniejszą ilość suchej masy i skrobi oraz większą ilość azotanów(V) niż ziemniaki odmian przeznaczonych do produkcji czipsów i suszy (Cedron i Kuba). Zastosowanie wyższych dawek nawożenia azotowego w uprawie badanych odmian ziemniaków spowodowało zwiększenie zawartości azotanów(V) w bulwach, przy czym odmiany konsumpcyjne w większym stopniu reagowały na nawożenie mineralne. Procesy obróbki ziemniaków przyczyniły się do zmniejszenia zawartości azotanów(V) – bulwy po obraniu zawierały o około 20% mniej, a po ugotowaniu o około 30% mniej tych związków.

**Słowa kluczowe:** ziemniaki, nawożenie azotowe, obieranie, gotowanie, azotany(V)

### Wstęp

Azotany(V) wykazują toksyczne działanie na organizm człowieka i zwierząt. Najpoważniejszym źródłem tych szkodliwych związków chemicznych w diecie są warzywa i ziemniaki. Zawartość związków azotowych w bulwach zależy od odmiany ziemniaka [4, 5], warunków glebowo-klimatycznych [4] i stosowanych zabiegów agrotechnicznych, takich jak: ochrona roślin [2], termin zbioru [7, 16], nawadnianie [18]

---

*Mgr inż. M. Jarych-Szyska, Katedra Technologii Rolnej i Przechowalnictwa, Akademia Rolnicza, ul. C. K. Norwida 25, 50-375 Wrocław*

nawożenie [1]. Istotnym czynnikiem kształtującym zawartość azotanów(V) w bulwach jest azotowe nawożenie mineralne - stosowane w celu zwiększenia plonów. Azot jest dla rośliny istotnym składnikiem pokarmowym - po pobraniu i zasymilowaniu pełni w tkankach roślinnych rolę w syntezie licznych związków organicznych: aminokwasów, białek, chlorofilu i fitohormonów odpowiadających za rozwój rośliny [22, 24]. Zbyt intensywne nawożenie ziemniaka azotem powoduje, że pobierane przez roślinę w nadmiernej ilości azotany(V) nie są w całości metabolizowane, lecz są gromadzone w bulwach [14, 15, 17, 20]. Na gromadzenie się azotanów(V) w bulwach ziemniaka wpływają także warunki pogodowe w czasie okresu wegetacji [4, 17].

Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia [21] maksymalny poziom azotanów w ziemniakach może wynosić 200 mg  $\text{NO}_3^-/\text{kg}$  świeżych bulw. Spożycie azotanów(V) wraz z dietą można zmniejszyć przez zastosowanie odpowiednich zabiegów kulinarnych lub operacji technologicznych. Azotany(V) zlokalizowane są w skórce i pod skórką bulwy ziemniaka, a równocześnie dobrze rozpuszczają się w wodzie [4], stąd obieranie, krojenie i płukanie bulw w wodzie, ich blanszowanie oraz gotowanie przyczyniają się do zmniejszania zawartości tych związków w ziemniakach [3].

Celem pracy było określenie wpływu stosowania różnych dawek nawożenia azotowego w uprawie czterech odmian ziemniaka na zawartość azotanów(V) w bulwach. Ponadto celem pracy było określenie zmian zawartości azotanów(V) w bulwach podczas ich przygotowywania do spożycia.

### **Material i metody badań**

Badaniom poddano bulwy dwóch bardzo wczesnych odmian ziemniaka: Bard i Lord, przeznaczonych do bezpośredniej konsumpcji, oraz wczesnej odmiany Cedron i średnio wczesnej odmiany Kuba - przeznaczonych do produkcji chipsów i suszy. Ziemniaki pochodziły z sezonów wegetacyjnych 2002, 2003 i 2004 roku. Doświadczenie polowe prowadzono w Rolniczym Zakładzie Doświadczalnym w Pawłowicach k. Wrocławia metodą podbloków w trzech powtórzeniach. W okresie przeprowadzania badań średnia temperatura powietrza była wyższa od średniej wieloletniej, natomiast ilość opadów niższa od średniej wieloletniej (tab. 1).

W doświadczeniu polowym zastosowano trzy dawki nawożenia azotem: 40, 80 i 120  $\text{kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$  - odmiany ziemniaka Bard i Lord, oraz dwie dawki: 100 i 140  $\text{kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$  - odmiany Cedron i Kuba. Ziemniaki zbierano z pola w pełnej dojrzałości i przed wykonaniem badań laboratoryjnych przechowywano przez dwa tygodnie w temp. ok. 15°C przy wilgotności względnej powietrza ok. 85%.

Z ziemniaków, nawożonych w uprawie podstawowymi dawkami azotu, wydzielono próby bulw do badań po obraniu i po ugotowaniu. Bulwy gotowano standardowo zachowując proporcje 0,5 kg ziemniaków i 0,7  $\text{dm}^3$  wrzącej wody.

Tabela 1

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

Mean air temperature and total rainfalls in the period of potato vegetation according the Swojec Meteorological Station.

Lata Years	Temperatura powietrza / Air temperature [°C] Opady atmosferyczne / Rainfall amount [mm]					Średnia temp. Mean temp. [°C] Suma opadów atmosferycznych Rainfall amount sum [mm]
	Kwiecień April	Maj May	Czerwiec June	Lipiec July	Sierpień August	
2002	9,0	17,4	18,5	20,5	20,9	17,3
	32,9	39,5	82,4	26,8	103,1	284,7
2003	8,3	16,1	20,0	19,9	20,5	17,0
	15,0	75,5	33,1	57,5	53,8	234,9
2004	9,8	13,2	16,7	18,6	19,6	15,6
	21,5	39,1	43,9	66,1	33,0	203,6
Średnia wieloletnia 1971 – 2004 Mean of many years 1971 – 2004	8,2	13,4	16,6	18,4	17,4	14,8
	35,3	59,4	67,8	68,5	67,6	298,6

W bulwach przed i po obraniu oraz po ugotowaniu oznaczano zawartość suchej masy metodą wagową [11] oraz zawartość azotanów metodą kolorymetryczną z użyciem reflektometru odbiciowego RQflex2 firmy Merck [19]. Dodatkowo w bulwach przed obraniem oznaczano zawartość skrobi metodą polarymetryczną Ewersa-Grossfelda w modyfikacji Hadorna i Bifera [12].

Wyniki badań poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica 7.1, stosując jednoczynnikową analizę wariancji. W celu stwierdzenia statystycznie istotnych różnic wyznaczono wartości NIR oraz grupy homogenne za pomocą testu porównań wielokrotnych Duncana (na poziomie istotności  $\alpha=0,05$ ).

## Wyniki i dyskusja

Badane odmiany charakteryzowały się różną zawartością suchej masy i skrobi: ziemniaki przeznaczone do bezpośredniej konsumpcji odmian Bard i Lord zawierały mniej suchej masy i skrobi niż odmiany przeznaczone do przetwórstwa: Cedron i Kuba (tab. 2). Odmiany różniły się zawartością azotanów(V) w bulwach. Odmiany przeznaczone do przetwórstwa - Cedron i Kuba w mniejszym stopniu gromadziły azotany(V) (około 65 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg) niż odmiany konsumpcyjne Bard i Lord (około 80 mgNO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg)

(rys. 1). Frydecka-Mazurczyk i Zgórska [5] prowadząc wieloletnie badania z użyciem odmian ziemniaka: Ajiba, Felsina, Fresco, Karlena, Sante, Saturna i Timate wykazały duży wpływ genotypu na zawartość azotanów w bulwach.

Tabela 2

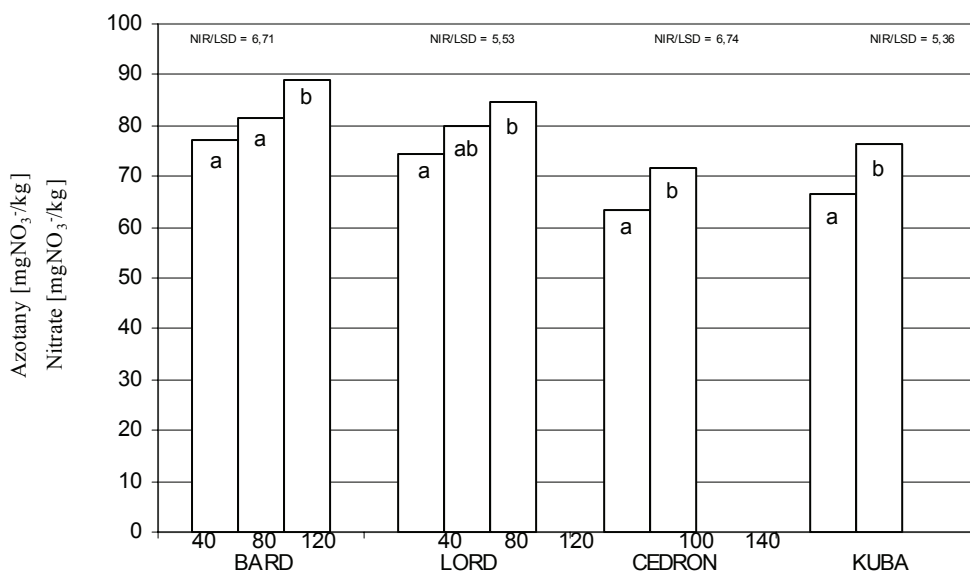
Zawartość suchej masy i skrobi w ziemniakach nawożonych dawkami: 40 kg N·ha<sup>-1</sup> ('Bard' i 'Lord') oraz 100 kg N·ha<sup>-1</sup> ('Cedron' i 'Kuba') uprawianych w latach 2002-2004.

Dry matter [%] and starch [%] content in potato fertilized with basic dose of nitrogen 40 kg·ha<sup>-1</sup> ('Bard' and 'Lord') and 100 kgN·ha<sup>-1</sup> ('Cedron' and 'Kuba') cultivated in 2002 - 2004 years.

Odmiana ziemniaków Potatoes variety	Sucha masa [%] Dry matter [%]				Skrobia [%] Starch [%]			
	Lata Years							
	2002	2003	2004	$\bar{X}$	2002	2003	2004	$\bar{X}$
Bard	16,89	17,19	16,99	17,02	11,74	11,71	12,73	12,06
Lord	17,08	17,74	16,47	17,09	12,12	12,91	11,82	12,28
Cedron	23,90	24,81	23,80	24,17	18,57	19,01	18,85	18,81
Kuba	25,36	24,77	24,16	24,76	20,16	19,43	19,39	19,66

Wysokość dawki nawożenia azotowego zastosowanego w uprawie badanych odmian miała wpływ na zawartość azotanów w ziemniakach (rys. 1). Zastosowanie najwyższej dawki azotu – 120 kg N·ha<sup>-1</sup> spowodowało istotny wzrost zawartości azotanów(V) w ziemniakach odmiany Bard i Lord w porównaniu z ziemniakami nawożonymi dawką 40 kg N·ha<sup>-1</sup> (rys. 1 i 2) i zależność ta wyraźniej zaznaczała się w przypadku odmiany Bard. Ziemniaki odmiany Cedron i Kuba uprawiane z zastosowaniem dawki 140 kg N·ha<sup>-1</sup>, zgromadziły więcej azotanów(V) w porównaniu z ziemniakami nawożonymi niższą dawką - 100 kg N·ha<sup>-1</sup> (rys. 1 i 3). Odmiany ziemniaków Cedron i Kuba mimo nawożenia wyższymi dawkami azotu niż odmiany Bard i Lord w mniejszym stopniu gromadziły azotany(V) w bulwach (rys. 1). Świadczyło to o lepszym wykorzystywaniu azotowych substancji pobieranych z gleby i przetwarzaniu ich na związki białkowe [20, 24] w porównaniu z odmianami konsumpcyjnymi. Wielu autorów donosi o decydującym wpływie nawożenia azotowego na gromadzenie się azotanów(V) w bulwach różnych odmian ziemniaka [1, 8, 23]. Machnacki oraz Wyszkowski

[16, 25] obserwowali systematyczny wzrost zawartości azotanów(V) w ziemniakach badanych odmian wraz ze wzrostem dawki nawożenia azotem.



40, 80, 120, 100, 140 - dawki nawożenia azotem [kg N·ha<sup>-1</sup>] / doses of nitrogen applied to fertilizate [kgN·ha<sup>-1</sup>],

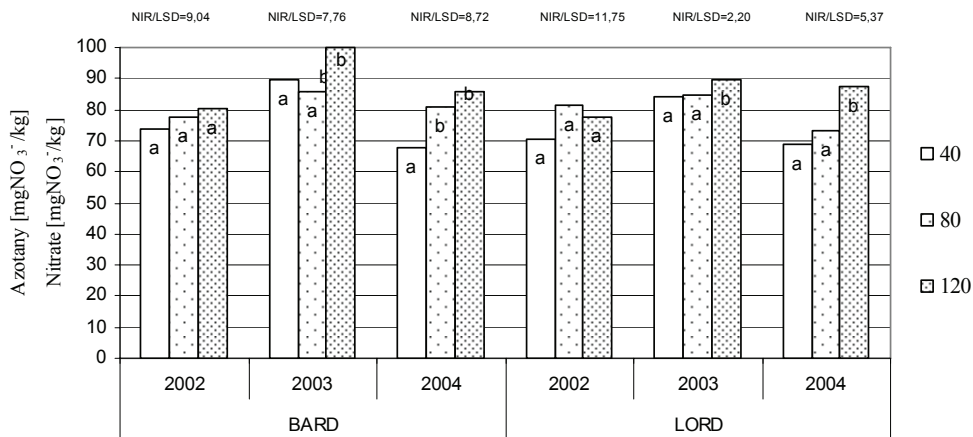
a, b - wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności  $\alpha=0,05$  / the mean values denoted by the same letters are not statistically significantly different

Rys. 1. Zawartość azotanów(V) w bulwach czterech odmian ziemniaka nawożonego w uprawie różnymi dawkami azotu (wartość średnia z trzech sezonów wegetacyjnych).

Fig. 1. The nitrate (V) content in four potato varieties fertilized with different doses of nitrogen (mean value from three vegetation seasons).

Na zawartość azotanów(V) miały wpływ warunki klimatyczne panujące w sezonie wegetacyjnym. Najwyższą zawartość azotanów(V) w ziemniakach badanych odmian stwierdzono w 2003 roku (rys. 2 i 3) - kumulacji azotanów sprzyjały najniższe opady oraz najwyższa temperatury powietrza w czerwcu i lipcu w porównaniu z pozostałymi latami (tab. 1). Czerwiec i lipiec to okres tuberyzacji, czyli najintensywniejszego gromadzenia plonu i kształtowania składu chemicznego bulw, w którym rośliny były równocześnie najbardziej wrażliwe na niedobór wody [9]. Wielu autorów obserwowało podobny wpływ okresu suszy na wzrost zawartości azotanów(V) w bulwach [5, 13, 23]. Zawartość azotanów(V) w ziemniakach w żadnej z badanych prób nie przekroczyła dopuszczalnego poziomu 200 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg [21].



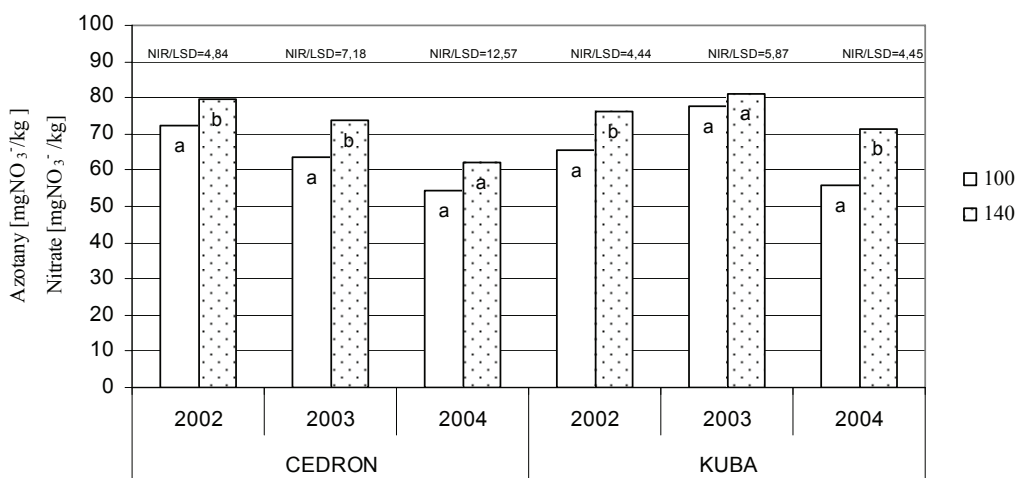


40, 80, 120 - dawki nawożenia azotem [kg N·ha<sup>-1</sup>] / doses of nitrogen applied to fertilizate [kg N·ha<sup>-1</sup>].

a, b - wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności α=0,05 / the mean values denoted by the same letters are not statistically significantly different at the level of α=0,05.

Rys. 2. Zawartość azotanów(V) w bulwach dwóch odmian ziemniaka nawożonego w uprawie różnymi dawkami azotu.

Fig. 2. The nitrate (V) content in two potato varieties fertilized with different doses of nitrogen.



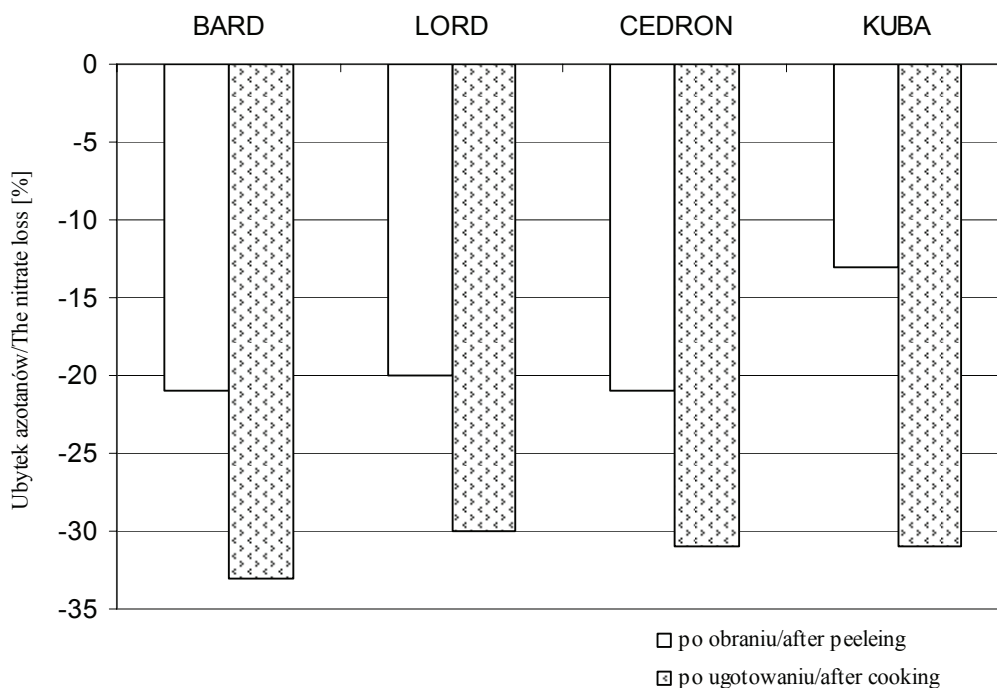
100, 140 - dawki nawożenia azotem [kg N·ha<sup>-1</sup>] / doses of nitrogen applied to fertilizate [kg N·ha<sup>-1</sup>].

a, b - wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności α=0,05 / the mean values denoted by the same letters are not statistically significantly different at the level of α=0,05.

Rys. 3. Zawartość azotanów w bulwach dwóch odmian ziemniaka nawożonego w uprawie różnymi dawkami azotu.

Fig. 3. The nitrate (V) content in two potato varieties fertilized with different doses of nitrogen.

Podczas przygotowywania ziemniaków do spożycia stwierdzono znaczny ubytek azotanów(V) w bulwach. Proces obierania przyczynił się do zmniejszenia pierwotnej zawartości azotanów(V) w bulwach o około 20% (rys. 4). Gotowanie bulw spowodowało dalsze zmniejszenie się zawartości azotanów(V) – ziemniaki ugotowane zawierały ponad 30% mniej azotanów(V) niż surowe nieobrane (rys. 4). Gołaszewska i Zalewski [6] prowadząc doświadczenie z ziemniakami odmian Sokół i Bronka zanotowali większy, bo 36% ubytek azotanów(V) w bulwach po ich obraniu i 42% po ugotowaniu. Natomiast Zgórska i Grudzińska [26] stwierdziły zmniejszenie się zawartości azotanów(V) w ugotowanych ziemniakach odmian Agria, Danusia, Ditta, Satina, Wawrzyn, Wiking i Zebra od 40 do 67%.



Rys. 4. Ubytek azotanów(V) w ziemniakach czterech odmian po obraniu i po ugotowaniu w stosunku do bulw surowych nieobrane.

Fig. 4. The nitrate(V) loss in four potato varieties after peeling and after cooking in relation to unpeeled uncooked tubers.

## Wnioski

1. Ziemniaki odmian przeznaczonych do bezpośredniej konsumpcji (Bard i Lord) zawierały więcej azotanów(V) przy mniejszej zawartości suchej masy i skrobi niż ziemniaki odmian przeznaczonych do produkcji chipsów i suszy (Cedron i Kuba).

2. Zastosowanie wyższych dawek nawożenia azotowego w uprawie badanych odmian ziemniaków spowodowało zwiększenie zawartości azotanów(V) w bulwach, przy czym odmiany konsumpcyjne w większym stopniu reagowały na nawożenie mineralne.
3. Susza i wysoka temperatura panujące w sezonie wegetacyjnym spowodowały wzrost zawartości azotanów(V) w bulwach.
4. Procesy obróbki ziemniaków spowodowały zmniejszenie zawartości azotanów(V) – bulwy po obraniu zawierały o około 20% mniej tych związków, a po ugotowaniu o około 30%.

### Literatura

- [1] Bélanger G., Walsh J. R., Richards J. E., Milburn P. H., Ziadi N.: Nitrogen fertilization and irrigation affects tuber characteristics of two potato cultivars. *Amer. J. Potato Res.*, 2002, **79**, 269-279.
- [2] Boligłowa E., Gleń K., Pisulewski P.: Wpływ stosowania herbicydów na plonowanie i niektóre cechy jakości bulw ziemniaka. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2004, **500**, 391-397.
- [3] Cieślík E.: Zmiany azotanów i azotynów podczas obróbki kulinarnej ziemniaków. *Przem. Spoż.*, 1992, **10**, 226-228.
- [4] Frydecka-Mazurczyk A., Zgórska K.: Czynniki wpływające na zawartość azotanów w bulwach ziemniaka. *Biul. Inst. Ziem.*, 1996, **47**, 111-125.
- [5] Frydecka-Mazurczyk A., Zgórska K.: Zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka w zależności od odmiany, miejsca uprawy i terminu zbioru. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **4 (25) Supl.**, 46-51.
- [6] Gołaszewska B., Zalewski S.: Optimisation of potato quality in culinary process. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2001, **10/15,1**, 59-63.
- [7] Harmouz K., Lachman J., Dvořák P., Pivec V.: Yield and quality of potatoes cultivated conventionally and ecologically. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2004, **500**, 277-283.
- [8] Jabłoński K.: Uprawa bardzo wczesnych odmian ziemniaka Bard i Lord w warunkach glebowo-klimatycznych Pomorza. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2004, **500**, 243-251.
- [9] Jasińska Z., Kotecki A. (red.): Szczegółowa uprawa roślin. Tom I. Wyd. AR, Wrocław 2003.
- [10] Kmiecik W., Lisiewska Z.: Azotany i azotyny w warzywach. Cz.III. Zmiany zawartości azotanów i azotynów w warzywach pod wpływem zabiegów kulinarnych i konserwowania. *Post. Nauk Rol.*, 1994, **1**, 51-62.
- [11] Krełowska-Kułas M.: Badanie jakości produktów spożywczych. PWE, Warszawa 1993.
- [12] Leszczyński W.: Krytyczna ocena metod oznaczania zawartości skrobi w bulwach ziemniaka. *Przem. Ferm. i Rol.*, 1975, **11**, 22-24.
- [13] Lis B., Mazurczyk W., Trawczyński C., Wierzbicka A.: Czynniki ograniczające wykorzystanie azotu przez rośliny ziemniaka a zagrożenie środowiska. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2002, **489**, 165-174.
- [14] Lis B.: Wpływ długiego okresu wegetacji odmian i nawożenia na zawartość azotanów w bulwach ziemniaka. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 1996, **440**, 217-222.
- [15] Lisińska G., Leszczyński W.: *Potato science and technology*. Elsevier Applied Science. London 1989.
- [16] Machnacki M., Kołpak R.: Wpływ nawożenia azotem i terminu zbioru na wysokość i wartość konsumpcyjną plonu ziemniaków wczesnych. Cz. I. Plon ogólny i zawartość azotanów i witaminy C w bulwach. *Rocz. Nauk Rol.*, 1998, **seria A**, **113**, 1-2, 133-140.

- [17] Machnacki M.: Wpływ nawożenia azotowego na zawartość azotanów w bulwach wczesnych ziemniaków zbieranych w trzech terminach. *Fragm. Agr.*, 1998, **XV**, **3(59)**, 80-89.
- [18] Prośba-Białczyk U., Nowak L., Makowski K.: Wpływ nawadniania i nawożenia azotem na produktywność dwóch odmian ziemniaka. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2004, **500**, 313-323.
- [19] Reflektometryczna metoda oznaczania jonów azotanowych. Instrukcja obsługi aparatu Merck RQ-flex2.
- [20] Rogozińska I.: Wpływ nawożenia azotowego na bilans azotu oraz szkodliwych dla zdrowia substancji chemicznych w bulwach ziemniaka. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 1995, **1**, 59-65.
- [21] Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności Dz. U. 2003 r. Nr **37**, poz. 326 z późn. zm.
- [22] Ruiz J. M., Hernandez J., Castilla N., Romero L.: Potato performance in response to different mulches. I. Nitrogen metabolism in yield. *J. Agr. Food Chem.*, 1999, **47**, 2660-2665.
- [23] Wierzbicka A., Lis B.: Optymalizacja nawożenia azotem wczesnych odmian ziemniaka. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2002, **489**, 203-212.
- [24] Wojcieszka U.: Fizjologiczna rola azotu w kształtowaniu plonu roślin. Cz. I. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 1994, **1**, 115-126.
- [25] Wyszowski M.: Zawartość związków azotowych i witaminy C w bulwach ziemniaka w zależności od zastosowanego nawożenia azotem i fungicydów. *Fragm. Agr.*, 1996, **XIII**, **1(49)**, 9-19.
- [26] Zgórska K., Grudzińska M.: Zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka po obróbce wstępnej i termicznej. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2004, **500**, 475-481.

## INFLUENCE OF THE NITROGEN FERTILIZATION ON NITRATE CONTENT IN POTATO TUBERS

### S u m m a r y

The purpose of the study was to determine the effects of different N rates used for fertilization of four potato varieties on nitrate content of potato tubers. In addition the aim of the study was to define changes in nitrate content of potato tubers during culinary process.

The experiments were conducted on four potato varieties – Bard, Lord, Cedron and Kuba. The experimental field with Bard and Lord varieties was fertilized with three N rates: 40, 80 and 120 kg of N·ha<sup>-1</sup>, while Cedron and Kuba varieties were fertilized with two N rates: 100 and 140 kg of N·ha<sup>-1</sup>. From potato fertilized with basic N rates (40 kg N·ha<sup>-1</sup> for Bard and Lord varieties and 100 kg N·ha<sup>-1</sup> for Cedron and Kuba varieties), potato samples were taken peeled handly and analysed before and after cooking. The measurements of potato tubers included: dry matter, starch (except cooked potatoes) and nitrate content.

The varieties destined for cooking exhibited lower dry matter and starch content, but higher nitrate content than potato varieties destined for chips and dehydrated products manufacturing. Higher N rates affected in higher content of nitrate in potato tubers, and edible potato varieties to a larger extend reacted on mineral fertilization. Culinary processes decreased nitrate content – peeled potatoes contained 20%, and cooked potatoes contained 30% lower nitrate amount.

**Key words:** potatoes, nitrogen fertilization, peeling, cooking, nitrate ☒

IWONA JASIŃSKA, PIOTR KOŁODZIEJCZYK, JAN MICHNIEWICZ

## ZIARNO ŻYTA JAKO POTENCJALNE ŹRÓDŁO SKŁADNIKÓW PROZDROWOTNYCH W DIECIE

### Streszczenie

Ziarno żyta zawiera składniki chemiczne, które mają pozytywne znaczenie w żywieniu człowieka. Jest ono bogatym źródłem łatwo przyswajalnych białek, witamin i błonnika pokarmowego, zawiera także kwasy fenolowe (np. ferulowy, kawowy) oraz fitoestrogeny (np. secoisolariciresinol, matairesinol). Większość cennych, ze względów żywieniowych, składników ziarna żyta zlokalizowana jest w zewnętrznych jego tkankach, co sprawia, że w trakcie przemiału ziarna są one eliminowane.

W pracy scharakteryzowano międzyprodukty przemysłowego przemiału ziarna żyta pod względem zawartości substancji prozdrowotnych - pentozanów i  $\beta$ -glukanów ogółem. Określono także zawartość substancji mineralnych oraz białka ogółem i rozpuszczalnego w wodzie. Stwierdzono, że mąki pasażowe charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością pentozanów i  $\beta$ -glukanów. Wykazano, że frakcje mąki pochodzące z końcowych pasaży śrutowych i wymiałowych zawierały znacznie więcej tych składników niż mąki otrzymane w początkowych etapach przemiału oraz mąki handlowe. Na podstawie uzyskanych wyników wytypowano 5 frakcji mąki o szczególnie wysokiej koncentracji badanych składników błonnika pokarmowego. Frakcje te mogą stanowić wartościowy surowiec do produkcji żywności funkcjonalnej.

**Słowa kluczowe:** żyto, pentozały,  $\beta$ -glukany, błonnik pokarmowy

### Wprowadzenie

Żyto i jego przetwory, zwłaszcza całościarnowe, mają miejsce w wielowiekowej tradycji żywienia ludzi. Ostatnie badania dostarczają nowych informacji na temat wartości żywieniowych i dietetycznych tych przetworów. Oprócz stosunkowo dużych ilości błonnika pokarmowego oraz łatwo przyswajalnych białek i witamin ziarno żyta zawiera także kwasy fenolowe (np. ferulowy i kawowy) oraz fitoestrogeny (np. secoisolariciresinol - SECO, matairesinol - MAT) [4, 7, 11, 16]. Szczególnie cennymi, pod względem żywieniowym, składnikami błonnika pokarmowego są pentozały, fruktany i  $\beta$ -glukany, a zwłaszcza ich frakcje rozpuszczalne w wodzie, które mają właściwości

---

*Mgr inż. I. Jasińska, mgr inż. P. Kołodziejczyk, prof. dr hab. J. Michniewicz, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań*

prozdrowotne [13, 14, 20]. Ostatnio wykazano, że przyczyniają się one do obniżenia poziomu cholesterolu w surowicy krwi, a także wpływają na zmniejszenie ryzyka wystąpienia nowotworów przewodu pokarmowego oraz piersi [4, 10, 17, 18].

Kwasy fenolowe są związkami o charakterze przeciwutleniający [1, 15]. Fitoestrogeny natomiast stanowią roślinne prekursorzy lignanów zwierzęcych – enterodioli i enterolaktonu, związków wykazujących słabą aktywność estrogenową. Aktywność biologiczna fitoestrogenów obejmuje m.in. właściwości przeciwnowotworowe, antyoksydacyjne i antybakteryjne, a także zdolność obniżania poziomu cholesterolu w surowicy krwi [3, 7, 11].

Duża część tych cennych składników ziarna żyta zlokalizowana jest w zewnętrznych jego tkankach (warstwa aleuronowa, okrywa owocowo-nasienna i zarodek) i stąd w trakcie przemiału ziarna większość z nich jest eliminowana. Uznano więc za celowe podjęcie badań nad możliwością otrzymania mąki żytniej o podwyższonej zawartości składników prozdrowotnych występujących w ziarnie żyta.

### **Material i metody badań**

Do badań użyto międzyproduktów przemysłowego przemiału ziarna żyta otrzymanych z Przedsiębiorstwa Wielobranżowego "KOMPLEXMŁYN" w Wągrowcu.

Schemat przemiałowy ziarna żyta obejmował sześć pasaży śrutowych (I śr. - VI śr.) i cztery pasaży wymiałowe (1W - 4W). Analizom poddano także dwie żytnie mąki handlowe: typu 580 i 720 oraz mąkę z odsiewaczy kontrolnych (ODS). W badanych próbach oznaczano zawartość substancji mineralnych w postaci popiołu ogółem [9], białka ogółem i rozpuszczalnego w wodzie metodą Kjeldahla za pomocą zestawu Kjelttec System 1026 firmy Foss-Tecator. Przy przeliczaniu azotu ogólnego na białko zastosowano współczynnik 6,25 [19]. Zawartość pentozanów oznaczano metodą orcynową wg Hashimoto i wsp. [6], natomiast  $\beta$ -glukanów metodą enzymatyczną wg McCleary i Codda [12]. Wszystkie oznaczenia przeprowadzono co najmniej w 2 powtórzeniach.

Do oceny statystycznej otrzymanych wyników zastosowano analizę wariancji z klasyfikacją pojedynczą oraz test Duncana. Wnioskowanie statystyczne przeprowadzono na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  i  $\alpha = 0,01$ .

### **Wyniki i dyskusja**

Celem pierwszego etapu badań było wyodrębnienie spośród badanych prób tych frakcji mąki, które charakteryzują się podwyższoną zawartością pentozanów. W tab.1. przedstawiono wyniki oznaczeń zawartości substancji mineralnych, białka ogółem oraz pentozanów w badanych produktach przemiału ziarna żyta. Wykazano, że mąki pasażowe charakteryzowały się zróżnicowaną ich zawartością, przy czym największe różnice dotyczyły substancji mineralnych, a najmniejsze białka. Pośrednie różnice

Tabela 1

Zawartość białka ogółem, popiołu ogółem i pentozań w produktach przemiału ziarna żyta.  
Protein, ash and pentosan contents in rye seed milling products.

Rodzaj produktu Milling products		Białko ogółem [% s.m.] Total protein [% d.m.] N x 6,25		Popiół ogółem [% s.m.] Total ash [% d.m.]		Pentozań [% s.m.] Pentosans [% d.m.]	
Mąki śrutowe Break flours	I sr. 1m	5,0	b	0,42	a	4,04	bc
	I sr. 2m	4,5	a	0,42	a	3,75	bc
	II sr. 1m	7,1	d	0,67	e	4,46	cd
	II sr. kaszka	11,3	no	1,54	p	11,30	m
	III sr. 1m	8,4	ghi	0,93	i	4,72	d
	III sr. 2m	9,2	j	0,95	i	5,38	ef
	III sr. 3m	10,0	kl	0,94	i	5,17	e
	IV sr. 2m	9,8	kl	1,00	j	5,27	ef
	IV sr. 3m	8,9	ij	0,92	i	4,60	d
	V sr. 1m	10,9	mno	1,27	m	7,45	i
	V sr. 2m	11,9	p	1,46	o	8,61	j
	V sr. 3m	10,3	ł	1,14	l	6,50	g
	VI sr. 1m	8,1	fgh	0,94	i	3,25	a
VI sr. 2m	11,4	o	1,32	n	6,66	gh	
Mąki wymiałowe Reduction flours	1W 1m	6,0	c	0,51	c	4,50	cd
	1W 2m	6,0	c	0,50	bc	4,56	d
	1W 3m	7,9	efg	0,61	d	9,42	k
	2W 1m	7,5	de	0,59	d	7,30	i
	2W 2m	8,4	gh	0,66	e	8,62	j
	2W 3m	8,6	hi	0,80	g	9,61	kl
	3W 1m	8,2	gh	0,74	f	5,60	ef
	3W 2m	9,2	j	0,87	h	7,09	hi
	3W 3m	10,6	łm	1,03	jk	10,00	l
	4W 1m	9,7	k	1,03	jk	8,90	j
	4W 2m	10,2	klł	1,06	k	9,93	kl
	4W 3m	10,7	łm	1,18	ł	10,73	ł
	ODS	12,3	p	1,56	p	9,87	kl
Typ mąki Type of flour	580	5,3	b	0,47	b	4,39	cd
	720	7,6	def	0,74	f	5,67	f
F obl.		197,4		1440,5		275,8	
F kryt.		1,87		1,87		1,87	

wystąpiły w substancjach pentozanowych. Zawartość pentozanów we frakcjach pochodzących z końcowych pasaży wymiałowych (3W 3m i 4W 3m) była ponad 2,5-krotnie większa w porównaniu z mąkami otrzymanymi z pierwszego pasażu śrutowego oraz ponad 1,5 razy większa w porównaniu z mąkami z pierwszego pasażu wymiałowego. Ponadto frakcje te cechowały się także prawie 2-krotnie wyższą zawartością tych składników niż mąka handlowa typu 720. W Polsce ten typ mąki jest najszerszej stosowany do wyrobu pieczywa żytniego i mieszanego.

Na podstawie uzyskanych wyników do dalszych badań wybrano 10 spośród 27 mąk pasażowych, które charakteryzowały się najwyższą zawartością pentozanów. W przypadku frakcji pochodzących z pasaży śrutowych były to drugie mąki (2m), natomiast z pasaży wymiałowych - trzecie mąki (3m). Wyjątek stanowił I pasaż śrutowy, z którego pierwsza mąka (1m) zawierała nieznacznie więcej pentozanów (4,04% s.m.) niż druga mąka (2m) - 3,75% s.m. Różnica ta nie była jednak statystycznie istotna i dlatego do dalszych badań wzięto drugą mąkę. Analizom poddano także mąki handlowe typu 580 i 720, natomiast odrzucono mąkę z odsiewaczy kontrolnych ze względu na jej niską wartość technologiczną. W wytypowanych próbach oznaczono zawartość  $\beta$ -glukanów ogółem oraz białka rozpuszczalnego w wodzie (tab. 2). Analiza zawartości tych dwóch składników wykazała, że badane mąki pasażowe charakteryzowały się zróżnicowaną ich zawartością. Zawartość  $\beta$ -glukanów była najwyższa we frakcjach mąki z dwóch ostatnich pasaży wymiałowych (3W i 4W) - ponad 3,5-krotnie wyższa niż w mące z pierwszego pasażu śrutowego i ponad 2-krotnie wyższa w porównaniu z mąką handlową typu 720. Zawartość białka rozpuszczalnego w wodzie była natomiast najwyższa we frakcjach pochodzących zarówno z końcowych pasaży śrutowych (V śr. i VI śr.), jak i wymiałowych (3W i 4W) oraz w kaszce.

Przeprowadzone badania potwierdzają tezę o nierównomiernym rozmieszczeniu badanych składników w ziarnie żyta. Zewnętrzne części anatomiczne ziarna (okrywa owocowo-nasienna, warstwa aleuronowa oraz zewnętrzne tkanki bielma) zawierały zdecydowanie więcej substancji mineralnych niż tkanki pochodzące z głębiej położonych warstw bielma. Według danych literaturowych [4, 21], okrywa owocowo-nasienna wraz z warstwą komórek aleuronowych zawierają ponad 65% substancji mineralnych, wchodzących w skład całego ziarna żyta, podczas gdy bielmo ziarna zawiera około 25% tych substancji. Zawartość substancji mineralnych w badanych próbach zwiększała się w mąkach otrzymanych z kolejnych pasaży śrutowych (od 0,42 do 1,32% s.m.) i wymiałowych (od 0,51 do 1,18% s.m.). Wyższej zawartości substancji mineralnych w badanych produktach przemiału towarzyszyła wyższa zawartość białka oraz składników błonnika pokarmowego: pentozanów i  $\beta$ -glukanów. Ich ilość rosła w miarę zwiększania udziału zewnętrznych tkanek ziarna w poszczególnych frakcjach. Wskazują na to wysokie wartości współczynników korelacji liniowej między zawartością badanych składników chemicznych (tab. 3).



Tabela 2

Zawartość białka rozpuszczalnego w wodzie i  $\beta$ -glukanów w wybranych produktach przemiału ziarna żyta.

Water soluble protein and  $\beta$ -glucans contents in rye seed milling products.

Rodzaj produktu Milling products		Białko rozpuszczalne [% s.m.] Water soluble protein [% d.m.] N x,25		$\beta$ -glukany [% s.m.] $\beta$ -glucans [% d.m.]	
Mąki śrutowe Break flour	I sr. 2m	1,63	a	0,55	a
	II sr.kaszka	3,72	f	1,87	f
	III sr. 2m	2,90	d	0,86	c
	IV sr. 2m	3,14	e	0,93	c
	V sr. 2m	3,79	f	1,67	e
	VI sr. 2m	3,75	f	1,19	d
Mąki wymiiałowe Reduction flour	1W 3m	2,78	cd	1,72	e
	2W 3m	2,69	c	1,28	d
	3W 3m	3,73	f	2,06	g
	4W 3m	3,85	f	1,99	g
Typ mąki Type of flour	580	1,78	a	0,68	b
	720	2,31	b	0,93	c
F obl.		268,8		260,1	
F kryt.		2,72		2,72	

Uzyskane wyniki (tab. 1 i 2) potwierdzają informacje literaturowe, że największa ilość składników błonnika pokarmowego występuje w okrywie owocowo-nasiennej i warstwie komórek aleuronowych, natomiast najmniejsza w wewnętrznych tkankach bielma. Są one głównie składnikami ścian komórkowych [2, 4, 5, 8, 13, 14, 20].

Na podstawie uzyskanych wyników wyodrębniono 5 produktów przemiału ziarna żyta: kaszka z II pasażu śrutowego, druga mąka z V pasażu śrutowego oraz trzecie mąki z 1, 3 oraz 4 pasażu wymiiałowego, charakteryzujących się szczególnie wysoką koncentracją składników błonnika pokarmowego: pentozanów i  $\beta$ -glukanów do dalszych badań pod względem zawartości innych składników prozdrowotnych, m.in. fitoestrogenów i kwasów fenolowych. Z badań przeprowadzonych przez Nilssona i wsp. [16] wynika bowiem, że występuje istotna korelacja między zawartością błonnika pokarmowego a zawartością składników bioaktywnych – fitoestrogenów w ziarnie żyta (rys. 1). Istnieje zatem duże prawdopodobieństwo, że wytypowane frakcje będą charakteryzowały się również wysoką zawartością tych składników.

Tabela 3

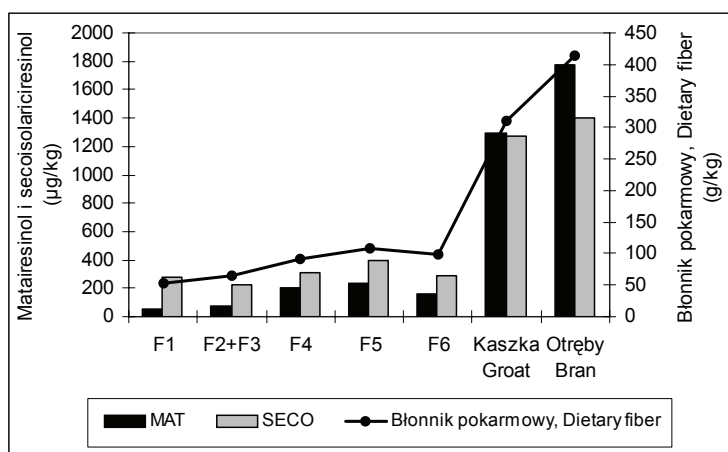
Wartości współczynników korelacji między zawartością analizowanych składników w badanych produktach przemiału ziarna żyta.

Coefficients of correlation between analyzed components of rye seed milling products.

Składniki Components	Popiół ogółem Total ash	Białko Protein	Pentozany Pentosans	β-glukany β-glucans	Białko rozpuszczalne Soluble protein
Popiół ogółem Total ash	x	-	-	-	-
Białko ogółem Total protein	0,944**	x	-	-	-
Pentozany Pentosans	0,578**	0,649**	x	-	-
β-glukany β-glucans	0,608*	0,703*	0,946**	x	-
Białko rozpuszczalne Soluble protein	0,910**	0,977**	0,713**	0,794**	x

\* Obliczone wartości współczynników korelacji są istotne przy  $\alpha = 0,05$  / calculated values of coefficients of correlation are significant at  $\alpha = 0,05$

\*\* Obliczone wartości współczynników korelacji są istotne przy  $\alpha = 0,01$  / calculated values of coefficients of correlation are significant at  $\alpha = 0,01$



Rys. 1. Zawartość fitoestrogenów i błonnika pokarmowego w żytniej mące (F1-F6), kaszce i otrębach.

Fig 1. Phytoestrogens and dietary fiber content of rye flours (F1-F6), groat and bran.

Źródło: / Source: [16].

## Wnioski

1. Mąki pasażowe z przemysłowego przemiału ziarna żyta charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością składników mineralnych, białka oraz składników błonnika pokarmowego: pentozanów i  $\beta$ -glukanów.
2. Frakcje mąki pochodzące z końcowych pasaży śrutowych i wymiławowych zawierały znacznie większe ilości pentozanów i  $\beta$ -glukanów w porównaniu z mąkami otrzymanymi w początkowych etapach przemiału. Charakteryzowały się one także znacznie wyższą zawartością tych składników niż mąka handlowa.
3. Zawartość wszystkich analizowanych składników w produktach przemiału ziarna żyta była istotnie wzajemnie skorelowana.

*Mgr inż. I. Jasińska jest stypendystką w ramach Działania 2.6 Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego finansowanego z Europejskiego Funduszu Społecznego Unii Europejskiej i z budżetu państwa.*

*Praca była finansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Informatyzacji w ramach projektu 2 P06T 015 2.*

## Literatura

- [1] Andreasen M.F., Kroon P.A., Williamson G., Garcia-Koneska M.T.: Intestinal release and uptake of phenolic antioxidant diferulic acids. *Free Radic. Biol. Med.* 2001, **3**, 304-314.
- [2] Bengtsson S., Andersson R., Westerlund E., Aman P.: Content, structure and viscosity of soluble arabinoxylans in rye grain from several countries. *J. Sci. Food Agric.*, 1992, **58**, **3**, 331-337.
- [3] Duncan A.M., Phipps W.R., Kurzer M.S.: Phyto-estrogens. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2003, **17**, 253-271,
- [4] Gašiorowski H. (red): *Żyto: chemia i technologia*. PWRiL. Poznań 1994.
- [5] Härkönen H., Pessa E., Suortti T., Poutanen K.: Distribution and some properties of cell wall polysaccharides in rye milling fractions. *J. Cereal Sci.*, 1997, **26**, 95-104.
- [6] Hashimoto S., Shogren M.D., Pomeranz Y.: Cereal pentosans: their estimation and significance. I. Pentosans in wheat and milled wheat products. *Cereal Chem.*, 1987, **64**, 30-34.
- [7] Heinonen S., Nurmi T., Liukkonen K., Poutanen K., Wahala K., Deyama T., Nishibe S., Adlercreutz H.: *In vitro* metabolism of plant lignans: New precursors of mammalian lignans enterolactone and enterodiol. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 3178-3186.
- [8] Henry R.J.: Pentosan and (1-3),(1-4)-beta-glucan concentrations in endosperm and whole grain of wheat, barley, oats and rye. *J. Cereal Sci.*, 1987, **6**, 253-258.
- [9] ICC-Standard Nr. 104 Aschebestimmung. Standard - Methoden für Getreide, Mehl und Brot, Detmold, Verl. Moritz Schäfer, 1971, pp. 46-48.
- [10] Leinonen K.S., Poutanen K.S., Mykkanen H.M.: Rye bread decreases serum total and LDL cholesterol in men with moderately elevated serum cholesterol. *J. Nutr.*, 2000, **130**, 164-170.
- [11] Mazur W., Adlercreutz H.: Overview of naturally occurring endocrine-active substances in the human diet in relation to human health. *Nutrition*, 2000, **16**, 654-687.
- [12] McCleary B.V., Codd R.: Measurement of (1-3)(1-4)- $\beta$ -D-glucan in barley and oats: a streamlined enzymic procedure. *J. Sci. Food Agric.*, 1991, **55**, 303-312.

- [13] Michniewicz J., Gąsiorowski H.: Beta-glukany zbożowe i ich rola w przemyśle i żywieniu człowieka. Post. Nauk Roln., 1994, **1**, (247), 41-49.
- [14] Michniewicz J.: Pentozany w technologii zbóż. Roczn. AR w Poznaniu, z. 261, Wyd. AR, Poznań 1995.
- [15] Miller H. E., Rigelhof F., Marquart L., Prakash A., Kanter M.: Whole-grain products and antioxidants. Cereal Foods World, 2000, **2**, (45), 59-63.
- [16] Nilsson M., Aman P., Harkonen H., Hallmans G., Knudsen K.E.B., Mazur W., Adlercreutz H.: Content of nutrients and lignans in roller milled fractions of rye. J. Sci. Food Agric., 1997, **73**, 143-148.
- [17] Pietinen P., Stumpf K., Mannisto S., Kataja V., Uusitupa M., Adlercreutz H.: Serum enterolactone and risk of breast cancer. Cancer Epidem. Biomark. Prevent., 2001, **10**, 339-344.
- [18] Slavin J. L., Jacobs D., Marquart L., Wiemer K.: The role of whole grains in disease prevention. J. Amer. Dietet. Assoc., 2001, **7**, (101), 780-785.
- [19] Standard – Methoden für Getreide, Mehl und Brot. 5. Aufl., Verl. Moritz Schäfer, Detmold, 1971, 138.
- [20] Vinkx C.J.A., Delcour J.A.: Rye (*Secale cereale* L.) arabinoxylans: a critical review. J. Cereal Sci., 1996, **24**, 1-14.
- [21] Weipert D.: Mahlverhalten von Roggen und Trockenseparierung starke – und quellstoffreicher Mahlprodukte als Ausgangsrohstoffe. Die Muhle 1998, **135**, 209-213.

#### RYE SEED AS A POTENTIAL SOURCE OF PRO-HEALTH COMPOUNDS IN DIET

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

Rye seed contains several chemical components, which could have exerted positive effect on nutrition. It is a rich source of easy digestible proteins, vitamins and dietary fiber. It contains also phenolic acids (e.g. ferulic acid, hydroxycinnamic acid) and phytoestrogens (e.g. secoisolariciresinol, matairesinol). Most of these components are located in outer layers of kernel and in germ, which cause that they are removed during milling process. In this paper pentosans,  $\beta$ -glucans as well as ash, protein and water-soluble protein contents in passage milling flours were determined. The results showed that passage rye flours have a variable content of pentosans and  $\beta$ -glucans. Flours obtained from final break and reducing passages of milling process contained considerably higher amount of pentosans and  $\beta$ -glucans than the flours obtained from initial stages of milling process. These results led us to select five rye milling products which have especially high concentration components of dietary fiber, which might be a valuable, raw material to production functional food.

**Key words:** rye, pentosans,  $\beta$ -glucans, dietary fiber ☒

STANISŁAW KALISZ, MICHAŁ WOLNIAK

## ZMIANY ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH PODCZAS PRZECHOWYWANIA SOKÓW MALINOWYCH

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian zawartości antocyjanów i polifenoli ogółem oraz aktywności przeciwutleniającej soków malinowych bez dodatków i z dodatkiem preparatu pektyn niskometylowanych, przechowywanych w temp. 4°C.

Zawartość antocyjanów w sokach bezpośrednio po wytworzeniu wynosiła 97,34 mg/100 ml w soku bez pektyny i 93,5 mg/100 ml w soku z dodatkiem pektyny. Dominującym monomerem był pelargonidyno-3-soforozyd, który stanowił 72% składu antocyjanowego. Po 3 miesiącach przechowywania soki bez dodatku pektyny zawierały o 23% mniej antocyjanów niż próbki wyjściowe, natomiast w sokach z pektyną wartość ta zmalała o 16%. W trakcie przechowywania stwierdzono także zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem, co skutkowało obniżeniem pojemności przeciwutleniającej. W sokach bez dodatku pektyny pojemność przeciwutleniająca zmalała o 18%, a w próbkach z dodatkiem pektyny o 6%.

**Słowa kluczowe:** maliny, sok, polifenole, antocyjany, rodniki, pojemność przeciwutleniająca, EPR

### Wprowadzenie

Zmiany w wyglądzie produktów przetworzonych wpływają na akceptację konsumentką, ale przede wszystkim są wskaźnikiem przemian chemicznych, które prowadzą do obniżenia wartości sensorycznej i odżywczej. Dodatkowo poszczególne związki mogą wykazywać zróżnicowaną dostępność biologiczną, co wiąże się z różnym ich metabolizmem [3]. Jednak niekorzystne zmiany w żywności mogą być ograniczone przez prawidłowe prowadzenie procesów przetwórczych, a szczególnie właściwy dobór warunków przechowywania i obrotu [9].

Podczas obróbki technologicznej mogą być wprowadzane odpowiednie dodatki, które z jednej strony ograniczą degradację substancji labilnych, a z drugiej wzbogacą produkt w nowe pożądane składniki. Pomędzy poszczególnymi składnikami może

---

*Dr inż. S. Kalisz, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Wydz. Technologii Żywności, SGGW, ul. Nowoursynowska 159C, 02-787 Warszawa, mgr M. Wolniak, Zakład Chemii Fizycznej, Wydz. Farmaceutyczny, Akademia Medyczna, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa*

dochodzić do wzajemnych interakcji, co np. przy obecności antocyjanów może prowadzić do powstawania stabilniejszych i trwalszych kopigmentów. Poszukuje się więc sposobów, które pozwoliłyby na stabilizację pożądaných składników bez zmniejszania ich dostępności biologicznej. Stałość prozdrowotnych składników żywności uważa się bowiem za jeden z warunków rozwoju żywności funkcjonalnej [2, 6].

Ze względów technologicznych wiele substancji (np. pektyny) jest usuwanych na wczesnych etapach przetwarzania, chociaż ze względów żywieniowych niosą one konkretne korzyści. Celowe zatem jest sprawdzenie ich wpływu na wybrane właściwości produktu (po ponownym ich wprowadzaniu), gdy nie będą już obniżać efektywności procesu przetwórczego. Poszczególne składniki żywności wchodzą bowiem ze sobą w interakcje, co dopiero ostatecznie kształtuje ich właściwości przeciwutleniające [6, 8]. Należy pamiętać, że zależnie od rodzaju surowca poszczególne grupy związków mogą w różnym stopniu odpowiadać za aktywność przeciwutleniającą. Na przykład, szacuje się, że witamina C w malinach wpływa w 15% na tę cechę, w truskawkach w 40%, zaś w czarnej porzeczce w ponad 50% [15]. W przypadku malin rozpatrywane w tym kontekście biologiczne właściwości w dużej mierze przypisuje się innym związkom, do których zalicza się m.in. kwas elagowy i jego pochodne. Właściwości przeciwutleniające owoców i wytwarzanych z nich przetworów wiążą się bowiem ściśle z ich składem i reaktywnością chemiczną [3, 9, 16].

Celem pracy było określenie wpływu wzbogacania soków malinowych preparatem pektynowym na zachowalność polifenoli w tym antocyjanów oraz właściwości przeciwutleniające w trakcie 3-miesięcznego przechowywania w temp. 4°C.

### **Material i metody badań**

Material badawczy stanowiły, przygotowane w skali laboratoryjnej, soki z malin mrożonych, przechowywanych 6 miesięcy w temp. -18°C. Owoce depektynizowano przez 2 godz. w temp. 50°C z dodatkiem enzymu Rohapect 10L (AB Enzymes Poland) w dawce 100 mg/kg owoców. Enzymy inaktywowano, doprowadzając całość do wrzenia i szybko schładzano do temp 20°C. Miazgę tłoczono w laboratoryjnej prasie warstwowej, a otrzymany sok filtrowano z dodatkiem ziemi krzemkowej Becogur 100 w dawce 5 g/kg. Z soku przygotowano próbki w wariantach: bez dodatku oraz z dodatkiem preparatu pektyny niskometylowanej NECJ A3 w dawce 0,1%. Sok rozlewano do słoiczków o poj. 80 ml i pasteryzowano 10 min w temp. 95°C. Po obróbce termicznej produkt schładzano, a następnie przechowywano 3 miesiące w temp. 4°C. Soki pobierano do badań co 30 dni, a analizy przeprowadzano w 3 powtórzeniach.

Zawartość antocyjanów oznaczano metodą HPLC z użyciem zestawu firmy Shimadzu, złożonego z detektora UV-VIS SPD-10A VP, pompy LC-10AT VP, pieca CTO-10AS VP, degazera DEGASEX™ model DG-400 (Phenomenex), współpracującego z programem do zbierania danych Chromax 2003. Rozdział prowadzono z uży-

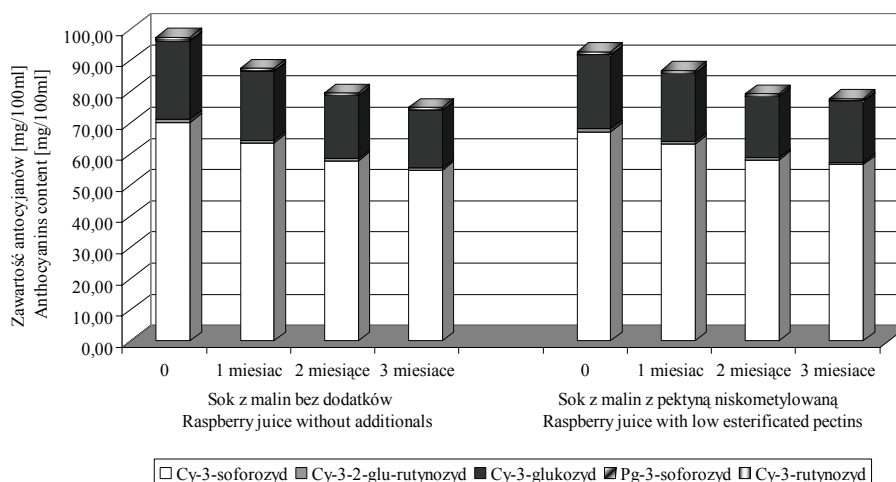
ciem kolumny Luna 5  $\mu\text{m}$  C18(2) 250 x 4,6 mm (Phenomenex) w 25°C. Jako eluent używano 4,5% kwas mrówkowy (odczynnik A) i 80% roztwór acetonitrylu w 4,5% kwasie mrówkowym (odczynnik B), przy przepływie 1 ml/min. Analizę prowadzono w układzie gradientowym, rozpoczynając od 100% stężenia odczynnika A, zmniejszając jego udział do 85% w 8 min, do 60% w 16 min i 0% w 17 min, w 19 min osiągnano ponownie 100% eluentu A, utrzymując ten stan do 25 min. Rejestrację antocyjanów prowadzono przy  $\lambda=520$  nm. Związki identyfikowano na podstawie widm i czasów retencji porównywanych z wzorcami. Zawartość antocyjanów wyrażano w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd. Przed nastrzykiem próbki oczyszczano na minikolumnach Sep-Pak C18 firmy Waters. W tym celu 2 g próbki soku przenoszono do kolbki o poj. 10 ml i uzupełniano 0,1%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , a następnie наносzono na Sep-Pak. Po odrzuceniu pierwszych 5 ml resztę zbierano do oznaczania witaminy C. Następnie wprowadzano 5 ml 0,1%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , celem wymycia związków nieabsorbujących się na złożu. Pozostałą na minikolumnie frakcję wmywano 75% metanolem zakwaszonym przy użyciu HCl w ilości 1 ml/l i zbierano ją do oznaczenia antocyjanów. Zawartość witaminy C oznaczano metodą HPLC na identycznym zestawie w tych samych warunkach detekcji przy 254 nm, a jako eluent stosowano 0,1%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Polifenole ogółem oznaczano metodą Folina-Ciocalteu'a. Wynik końcowy wyrażano w przeliczeniu na kwas galusowy.

Właściwości przeciwutleniające soków badano metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR), z użyciem trwałego rodnika 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu (DPPH). Pomiary wykonywano spektrometrem firmy Bruker ELEXSYS E 500 pracującym metodą fali ciągłej. Do badań używano komory rezonansowej SHQE - Super High Q cavity. Rejestracji widm dokonywano przy następujących parametrach: Q (stosunek  $v_{\text{rez}}$  do  $\Delta v$ ) = 7000, częstotliwość rezonansowa – 9,41 GHz, moc – 20 mW, indukcja magnetyczna B – 3368 G, szerokość przemiatania – 200 G, czas przemiatania – 41,17 s, częstotliwość modulacji – 100 kHz, amplituda modulacji – 3 G, czułość odbiornika – 62 dB. Sygnał wzorca stanowił roztwór DPPH w metanolu o stężeniu 1,824 mmol/l. Do 5 ml wzorca dodawano po 50  $\mu\text{l}$  soku, intensywnie wstrząsano i szczelnie zamknięte próbki pozostawiano w zaciemnionym miejscu. Po zakończeniu reakcji mierzono intensywność integralną sygnału DPPH, która jest wprost proporcjonalna do stężenia rodnika w próbce. Czas reakcji badanych próbek z rodnikiem DPPH nie przekraczał 50 min, dlatego rejestrację widma rodnika w celu ustalenia zmian jego stężenia wykonano po 60 min. Intensywność integralną sygnału obliczano, korzystając z programów do obróbki widm EPR (Bruker) dostarczonych ze spektrometrem. Na podstawie uzyskanych wyników, stosując metodę najmniejszych kwadratów, ilość zmiecionego DPPH przeliczano na równoważniki Troloxu [mmole/100 ml].

Współczynniki korelacji pomiędzy zawartością antocyjanów oraz polifenoli a pojemnością przeciwutleniającą wyznaczano metodą najmniejszych kwadratów, korzystając z narzędzi zaimplementowanych w programie Microsoft Excel.

## Wyniki i dyskusja

Analiza, otrzymanych soków malinowych, z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC pozwoliła na ilościowe i jakościowe określenie składu antocyjanów. Bezpośrednio po otrzymaniu soków zawartość antocyjanów wynosiła 97,34 mg/100 ml w badanych próbkach kontrolnych oraz 93,50 mg/100 ml w soku z dodatkiem preparatu pektyny niskometylowanej [rys. 1]. Po 3-miesięcznym przechowywaniu soków w warunkach chłodniczych w temp. 4°C większą zachowalnością barwników antocyjanowych odznaczały się próbki z dodatkiem preparatu pektynowego. W próbkach tych pozostało blisko 84% początkowej zawartości antocyjanów, zaś w próbkach kontrolnych około 77%. Tempo tych zmian odzwierciedla półokres rozpadu antocyjanów, który w próbkach z pektyną wyniósł 381 dni, natomiast w kontrolnych 266 dni. Na podstawie dotychczasowych danych można przepuszczać, że stabilizujący wpływ pektyny niskometylowanej na antocyjany wiąże się między innymi z międzycząsteczkowymi interakcjami pomiędzy tymi związkami, jak również z łączeniem cząsteczek antocyjanów z powstałą strukturą. Mechanizm ten nie został dotychczas wyjaśniony i wymaga dalszych badań [4, 6].



Rys. 1. Zmiany zawartości antocyjanów w sokach malinowych w trakcie ich przechowywania.

Fig. 1. Changes of anthocyanins contents in raspberry juices during storage.

W składzie antocyjanowym analizowanych soków malinowych dominował cyjanidyno-3-soforozyd, który stanowił 72% ogólnej ilości tych związków. Cyjanidyno-3-glukozyd stanowił 25% wszystkich monomerów, cyjanidyno-3-(2-glukozylo)-rutynozyd i cyjanidyno-3-rutynozyd stanowiły po około 1%, a pelargonidyno-3-soforozyd, 0,2%. Po 3-miesięcznym przechowywaniu w warunkach chłodniczych naj-



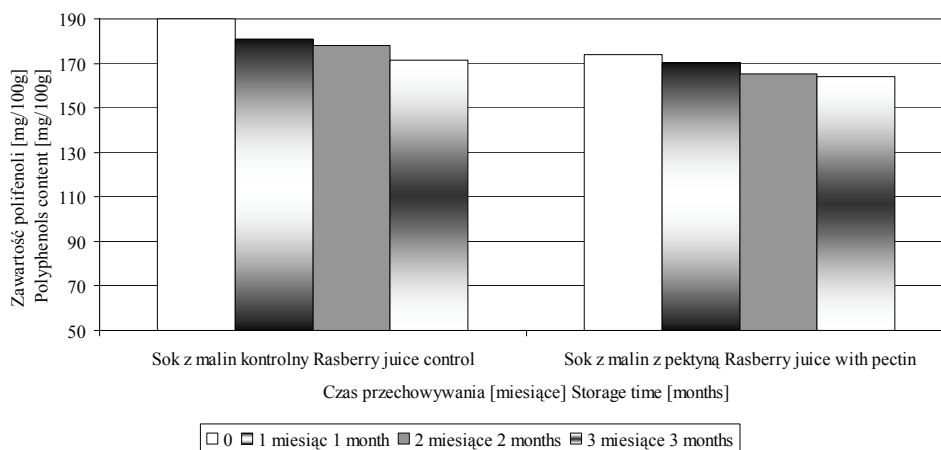
wyższą stabilność wykazały cyjanidyno-3-soforozyd i cyjanidyno-3-rutynozyd. Cyjanidyno-3-rutynozyd występował co prawda w stosunkowo małym stężeniu, jednak jego wysoka stabilność została wykazana w badaniach Iversena i Rubinskiego [7, 12]. Należy podkreślić, że utrzymanie wysokiej zachowalności barwników antocyjanowych w przetworach z owoców kolorowych jest istotne zarówno z uwagi na atrakcyjność sensoryczną, jak i właściwości prozdrowotne antocyjanów oraz ich aktywność przeciwutleniającą. Jak podaje Stewart [15] w przypadku malin antocyjany odpowiadają za około 20% ich właściwości przeciwutleniających.

Zarówno stabilność antocyjanów, jak i właściwości przeciwutleniające wiążą się z obecnością i stężeniem innych aktywnych związków, co było powodem oznaczenia w soku także zawartości witaminy C. Niestety w analizowanych sokach witamina C zachowała się na stosunkowo niskim poziomie. Świadczy to o dużej degradacji witaminy C na etapie przygotowania soków. Próbkki kontrolne zawierały witaminę C jedynie w ilości 5,1 mg/100 ml, a z dodatkiem pektyny 3,9 mg/100 ml. Należy także uwzględnić fakt, że soki wyprodukowano z maliny składowanej 6 miesięcy w warunkach zamrażalniczych. Powszechnie wiadomo, że witamina C jest wrażliwa na warunki przechowywania oraz przetwarzania i jest najbardziej labilna spośród wszystkich przeciwutleniaczy. Jej degradację mogą przyspieszać enzymy własne surowca, temperatura oraz natlenienie, co może zachodzić podczas maceracji miazgi [1, 9]. Po miesiącu przechowywania w próbkach kontrolnych i wzbogacanych pektyną pozostało odpowiednio 32% oraz 31% zawartości początkowej tego składnika. Po kolejnym miesiącu składowania w badanych próbkach stwierdzono jedynie śladowe ilości witaminy C. Należy wspomnieć, że przy niższych stężeniach witaminy C może wykazywać nawet pewne działanie ochronne na te barwniki, zaś przy wysokich działa prooksydacyjnie na antocyjany [6, 13, 14].

Badania soków na zawartość polifenoli ogółem w próbkach kontrolnych (rys. 2) wykazały 189,9 mg/100ml tych związków, a w próbkach z pektyną 173,8 mg/100 ml. Zmienność wyjściowej zawartości związków polifenolowych wynika między innymi z różnicy ich ilości w obrębie surowca, ponieważ każdą partię soku otrzymywano odrębnie. Należy dodać, że różnice zawartości związków polifenolowych zależą także od stopnia dojrzałości, odmiany oraz warunków przechowywania surowca [1, 9].

W trakcie przechowywania obserwowano tendencję spadkową zawartości polifenoli. Po 3 miesiącach przechowywania w próbkach kontrolnych pozostało 90% początkowej ilości badanych związków, zaś we wzbogacanych pektyną 95%. Stosunkowo małe zmiany ilości związków polifenolowych przy jednoczesnych dużych różnicach pojemności przeciwutleniającej wymagają zastosowania bardziej selektywnych metod oznaczania polifenoli. Stosowany odczynnik Folina-Ciocalteu'a może wykazywać reaktywność także w stosunku do innych substancji występujących w badanym układzie. Powoduje to, że równocześnie mogą być oznaczane zarówno polifenole spo-

limeryzowane, jak i inne niefenolowe metabolity, co w następstwie nie daje dokładnego obrazu zmian [3, 10]. Ma to szczególne znaczenie w przypadku układów zawierających barwniki antocyjanowe, które w czasie przechowywania mogą polimeryzować i tworzyć wysokocząsteczkowe układy wytrącające się z roztworu [2].



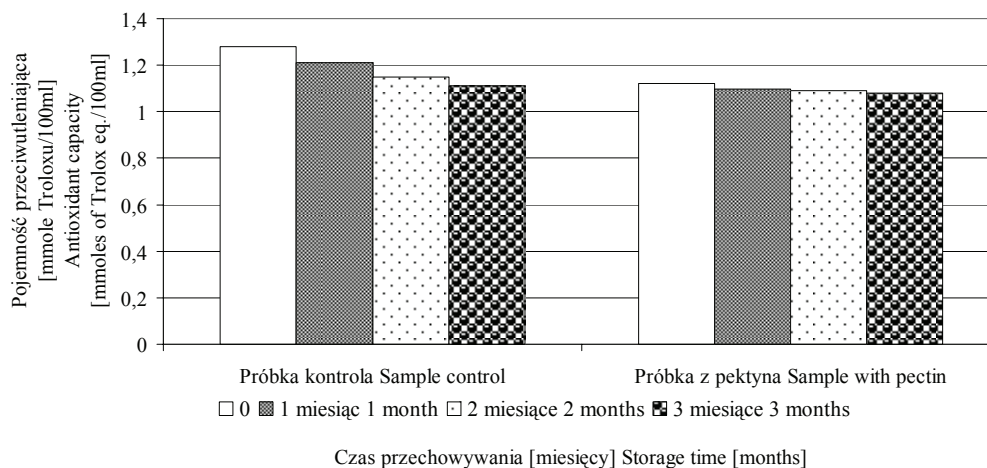
Rys. 2. Zmiany zawartości polifenoli ogółem w sokach malinowych w trakcie przechowywania.

Fig. 2. Changes in contents of polyphenols in raspberry juices during storage.

Polimeryzacja może w znacznym stopniu zafałszować pomiary zdolności przeciwutleniającej, co, w połączeniu z absorbancją antocyjanów w podobnym zakresie jak DPPH, może być źródłem poważnych błędów [11]. Właściwości prozdrowotne soków determinowane są zawartością polifenoli, których aktywność określa się poprzez pomiar ilości zmiecionego DPPH. Dlatego każda próbka analizowana była pod względem zdolności zmiatania wolnych rodników (rys. 3).

Największe procentowe zmiany pojemności przeciwutleniającej występowały w próbce kontrolnej bez dodatków, a po 3 miesiącach przechowywania pozostało 82% pierwotnej jej wartości. W próbkach z dodatkiem pektyny pojemność przeciwutleniająca zmieniała się w mniejszym stopniu. Po trzech miesiącach przechowywania stanowiła ona 94% wartości próbki kontrolnej, co świadczy o potencjalnej zasadności dodawania tych substancji do przetwarzanych produktów spożywczych.

Istotne wydawało się także skorelowanie zawartości antocyjanów oraz polifenoli z pojemnością przeciwutleniającą. Współczynniki korelacji wyniosły odpowiednio  $r = 0,5936$  i  $r = 0,9014$ , co potwierdza wcześniejsze spostrzeżenia, że antocyjany odpowiadają w znacznie mniejszym stopniu za pojemność przeciwutleniającą przetworów z malin niż pozostałe (często jeszcze nie oznaczone) polifenole. Dlatego konieczne są dalsze badania celem oszacowania oddziaływań pomiędzy składnikami soków oraz wpływu tych efektów na całkowitą pojemność przeciwutleniającą.



Rys. 3. Zmiany pojemności przeciwutleniającej w przechowywanych sokach malinowych.  
Fig. 3. Changes in antioxidant capacity in stored raspberry juices.

### Wnioski

1. Wykazano, że 0,1% dodatek preparatów pektyn niskometylowanych do soków malinowych spowalnia tempo rozkładu barwników antocyjanowych.
2. Dodatek pektyn niskometylowanych do soków malinowych powoduje spowolnienie przemian związków polifenolowych, a tym samym wpływa na mniejsze zmiany całkowitej pojemności przeciwutleniającej.
3. Pomiędzy zawartością frakcji antocyjanowej oraz polifenolowej a pojemnością przeciwutleniającą soków malinowych zachodzi dodatnia korelacja o współczynnikach korelacji, odpowiednio,  $r = 0,5936$  i  $r = 0,9014$ .

### Literatura

- [1] Ancos B., Gonzalez E., Cano M. P.: Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition. *Z. Lebensm. Unters Forsch. A*, 1999, **208**, 33 - 38.
- [2] Baranac J. M., Petranović N. A., Dimitrić-Marković J. M.: Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 1333 -1336.
- [3] Bermúdez-Soto M. J., Tomás-Barberán F. A.: Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices *Eur. Food Res Technol*, 2004, **219**, 133 - 141.
- [4] Dervisi P., Lamb J., Zabetakis I.: High pressure processing in jam manufacture: effects on textural and colour properties. *Food Chem.*, 2001, **73**, 85 - 91.
- [5] Fuleki T., Francis F.J.: Quantitative methods for anthocyanins. *J. Food Sci.*, 1968, **33**, 72.
- [6] Heins A., Stöckmann H., Schwarz K.: Designing „anthocyanin-tailored” food composition. In: *Biologically-active phytochemicals in food: Analysis, bioavailability and function*. Royal Soc. Chem., 2001, pp. 281 - 377.

- [7] Iversen C. K.: Black currant nectars: Effect on processing and storage on anthocyanins and ascorbic acid content. *J. Food Sci.*, 1999, **64**, 1, 37 - 41.
- [8] Murakami M., Yamaguchi T., Takamura H., Matoba T.: Effects of ascorbic acid and  $\alpha$ -tocopherol on antioxidant activity of polyphenolic compounds. *Food Chem. Toxicol.*, 2003, **68**, 5, 1622 - 1625.
- [9] Kalt W.: Effect of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *J. Food Sci.*, 2005, **70**, 1, R11 - R19.
- [10] Kähkönen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J., Pihlaja K., Kujala T. S., Heinonen M.: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds., *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 10, 3954 -3962.
- [11] Oszmiański J., Wolniak M., Wojdyło A., Wawer I.: Comparative study of polyphenolic content and antiradical activity of cloudy and clear apple juices. *J. Sci. Food Agric.* (przyjęto do druku).
- [12] Rubinskiene M., Viskelis P., Jasutiene I., Viskeliene B., Bobinas C.: Impact of various factors on the composition and stability of black currant anthocyanins. *Food Res. Int.*, 2005, **38**, 867 - 871.
- [13] Sarma A. D., Sreelakshimi Y., Sharma R. Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxydation. *Phytochemistry*, 1997, **45**, 671 - 674.
- [14] Stasiak A., Pawlak M., Sosnowska D., Wilska-Jeszka J.: Szybkość degradacji barwników antocyjanowych i kwasu askorbinowego w roztworach o różnym stężeniu sacharozy. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1991, **12**, 21 - 24.
- [15] 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.
- [16] Wilska-Jeszka J., Podsedek A.: Bioflawonoidy jako naturalne antyoksydanty. *Wiad. Chem.*, 2001, **55**, 11-12, 987 - 1003.

#### CHANGES OF PHENOLICS COMPOUNDS DURING THE STORAGE OF RASPBERRY JUICES

##### Summary

The objective of this study was to present changes in the level of anthocyanins, polyphenols and antioxidant activity in raspberry juices without and with pectin during their storage at 4°C. The anthocyanin content in fresh juices without and with pectin was 97,34 mg/100 ml and 93,5 mg/100 ml respectively. The pelargonidyno-3-soforozyd was the main monomer (72% of all anthocyanin composition). After 3 months storage at 4°C anthocyanin content in juices without and with pectin decrease to 23% and 16%, respectively. It was shown that content of polyphenols and antioxidant activity was reduced during storage. However unprofitable changes were smaller in juices with pectin.

During storage the decrease in polyphenol content was observed, what resulted in lowering the antioxidant capacity. In case of juice without pectin the decrease reached 18% of initial value, while with the addition of pectin it was only 6%.

**Key words:** raspberries, juice, anthocyanins, polyphenols, antioxidant activity, EPR, free radicals ☒

ANNA KAMIŃSKA, PIOTR P. LEWICKI

## WPLYW WSTĘPNEJ OBRÓBKİ OSMOTYCZNEJ NA PRZEBIEG PROCESÓW ZAMRAŻANIA I ROZMRAŻANIA JABŁEK

### Streszczenie

Praca miała na celu określenie, w jaki sposób wysycenie jabłek substancją osmotyczną wpływa na przebieg procesów ich zamrażania i rozmrażania. Materiałem badawczym były jabłka odwodnione osmotycznie (3h w 30°C oraz 1 h w 70°C), zamrożone i przechowywane przez miesiąc w temp. -35°C, a następnie rozmrożone.

Stwierdzono, że obróbka osmotyczna wpłynęła na skrócenie czasu zamrażania jabłek – najkrócej zamrażały się próbki odwadniane 1 h w temp. 70°C. Obróbka osmotyczna spowodowała również obniżenie temperatury krioskopowej. W przypadku obu badanych wariantów odwadniania czas rozmrażania próbek wydłużył się w stosunku do czasu ich zamrażania, a temperatura przemiany fazowej była wyższa niż w procesie zamrażania.

**Słowa kluczowe:** jabłka, odwadnianie osmotyczne, zamrażanie, rozmrażanie

### Wprowadzenie

Poszerzanie rynku produktów spożywczych o nowe wyroby związane jest z rozwojem badań nad skutecznością metod utrwalania. Pozytywne efekty może uzyskać przez połączenie odwadniania osmotycznego z zamrażaniem. Metoda ta zwana „dehydrofreezing” (D-F), polega na wstępnym usunięciu wody do utraty ok. 50% masy przez odwadniany materiał, a następnie na jego zamrożeniu. W efekcie można uzyskać produkt zamrożony o zredukowanej zawartości wody, zredukowanej masie i objętości oraz korzystnym wyglądzie po rozmrożeniu [3]. Metoda D-F ma również korzystny aspekt ekonomiczny. Półprodukt o zmniejszonej zawartości wody zamraża się krócej, a koszty opakowań i transportu są znacznie niższe niż przy tradycyjnych metodach produkcji mrożonek.

---

*Dr inż. A. Kamińska, prof. dr hab. P.P. Lewicki, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

Celem pracy było określenie wpływu obróbki osmotycznej i związanego z tym wysycenia jabłek substancją osmotyczną (sacharozą), na przebieg procesu zamrażania i rozmrażania.

### **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły jabłka odmiany Idared. Z jabłek wykrawano kostki o wymiarach 40 x 40 x 20 mm. Kostki odwadniano w roztworze sacharozy, a następnie zamrażano i przechowywano 1 miesiąc w temp.  $-35^{\circ}\text{C}$ , a następnie rozmrażano w warunkach konwekcji naturalnej w temp. pokojowej ( $20^{\circ}\text{C}$ ).

Owadnianie osmotyczne jabłek prowadzono w roztworze sacharozy o stężeniu 61,5%, w temp.  $30^{\circ}\text{C}$  przez 3 h oraz w temp.  $70^{\circ}\text{C}$  przez 1 h. Kostki jabłka zanurzano w roztworze na głębokość 18 mm, zachowując stosunek masowy roztworu osmotycznego do materiału odwadnianego na poziomie 4:1. Proces prowadzono dynamicznie z częstotliwością 1,67 Hz, w łaźni wodnej ELPAN, typ 357. Po upływie określonego czasu odwadniania próbki oddzielano od roztworu osmotycznego, przemywano zimną wodą, a następnie osuszano na bibule filtracyjnej.

Temperaturę materiału w czasie zamrażania, tj. w temp.  $-35^{\circ}\text{C}$ , jak również w czasie rozmrażania mierzono termoelementami umieszczonymi w odległości 10,0 mm od strony powierzchni odwadnianej. W czasie zamrażania dokonywano pomiarów temperatury w odstępach jednocminutowych przez pierwsze 14 min, a następnie w odstępach dwucminutowych do założonego końca procesu zamrażania tj. do momentu uzyskania w odległości 10,0 mm od powierzchni próbek temp.  $-15^{\circ}\text{C}$  [6].

Stopień migracji substancji osmotycznej w głąb materiału określano na podstawie zawartości sacharozy w plastrach o grubości 0,5 mm wycinanych z próbek jabłka po odwodnieniu. W tym celu z próbek jabłka wycinano korkoborem walec o średnicy 20 mm. Następnie za pomocą przyrządu zaopatrzonego w śrubę mikrometryczną, z walca (od strony odwodnionej) odcinano plastry o grubości 0,5 mm. Zawartość cukrów oznaczano metodą kolorymetryczną z kwasem 3,5-dinitrosalicylowym [5]. Celem oznaczenia zawartości sacharydów redukujących przeprowadzono hydrolizę. Zawartość sacharozy oznaczano z różnicy sacharydów po hydrolizie i sacharydów bezpośrednio redukujących. Oznaczenia wykonywano w trzech powtórzeniach. Uzyskano rozkład zawartości sacharozy w materiale w odległości: 0-0,5 mm, 0,5-1,0 mm, 2,5-3,0 mm, 4,5-5,0 mm, 6,5-7,0 mm, 9,5-10,0 mm od strony powierzchni odwadnianej.

Profile sacharozy, uzyskane po zbadaniu zawartości sacharozy w poszczególnych plastrach, opisano następującym równaniem:

$$y = a + be^{-cx} \quad (1)$$

Równanie każdego wariantu dobrano za pomocą programu Table Curve 2 D (Jan-del Sci.). Przyjmując jako odległość maksymalną  $l = 10$  mm, można wyznaczyć wartości średnie stężenia, na podstawie równania:

$$c_{sr} = \frac{1}{10} \int_0^{10} (a + be^{-cx}) dx \quad (2)$$

Stężenie wyrażane było w procentach, dlatego też ilość dyfundującej sacharozy w gramach otrzymamy z następującej zależności:

$$M_{ds} = \frac{[(c_{sr} - c_0)10x]}{100} \quad (3)$$

gdzie:

$c_0$  – początkowe stężenie sacharozy w próbce [%],

$x$  – średnia masa jednego plastra, podzielona przez jego grubość (czyli 0,5 mm).

Za wartość temperatury krioskopowej przyjęto temp. odpowiadającą początkowemu prostoliniowemu odcinkowi krzywej mrożenia po etapie schładzania, wykreślonej dla punktu odległego 10,0 mm od powierzchni próbki. Określono czas trwania etapu schładzania próbek jako czas od początku procesu zamrażania do uzyskania temp. 0°C, czas przemiany fazowej w zakresie temp. od 0 do -4°C oraz czas domrażania od temp. -4°C do uzyskania temp. -15°C w odległości 10,0 mm od powierzchni próbki [6]. Określano również czas każdej z trzech faz procesu rozmrażania [1].

## Wyniki i dyskusja

Na podstawie krzywych mrożenia określono czas każdego z etapów oraz wartości temperatury krioskopowej.

Czas schładzania próbek odwadnianych uległ skróceniu w porównaniu z jabłkiem surowym, nie były to jednak duże różnice (tab. 1). W jabłkach odwadnianych nastąpiło jednak znaczne skrócenie czasu przemiany fazowej. Etap przemiany fazowej jabłka odwadnianego 1h w temp. 70°C uległ skróceniu aż o 20,21 min (etap przemiany fazowej jabłka surowego wynosił 23 min). W jabłkach odwadnianych przez 3h w 30°C etap przemiany fazowej był krótszy o 16,12 min od etapu przemiany fazowej jabłka surowego. Wynika z tego, że obróbka osmotyczna bez względu na czas jej trwania ma decydujący wpływ na skrócenie czasu przemiany fazowej. Wydłużeniu uległ natomiast etap domrażania odwadnianych próbek. Po zastosowaniu 3-godzinnego odwadniania w temp. 30°C, czas domrażania wydłużył się z 34,52 (jabłko surowe) do 41,1 min, a po 1h odwadniania w 70°C próbki domrażały się o 7,71 min dłużej niż jabłko surowe.

Mimo, że czas domrażania próbek poddanych odwadnianiu osmotycznemu uległ wydłużeniu, całkowity czas zamrażania uległ znacznemu skróceniu. Najkrócej zamra-

żało się jabłko po godzinie odwadniania w temp. 70°C. Całkowity czas zamrażania tej próbki wyniósł 55,73 min i był o 14,12 min krótszy od całkowitego czasu zamrażania próbek jabłka surowego. Jabłko odwadniane 3 h w temp. 30°C zamrażało się 59,5 min, tzn. o 10,35 min krócej niż jabłko surowe.

Tabela 1

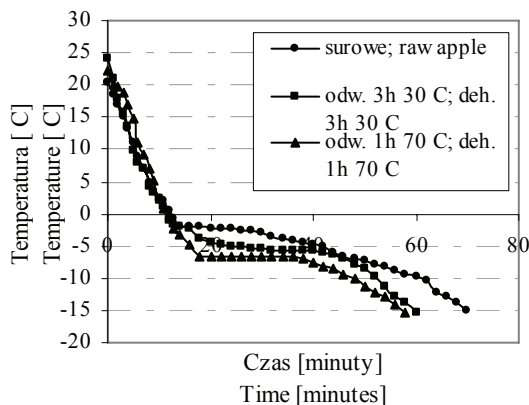
Charakterystyka procesu zamrażania wybranych próbek.  
Characteristic of freezing process for selected samples.

Etapy procesu zamrażania Freezing process stages	Jabłko surowe Raw apple	Jabłko odwodnione 3 h w 30°C Dehydrated apple 3 h at 30°C	Jabłko odwodnione 1 h w 70°C Dehydrated apple 1 h at 70°C
Czas schładzania [min] Cooling time	12,33	11,52	10,67
Czas przem. fazowej [min] Phase-change time	23,00	6,88	2,79
Czas domrażania [min] Freezing time	34,56	41,10	42,23
Całkowity czas zamrażania [min] Total freezing time	69,85	59,50	55,73
Temp. krioskopowa [°C] Cryoscope temperature	-1,9	-5,2	-6,7
Masa dyfundującej sacharozy [g] Mass of diffusing sucrose	-	0,0650	0,0747

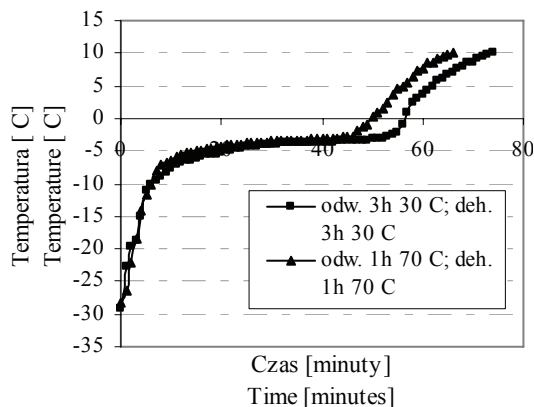
Porównanie krzywych mrożenia próbek jabłek surowych i jabłek odwodnionych osmotycznie (rys. 1) prowadzi do stwierdzenia, że obróbka osmotyczna spowodowała znaczne obniżenie temperatury krioskopowej.

Gruda i Postolski [1] podają, że temperatura krioskopowa jabłek wynosi -2,0°C. Po przeanalizowaniu krzywej mrożenia jabłka surowego stwierdzono, że temperatura krioskopowa kształtowała się na poziomie -1,9°C. Odwadnianie osmotyczne spowodowało następujące zmiany w wartościach temperatury krioskopowej: jabłko odwadniane 3 h w temp. 30°C miało temp. krioskopową o 3,3°C niższą od temp. krioskopowej jabłka surowego, a po 1h odwadniania w 70°C niższą aż o 4,8°C. Masa dyfundującej sacharozy była większa w przypadku próbek odwadnianych 1 h w 70°C, można zatem przypuszczać, że podwyższona zawartość sacharozy wpłynęła na obniżenie temperatury krioskopowej (tab. 1). Potwierdza to wcześniejsze badania nad wpływem substancji osmoaktywnych na temperaturę krioskopową produktów [2, 4].





Rys. 1. Krzywe mrożenia - jabłko surowe odwodnione 3 h w 30°C oraz 1 h w 70°C.  
Fig. 1. Freezing curves - raw and osmosed apple (3h at 30°C and 1 h at 70°C).



Rys. 2. Krzywe rozmrażania - jabłko odwodnione 3 h w 30°C oraz 1 h w 70°C.  
Fig. 1. Thawing curves - osmosed apple (3h at 30°C and 1 h at 70°C).

W toku rozmrażania występowały podobne gradienty temperatur między produktem i medium, jak przy zamrażaniu, dlatego też przebieg procesu rozmrażania, podobnie jak zamrażania, można scharakteryzować za pomocą krzywych (rys. 2).

Tabela 2

Charakterystyka procesu rozmrażania wybranych próbek.  
Characteristic of thawing process for selected samples.

Etapy procesu rozmrażania Thawing process stages	Jabłka odwodniane 3 h w 30°C Dehydrated apple 3 h at 30°C	Jabłka odwodnione 1 h w 70°C Dehydrated apple 1 h at 70°C
Faza I [min] Phase I	21,00	15,00
Faza II [min] Phase II	35,00	32,00
Faza III [min] Phase III	18,00	19,00
Całkowity czas rozmrażania [min] Total thawing time	74,00	66,00
Temp. krioskopowa [°C] Cryoscope temperature	-2,2	-2,7
Masa dyfundującej sacharozy [g] Mass of diffusing sucrose	0,0973	0,1281

Z tab. 2. wynika, że w tych samych warunkach krócej (66 min) rozmrażało się jabłko odwadniane 1 h w temp. 70°C i przechowywane 1 miesiąc w -35°C (rys. 2). Jabłko odwadniane 3 h w temp. 30°C i przechowywane przez 1 miesiąc w -35°C rozmrażało się 74 min. Czas rozmrażania, podobnie jak zamrażania, zależał od zawartości wody i suchej substancji w próbce. Im mniej wody w próbce, tym większa szybkość procesu rozmrażania. Pierwsza faza procesu rozmrażania próbki po 1 h odwadniania w temp. 70°C była krótsza po miesiącu przechowywania w -35°C i wynosiła zaledwie 15 min. Sześć minut dłużej trwała pierwsza faza rozmrażania próbki odwadnianej 3 h w temp. 30°C i przechowywanej jeden miesiąc w tych samych warunkach. Podobnie wyglądał rozkład różnic drugiej fazy procesu rozmrażania. Różnice w długości trzeciej fazy były niewielkie, była ona jednak najdłuższa w przypadku tych próbek jabłka, które poprzednie dwa etapy przechodziły najszybciej (tab. 2).

Jako wartość temperatury krioskopowej przyjęto w tym przypadku temperaturę odpowiadającą końcowemu prostoliniowemu odcinkowi krzywej rozmrażania, stanowiącą początek trzeciej fazy procesu rozmrażania (rys. 2). Na wartość temperatury krioskopowej, podobnie jak przy zamrażaniu, ma wpływ zawartość wody i substancji osmoaktywnych w tkance. Im większa zawartość wody, tym wyższa temperatura krioskopowa. W trakcie procesu rozmrażania uwolniona woda powoduje rozcieńczenie treści komórek, wpływając tym samym na wzrost temperatury krioskopowej tego materiału. Próbka odwodniona 1 h w temp. 70°C, przechowywana 1 miesiąc w -35°C, a następnie rozmrożona charakteryzowała się niższą wartością temperatury krioskopowej (-2,7°C) przy wyższej wartości dyfundującej sacharozy (tab. 2). Próbka odwadniana 3 h w temp. 30°C i przechowywana 1 miesiąc w -35°C, a następnie rozmrożona miała wyższą temperaturę krioskopową (-2,2°C), przy wartości masy dyfundującej sacharozy na poziomie 0,0973 g. Podobnie, jak w przypadku próbek zamrażanych, można dopatrywać się zależności między masą dyfundującej sacharozy a zmianami temperatury krioskopowej.

W procesie zamrażania ciepło było odprowadzane z wnętrza produktu przez zamrożoną warstwę zewnętrzną, natomiast przy rozmrażaniu ciepło było doprowadzane przez warstwę rozmrożoną. Przewodność cieplna właściwa produktu rozmrożonego  $\lambda_{pl}$  jest 3-3,5-krotnie mniejsza niż produktu zamrożonego  $\lambda_{pz}$ , stąd znaczne wydłużenie czasu przy porównywalnych warunkach realizacji procesu [1]. Czas rozmrażania próbki odwadnianej 3 h w temp. 30°C i przechowywanej 1 miesiąc w -35°C wydłużył się o 14,5 min w stosunku do czasu zamrażania tej próbki tuż po odwadnianiu (zamrażanie 59,5 min, rozmrażanie 74 min), a czas rozmrażania próbki odwadnianej 1 h w temp. 70°C i przechowywanej 1 miesiąc w -35°C wydłużył się o 10,27 min w stosunku do czasu zamrażania (zamrażanie 55,73 min, rozmrażanie 66 min).

## Wnioski

1. Obróbka osmotyczna wpłynęła na skrócenie okresów schładzania i przemiany fazowej, a czas domrażania uległ wydłużeniu w stosunku do jabłka surowego. Najkrócej zamrażało się jabłko po godzinie odwadniania w temp. 70°C.
2. Podwyższona zawartość sacharozy miała wpływ na obniżenie temperatury krioskopowej, zarówno w procesie zamrażania, jak i rozmrażania.
3. Czas rozmrażania próbek wydłużył się w stosunku do czasu ich zamrażania. Temperatura przemiany fazowej w procesie rozmrażania była wyższa niż w procesie zamrażania.

## Literatura

- [1] Gruda Z., Postolski J.: Zamrażanie żywności. WNT. Warszawa 1999.
- [2] Kluza F.: Zakres zamrażania owoców, warzyw oraz soków owocowo-warzywnych jako wynik oddziaływania warunków ich chłodzenia i właściwości fizycznych oraz modyfikacji składu produktu. *Chłodnictwo*, 1997, **32** (1), 35-37.
- [3] LaBelle R. L., Moyer J. C.: Dehydrofreezing of red tart cherries. *Food Technol.*, 1966, **20** (10), 105-106.
- [4] Pałacha Z., Kamińska A.: Wpływ wstępnej obróbki osmotycznej na przebieg procesu zamrażania jabłek. *Chłodnictwo*, 2001, **36** (3), 44-47.
- [5] Toczko M., Grzebińska A.: Materiały do ćwiczeń z biochemii. Oznaczanie zawartości sacharydów w materiale biologicznym. Wyd. SGGW. Warszawa 1997, s. 38-41.
- [6] Zagibalova T., Mank V.: Characteristics of changes in cold preservation according to NMR results. *Piszczewaja Technologija*, 1984, (2), 48-52.

## EFFECT OF OSMOTIC PRE-TREATMENT ON THE PROCESS OF APPLE FREEZING AND THAWING

### Summary

The aim of this study was to investigate on how the saturation of apples by osmotic substance influence on the freezing and thawing process. The research material was a osmotically dehydrated apples (3 h at 30°C and 1 h at 70°C) frozen and stored for one month at the temperature of -35°C and than also after thawing. It was found that the osmotic pre-treatment caused shortening of the total time of freezing – the shortest was the freezing time for apple after 1h of dehydration at the temperature of 70°C. The decrease in cryoscope temperature was also noticed. The total time of thawing was longer then the total time of freezing and the cryoscope temperature for that process was higher.

**Key words:** apples, osmotic dehydration, freezing, thawing 

JOANNA KOBUS, DOMINIK KMIĘCIK

## JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA I SKŁAD CHEMICZNY MLEKA SUROWEGO POCHODZĄCEGO Z WIELKICH I MAŁYCH GOSPODARSTW ROLNYCH WIELKOPOLSKI W 2004 ROKU

### Streszczenie

Przy produkcji, przetwórstwie i transporcie mleka, zarówno w świecie, jak i w Polsce, szczególnie określone są wymagane warunki sanitarne. Zwraca się uwagę producentom na konieczność podejmowania działań na rzecz dalszej poprawy jakości higienicznej i zdrowotnej mleka surowego. Dzieje się tak przede wszystkim dlatego, że systematycznie wzrastają wymagania konsumentów oraz sieci handlowych dotyczące jakości gotowego produktu, a jakość mleka w skupie determinuje jakość i bezpieczeństwo produkowanych wyrobów mleczarskich.

Celem niniejszej pracy było porównanie jakości mikrobiologicznej i składu chemicznego mleka surowego skupowanego w okresie od stycznia do listopada 2004 r. na terenie Wielkopolski.

Dostawców zróżnicowano na dwie grupy, biorąc pod uwagę wielkość produkcji mleka w tysiącach litrów na miesiąc: gospodarstwa małe produkujące do 3 tys. l oraz gospodarstwa duże produkujące powyżej 100 tys. l miesięcznie.

Materiałem badawczym były próby mleka surowego pobrane od 20 dostawców w obu analizowanych grupach. Badania wykonywano co dwa miesiące. W próbach oznaczono ogólną liczbę drobnoustrojów (OLD), liczbę komórek somatycznych (KS) oraz zawartość tłuszczu i białka.

W wyniku przeprowadzonych analiz stwierdzono, że zarówno jakość mikrobiologiczna, jak i zawartość tłuszczu w mleku surowym różniła się w obu analizowanych grupach.

W próbach mleka z małych gospodarstw rolnych odnotowano obecność OLD na wyższym poziomie aniżeli w próbach mleka z gospodarstw oddających do skupu powyżej 100 tys. l mleka miesięcznie. Wewnątrz grupy małych dostawców stwierdzono większe zróżnicowanie w liczbie KS w mleku niż w próbach od wielkich dostawców. Podobnie, zawartość tłuszczu w surowcu przy mniejszej produkcji była bardziej zróżnicowana, w zależności od miesiąca przeprowadzania analiz, w porównaniu z większymi gospodarstwami.

Wykazano istotny wpływ wielkości gospodarstwa i pory roku na zawartość białka w mleku surowym.

**Słowa kluczowe:** mleko surowe, jakość, skład chemiczny

## Wprowadzenie

W diecie człowieka mleko jest niezastąpionym źródłem składników pokarmowych. Cenione są w nim przede wszystkim aminokwasy egzogenne, witaminy i składniki mineralne – głównie wapń, odgrywający ważną rolę w wielu procesach metabolicznych zachodzących w organizmie człowieka, a jednocześnie stanowiący wraz z fosforem podstawowy nieorganiczny materiał budulcowy tkanki kostnej i zębów. Z tego powodu spożycie mleka i produktów mlecznych zalecane jest przede wszystkim dzieciom i młodzieży. Jakość produktów mlecznych zależy od wielu czynników: od rodzaju obróbki termicznej, warunków transportu, sposobu i warunków przechowywania w handlu, a przede wszystkim od jakości surowca. Dlatego istotną staje się konieczność kontrolowania i monitorowania jakości skupowanego mleka surowego [ 2, 6, 10, 17].

Według Polskiej Normy [12] mleko surowe jest produktem naturalnym, uzyskiwanym w procesie dojenia zdrowych krów, niczym nie uzupełnione i niczego nie pozbawione. Natomiast Dyrektywa Unii Europejskiej [14] definiuje mleko surowe jako produkt wytworzony w wyniku wydzielania gruczołów mlecznych krów, owiec, kóz lub bawolic, które nie było podgrzewane do temp. powyżej 40°C, ani nie zostało poddane jakiegokolwiek obróbce, która dałaby podobny efekt. Wymagania szczegółowe odnoszące się do mleka surowego określają wymagania weterynaryjne dotyczące produkcji mleka, produktów mlecznych oraz wymagania weterynaryjne, jakie powinno spełniać mleko surowe przeznaczone do produkcji. Mleko odbierane z gospodarstw produkcyjnych nie powinno zawierać więcej niż 100 tys. drobnoustrojów w 1 mililitrze, oznaczonych metodą płytkową w temp. 30°C, 400 tys. komórek somatycznych, nie powinno zawierać wody dodanej oraz charakteryzować się punktem zamrażania w temp. nie wyższej niż - 0,52° C. Mleko to powinno zawierać minimum 28 g białka w 1 l i nie mniej niż 8,5% suchej masy beztłuszczowej w mleku całkowicie odtłuszczonym. Mleko nie może być dopuszczone do konsumpcji, jeżeli zawiera ślady antybiotyków w ilości przekraczającej ustalony przepisami poziom. Pomieszczenia do udoju i przechowywania mleka powinny być należycie odizolowane od wszelkich źródeł zanieczyszczeń, takich jak: toalety, składowiska obornika i gnojowicy [17, 18]. Dlatego większe gospodarstwa, trudniące się produkcją mleczną mają większą możliwość zastosowania prawidłowej i sprawnej organizacji pracy, co ma bezpośredni wpływ na jakość surowca. Podobnie sytuacja wygląda z żywieniem bydła w wielkich gospodarstwach, w których automatyzacja pozwala osiągnąć jednakowy poziom dozowanych porcji zbilansowanych pasz w przeciwieństwie do małych gospodarstw, w których karma często urozmaicana jest przez rolników niestandardowymi dodatkami. Różnice w żywieniu bezpośrednio wpływają na skład chemiczny mleka surowego pochodzącego z gospodarstw różniących się wielkością produkcji mleka.

Celem niniejszej pracy było porównanie jakości mikrobiologicznej i składu chemicznego mleka surowego skupowanego w okresie od stycznia do listopada 2004 roku od wielkich i małych gospodarstw na terenie Wielkopolski.

### **Material i metody badań**

Materiałem doświadczalnym było mleko surowe pochodzące z gospodarstw rolnych, pobierane w roku 2004 z terenu Wielkopolski. Gospodarstwa podzielono na dwie grupy ze względu na wielkość produkcji mleka: gospodarstwa duże (gdzie produktywność mleka była większa niż 100 tys. l/miesiąc) oraz gospodarstwa małe (gdzie produktywność mleka była mniejsza niż 3 tys. l/miesiąc). Oznaczano skład chemiczny mleka (białko, tłuszcz) oraz jego jakość mikrobiologiczną (ogólną liczbę drobnoustrojów oraz liczbę komórek somatycznych). Badania poziomu poszczególnych wskaźników dokonywano w odstępach dwumiesięcznych. Próbkę mleka przed analizą przechowywano w temp. 4 °C bez dostępu światła.

Zawartość tłuszczu oraz białka w mleku wykonywano przy użyciu aparatu MILKOSCAN FT 120 (FOSS, Szwecja).

Liczbę komórek somatycznych określano używając aparatu fluorescencyjnego FOSSOMATIC 90 (FOSS, Dania), wykrywającego i liczącego świecące pod wpływem światła zabarwione komórki somatyczne. Świeże próbki do badań przechowywano minimum 24 godz. (od momentu pobrania próbki) w warunkach chłodniczych. Przed rozpoczęciem oznaczeń próby podgrzewano do temp. 40°C.

Ogólną liczbę drobnoustrojów oznaczano na płytkach PETRIFILM (3M, Mn, USA).

Uzyskane wyniki poddano analizie wariancji przy użyciu programu komputerowego Statistica v.6.0 (Statsoft, Poland).

### **Wyniki i dyskusja**

Zagadnieniu jakości mleka surowego poświęcono w literaturze wiele uwagi [5, 6, 8, 9, 11, 13, 18, 19]. Wiadomo bowiem, że cechy fizykochemiczne i mikrobiologiczne surowca mają bezpośredni wpływ na jakość produktu finalnego. Dlatego przestrzeganie wymagań dotyczących mleka surowego przy skupie ma tak istotne znaczenie. Dotyczy to zarówno wartości odżywczej, jak i jakości mikrobiologicznej.

Wyniki oceny zawartości białka i tłuszczu oznaczone w mleku surowym przedstawiono w tab. 1.

W próbkach mleka pochodzących z mniejszych gospodarstw rolnych, w każdym z analizowanych miesięcy stwierdzono większą zawartość tłuszczu niż w grupie gospodarstw, których produkcja mleka wynosiła powyżej 100 tys. l miesięcznie. Największą zawartością tłuszczu (4,44%) charakteryzowało się mleko pochodzące z małych gospodarstw, z listopada, natomiast najmniej (3,82%) tłuszczu oznaczono w go-

spodarstwach wielkich, w maju. W każdym z analizowanych miesięcy zawartość tłuszczu w mleku pochodzącym z mniejszych gospodarstw była większa niż z gospodarstw produkujących więcej niż 100 tys. l miesięcznie. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że wielkość produkcji istotnie wpływała na zawartość tego komponentu w surowcu ( $p < 0,001$ ). W badaniach innych autorów stwierdzono, że poziom tłuszczu w mleku surowym kształtuje się w zależności nie tylko od pory roku, ale przede wszystkim od sposobu karmienia zwierząt [15, 17, 20]. Toteż można wnioskować, że małe gospodarstwa nie mają tak zorganizowanej i rozwiniętej produkcji i chowu bydła mlecznego, jak ma to miejsce w wielkich gospodarstwach, dlatego też jakość karmy dla zwierząt też jest inna, przez co wpływa na zawartość tłuszczu w mleku.

Tabela 1

Zawartość tłuszczu i białka w mleku surowym pochodzącym z małych i wielkich gospodarstw.  
Content of fat and protein in raw milk from small and big farms.

Miesiąc Month	Wielkość produkcji / Size of production			
	do 3 tys. l / thousands		>100 tys. l / thousands	
	Tłuszcz / Fat [%]	Białko / Protein [%]	Tłuszcz / Fat [%]	Białko / Protein [%]
Styczeń / January	4,27 ± 0,35	3,38 ± 0,22	3,91 ± 0,13	3,38 ± 0,08
Marzec / Marz	4,47 ± 0,35	3,43 ± 0,16	3,88 ± 0,17	3,47 ± 0,08
Maj / Mai	4,27 ± 0,43	3,34 ± 0,26	3,82 ± 0,41	3,38 ± 0,13
Lipiec / July	4,23 ± 0,36	3,10 ± 0,13	3,83 ± 0,12	3,31 ± 0,13
Wrzesień / September	4,12 ± 0,37	3,25 ± 0,14	3,85 ± 0,32	3,44 ± 0,16
Listopad / November	4,44 ± 0,36	3,43 ± 0,23	4,05 ± 0,24	3,52 ± 0,13

Zawartość białka w analizowanych próbach kształtowała się na zróżnicowanym poziomie od 3,10 do 3,52%. Mleko pochodzące z gospodarstw produkujących powyżej 100 tys. l miesięcznie charakteryzowało się większą zawartością białka niż z gospodarstw małych. Na zawartość białka w mleku surowym statystycznie istotny wpływ miała wielkość gospodarstwa ( $p < 0,002$ ) jak również miesiąc produkcji mleka ( $p < 0,001$ ).

W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi [14], podobnie jak w Dyrektywie UE 92/46 z 16.06.1992 r. [cyt. za 13], określono tylko jedną klasę standardu mleka surowego i całość wyprodukowanego w gospodarstwie mleka powinna odpowiadać tej klasie, przy czym określona została górna granica liczby drobnoustrojów i komórek somatycznych dopuszczonych w 1 ml mleka. Europejski standard mleka surowego, to w Polsce odpowiednik mleka klasy ekstra. Zgodnie z przyjętym w rozpo-

rządzeniu zapisem mleko surowe (pochodzące od krów) nie powinno zawierać w 1 ml więcej niż 100 000 drobnoustrojów i 400 000 komórek somatycznych.

Pierwotnym źródłem obecności mikroorganizmów w mleku surowym jest ziemia, woda i rośliny [3, 7, 10, 17]. Występowanie bakterii w surowym mleku zmienia się w zależności od pory roku, stanu higienicznego sprzętu i urządzeń do pozyskiwania mleka, temperatury, czasu przetrzymywania mleka do przetwarzania [3, 8, 10, 17]. Wyniki badań dotyczące obecności drobnoustrojów w mleku zamieszczono w tab. 2. Obecność drobnoustrojów różniła się istotnie w zależności od miesiąca prowadzonych badań, jak i wielkości gospodarstw, lecz w żadnym przypadku nie przekroczyła wartości określonej normą. Produkcja w większych gospodarstwach sprzyjała utrzymaniu lepszej jakości mikrobiologicznej mleka surowego niż w małych gospodarstwach. Tylko we wrześniu OLD w większych gospodarstwach była większa (61 tys./ml) aniżeli w gospodarstwach małych (44 tys./ml). Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała wpływ wielkości produkcji na liczbę drobnoustrojów ( $p < 0,01$ ). Jak wynika z badań innych autorów, większą zawartość drobnoustrojów w mleku surowym notuje się latem, jesienią i wiosną niż zimą. Jedną z przyczyn może być szybszy rozwój bakterii pozostałych po niedokładnym myciu urządzeń, które w okresach cieplejszych mają optymalne warunki rozwoju [2, 3, 6, 10]. W przedstawionych w niniejszej pracy badaniach nie wykazano takiej zależności. Stwierdzono, że miesiąc badań nie wpływał istotnie na liczbę drobnoustrojów w próbce. Może to wynikać z warunków klimatycznych, jakie miały miejsce w 2004 roku.

Wyniki dotyczące liczby komórek somatycznych w mleku surowym zamieszczono w tab. 2. Liczba komórek w próbkach mleka została oznaczona na różnym poziomie, lecz we wszystkich przypadkach nie przekraczała wartości określonej normą dla mleka klasy ekstra. Więcej komórek somatycznych znajdowało się w próbkach mleka pochodzących z wielkich gospodarstw. Dotyczyło to wszystkich miesięcy badań. Tendencję tę można wytłumaczyć jedynie jednorazowym badaniem zbyt małej liczby prób bądź też badaniem małych gospodarstw z regionu, gdzie technologia i jakość produkcji są na najwyższym poziomie. W wyniku tego średnia liczba komórek somatycznych w mleku surowym pochodzącym z małych gospodarstw była mniejsza niż w mleku pochodzącym z gospodarstw wielkotowarowych.

Analiza statystyczna potwierdziła istotny wpływ wielkości gospodarstwa na liczbę komórek somatycznych ( $p < 0,001$ ) i brak wpływu miesiąca oznaczeń ( $p = 0,204$ ). W literaturze wielokrotnie zwracano uwagę na konieczność monitorowania liczby KS w mleku i sposobach, które mają wpływ na jej zmniejszenie, gdzie higiena doju ma podstawowe znaczenie [1, 2, 4, 6, 16, 19, 20].

W ostatnich latach obserwowano znaczną poprawę jakości mleka surowego. Oczywiście jest, że jakość surowców, w tym także mleka, poprawia się wraz z nowymi trendami produkcji i przetwórstwa żywności. Przedstawione wyniki badań i analiz



jakości mleka surowego potwierdziły te tendencje. Wyniki wskaźników chemicznych i mikrobiologicznych różniły się w zależności od wielkości produkcji gospodarstw oraz od pory roku, lecz zawsze spełniały wszelkie wymagania określone normą, odnoszące się do mleka surowego klasy ekstra.

Tabela 2

Liczba komórek somatycznych (KS) i ogólna liczba drobnoustrojów (OLD) w mleku surowym pochodzącym z małych i wielkich gospodarstw.

Somatic cells count and total microorganisms count in raw milk from small and big farms.

Miesiąc Month	Wielkość produkcji / Size of production			
	do 3 tys. l / thousands		>100 tys. l / thousands	
	KS / Somatic cells count [x1000/ml]	OLD / Total microorganisms count [x1000/ml]	KS/ Somatic cells count [x1000/ml]	OLD / Total microorganisms count [x1000/ml]
Styczeń January	212,7 ± 56,25	94 ± 12,25	318,1 ± 50,79	33 ± 23,59
Marzec Marz	211,7 ± 98,69	69 ± 26,01	311,8 ± 59,30	45 ± 26,77
Maj Mai	233,8 ± 87,82	65 ± 18,25	316,8 ± 55,32	23 ± 14,94
Lipiec July	252,3 ± 80,28	51 ± 33,15	347,6 ± 57,66	41 ± 35,73
Wrzesień September	283,9 ± 82,01	44 ± 33,40	320 ± 50,73	61 ± 26,85
Listopad November	279,3 ± 68,43	79 ± 14,25	347,2 ± 27,45	38 ± 26,58

Tabela 3

Wyniki analizy wariancji.

Variance analysis results.

Czynnik Index	Miesiąc Month	Wielkość gospodarstwa Size of farms
Tłuszcz Fat	p=0,10	p<0,001
Białko Protein	p<0,001	p=0,002
KS Somatic cells count	p=0,204	p<0,001
OLD Total microorganisms count	p=833	p<0,01

## Wnioski

1. Na zawartość tłuszczu w mleku surowym istotnie wpływała wielkość produkcji w gospodarstwach, przy czym mniejsze gospodarstwa produkowały mleko o większej zawartości tłuszczu.
2. Zawartość białka w mleku surowym kształtowała się na podobnym poziomie, a jego ilość zależała od wielkości gospodarstwa i od miesiąca przeprowadzanych analiz.
3. W mleku z małych gospodarstw rolnych odnotowano obecność OLD na wyższym poziomie aniżeli w mleku z gospodarstw oddających do skupu powyżej 100 tys. l miesięcznie.
4. Wewnątrz grupy małych dostawców stwierdzono większe zróżnicowanie liczby KS w mleku niż w próbach od wielkich dostawców. Więcej komórek somatycznych znajdowało się w próbach mleka pochodzących z wielkich gospodarstw.

## Literatura

- [1] Beneitez de la Mano E., Revilla I.: Relationship between somatic cell counts and the properties of yoghurt made from ewes milk. *Int. Dairy J.*, 2006, **16** (3), 262-272.
- [2] Bonczar G., Tomalski J.: Ocena jakości mleka surowego na podstawie wybranych parametrów. *Przegl. Mlecz.*, 1994, **2**, 35-37.
- [3] Cousin M.A.: Presece and activity of Psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a revive. *J. Food Prot.*, 1982, **45** (2), 172-207.
- [4] Czupa S.: MASTITIS „choroba zawodową” krów mlecznych. *Przegl. Mlecz.*, 1998, **1**, 20-23.
- [5] Davis J.L.: Milk testing: the laboratory control of milk. London Dairy Industries Ltd. 1959, pp. 119-212.
- [6] Harding F.: Milk Quality. Blackie Academic and Professional. Chapman and Hall, Glasgow, UK, 1995, pp. 40-59.
- [7] Hammer B., Babel F.: Tests for the general quality of raw milk. In *Dairy Bacteriology*, 4th ed.; Chapman and Hall: London, 1957, pp. 26-44.
- [8] Jakubczyk E.: Jakość pasteryzowanego mleka spożywczego. *Przem. Spoż.* 2004, **58** (3), 42-49.
- [9] Lindmark-Månsson H., Svensson U., Paulsson M., Aldén G., Frank B., Johnsson G.: Influence of milk components, somatic cells and supplemental zinc on milk processability. *Int. Dairy J.*, 2000, **10**, 423-436.
- [10] Piątkiewicz A.: Mikroflora mleka i produktów mleczarskich – problem producenta i konsumenta. *Przegl. Mlecz.*, 1998, **6**, 21-23.
- [11] Pluta A.: Metody przedłużania trwałości mleka spożywczego. *Przegl. Mlecz.*, 1997, **8**, 221-226.
- [12] PN-A-86002: 1999. Mleko surowe do skupu.
- [13] Rowlands A., Barkworth H., Hosking Z., Kempthorne O.: Keeping quality and raw milk grading. *J. Dairy Res.*, 1950, **17**, 159-169.
- [14] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 sierpnia 2004 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych dla mleka oraz produktów mlecznych. *Dz. U.* 2004. Nr 188, poz. 1946.
- [15] Secchiari, P., Antongiovanni, M., Mele, M., Serra, A., Buccioni, A., Ferruzzi, G., Paoletti, F., Petacchi, F.: Effect of kind of dietary fat on the quality of milk fat from Italian Friesian cows. *Livestock Production Sci.*, 2003, **43**, 52-56.

- [16] Sierra D., Sanchez A., Luengo C., Correles J., Morales C.: Temperature effects on Fossomatic cell counts in goats milk. *Int. Dairy J.*, 2006, **16** (4), 385.
- [17] Smith G.: *Dairy processing, improving quality*. Cambridge Woodhead Publishing: England, 2003, pp. 185-207.
- [18] Tomaszewski S., Kowalski Z., Trochimowicz I.: *Produkcja mleka, praktyczne zastosowanie wymagań UE i Polski dla gospodarstw: Związek Prywatnych Przetwórców Mleka*, Warszawa 2002, s. 24-38.
- [19] Ziajka S., Troll J., Dzwolak W.: Wpływ surowca na jakość mleka spożywczego. *Przegl. Mlecz.*, 1997, **9**, 262-265.
- [20] Zmarlicki S.: Jakość mleka i produktów mlecznych w Polsce - stan obecny i zadania na przyszłość. *Przegl. Mlecz.*, 1997, **2**, 35-37.

#### MICROBIOLOGICAL QUALITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF RAW MILK FROM BIG AND SMALL FARMS IN THE WIELKOPOLSKA REGION IN 2004

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

All over the world and also in Poland there are required definite demands at production of milk which included sanitary, process production and transport condition. The producers are obligated to make necessary procedure operations to correct quality and sanitary standards of raw milk. All this changes happened because of systematically growing consumers demands and business networks concerns about quality of ready-to-eat milk products, what is determined by quality and safety of raw milk.


The aim of this study was to compare the microbiological quality and chemical composition in period from January to November in Wielkopolska region in 2004.

The size of production of milk differentiates suppliers on two groups: small farms - less than 3 thousands litters per month, and big farms where 100 thousands litters of milk were produced over a month.

The experimental material comprised samples of milk from 20 farms in each of analyzed size class of farms. The researches in bimonthly interspaces were done. In samples total number of microorganism (OLD), contents of somatic cells (KS), content of fat and proteins were estimated.

In result differences in microbiological quality as well as contents of fat in raw milk in both of analyzed groups were proved.

In milk samples from small farms count of total microorganisms on higher level were estimated. The somatic cells content in milk samples inside small farms group more diverse were observed. Similarly fat content was more differentiated in samples of raw milk at smaller production which depending on month of analysis in comparison with the second farms. The protein content in raw milk was depended on size of farms and also on month of analysis. The influence of size of farm and a season of the year on protein content in raw milk was also indicated.

**Key words:** raw milk, quality, chemical composition 

MAGDALENA KOPERA, MARTA MITEK

## WPLYW DODATKU KWASU L-ASKORBINOWEGO DO MIAZGI OWOCOWEJ NA ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI W SOKACH GRUSZKOWYCH

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku kwasu L-askorbinowego do miazgi owocowej na zawartość kwasów fenolowych w sokach gruszkowych.

Materiał do badań stanowiły owoce gruszy odmiany Konferencja zebrane w stanie dojrzałości zbiorczej. Owoce były wstępnie przebierane, a następnie myte. Kolejnym etapem było rozdrabnianie gruszek, w czasie którego dodawany był roztwór kwasu L-askorbinowego w ilości 0, 200 i 400 mg·kg<sup>-1</sup> gruszek. Otrzymaną miazgę poddawano tłoczeniu. Następnie sok surowy filtrowano, pasteryzowano i chłodzono do temperatury pokojowej. Soki przechowywano w temp. 20°C. Analizy soków przeprowadzono bezpośrednio po ich wyprodukowaniu oraz po 3, 6, 12, 24 i 36 tygodniach przechowywania.

W sokach oznaczano kwas p-hydroksybenzoesowy, kwas chlorogenowy, (-)epikatechinę, p-kumarowy i kwas synapinowy. Dodatek kwasu L-askorbinowego podczas produkcji soków powodował wzrost zawartości kwasów fenolowych w sokach. Natomiast podczas przechowywania soków obserwowano spadek zawartości omawianych związków.

**Słowa kluczowe:** sok naturalnie mętny, polifenole, HPLC, kwas L-askorbinowy

### Wprowadzenie

Soki naturalnie mętne stanowią, w porównaniu z sokami klarownymi, znacznie bogatsze źródło bioaktywnych substancji [1]. W sokach owocowych zawierających większą ilość pierwotnego miąższu owoców pojemność przeciwutleniająca jest wyższa w porównaniu z sokami klarownymi [8], a ponadto są źródłem wielu cennych składników; jak błonnik pokarmowy, związki fenolowe oraz wprowadzany podczas produkcji kwas askorbinowy [15].

Zawartość związków fenolowych w sokach z jabłek i gruszek zależy od odmiany i stopnia dojrzałości owoców oraz warunków klimatycznych [3, 10, 20, 21]. Technolo-

---

*Mgr inż. M. Kopera, dr hab. M. Mitek, prof. SGGW, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa*

gia produkcji soków wpływa istotnie na zawartość związków fenolowych, co udowodnili w badaniach Spanos i wsp. [19] oraz Cliff i wsp. [4]. Procesy technologiczne, takie jak: depektynizacja, klarowanie i filtracja powodują, że w soku jest tylko 5% związków polifenolowych z ilości zawartych w jabłkach [15]. Markowski i Płocharski [11] przetwarzając jabłka, stwierdzili w sokach mętnych 53% początkowej ilości związków fenolowych zawartych w owocach.

W sokach gruszkowych znajduje się kilka grup związków fenolowych [20, 22]. Jedną z nich stanowią kwasy fenolowe, których głównym przedstawicielem jest kwas chlorogenowy. Występuje również ester chinowy kwasu p-kumarowego. Drugą istotną grupą są monomery flawanoli, spośród których w największych ilościach występuje (-)epikatechina oraz (+)katechina [22]. Z polimerów flawanoli – procyjanidyn, występują głównie oligomery i trymery [20].

Powstawanie brązowienia soków gruszkowych może być przyczyną utleniania polifenoli przez polifenolooksydazę (PPO) podczas procesu technologicznego, a także poprzez powstawanie produktów Maillarda podczas ogrzewania i przechowywania soku [5].

Wysoką efektywnością hamowania brązowienia enzymatycznego charakteryzuje się kwas askorbinowy [9] i jego pochodne [18]. Dodatek kwasu askorbinowego przyczynia się do zachowania związków fenolowych w soku [12, 14]. W zależności od ilości dodanego przeciwutleniacza można modyfikować skład frakcji fenolowej soków, a tym samym otrzymać soki o różnych cechach sensorycznych i dietetycznych [7]. Należy również mieć na uwadze dodatkowe korzyści zdrowotne wynikające z wysokiej zawartości kwasu askorbinowego w sokach [17]. Wzbogacenie soków w kwas askorbinowy pozwala na lepsze zachowanie innych obecnych w soku przeciwutleniaczy, przy czym obserwuje się także działanie odwrotne, polegające na ochronnym wpływie obecnych w sokach polifenoli wobec witaminy C [13].

Zmiany zachodzące w sokach podczas ich przechowywania prowadzą z reguły do obniżenia wartości odżywczej i handlowej soków. Wielu autorów podaje, że podczas przechowywania soków występują straty związków fenolowych [2, 6, 7, 19]. W swoich badaniach Markowski [12] nie stwierdził zmniejszenia zawartości związków fenolowych, zaś w kilku przypadkach wykazał nawet wzrost ich poziomu.

Celem pracy było określenie wpływu dodatku kwasu L-askorbinowego (KA) do miazgi owocowej, podczas produkcji soków gruszkowych, na zawartość związków fenolowych w sokach bezpośrednio po produkcji oraz po przechowywaniu.

### **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły gruszki odmiany Konferencja, pochodzące z Sadu Doświadczalnego Katedry Sadownictwa SGGW, zebrane w stanie dojrzałości zbiorczej w 2003 r.

Po odrzuceniu owoców uszkodzonych, gruszki myto, a następnie rozdrabniano w półtechnicznym szarpaku. Podczas rozdrabniania dozowano roztwór wodny kwasu L-askorbinowego ( $20 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$  gruszek) w dawkach 0, 200, 400  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  gruszek. Następnie miążgę tłoczono w ręcznej prasie warstwowej, przy czym łączny czas rozdrabniania i tłoczenia nie był dłuższy niż 10 min. Otrzymany moszcz filtrowano przez tkaninę lnianą, rozlewano do szklanych ciemnych butelek o pojemności 330 ml i odpowietrzano, poprzez ogrzanie soku do temp.  $85^\circ\text{C}$ . Po zamknięciu butelek prowadzono pasteryzację w temp.  $95^\circ\text{C}$  w ciągu 15 min. Otrzymane soki w butelkach schładzano na powietrzu do temperatury ok.  $20^\circ\text{C}$ . Butelki przechowywano w pozycji stojącej bez dostępu światła w temp.  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  [20, 21]. Analizy kwasów fenolowych w sokach przeprowadzono bezpośrednio po ich wyprodukowaniu oraz po 3, 6, 12, 24 i 36 tygodniach przechowywania. W tym celu próbkę soku mieszano z metanolem w proporcji 1:1 i homogenizowano 1 min w temp. pokojowej, po czym wirowano i zlewano supernatant do kolby wyparkowej, a osad ponownie ekstrahowano 10 ml metanolu. Ekstrakcję osadu prowadzono dwukrotnie. Połączone ekstrakty odparowywano pod próżnią w temp.  $40^\circ\text{C}$  stosując wyparkę Büchi. Przed naniesieniem próbki na szczyt kolumny uzyskaną fazę wodną po odparowaniu metanolu oczyszczano przy użyciu filtra  $0,45 \mu\text{m}$  Millex®-HV (Millipore). Do rozdzielania i identyfikacji związków fenolowych stosowano chromatograf firmy PerkinElmer seria 200 z detektorem Diode Array Detektor (DAD). Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny LiChroCART® 125-3 (Merck KGaA), przy prędkości przepływu  $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . Temperatura termostatowania kolumny wynosiła  $22^\circ\text{C}$ . Fazę ruchomą stanowiła mieszanina woda (A) : kwas mrówkowy (B) : acetonitryl (C) o zmiennych parametrach gradientu A i C. Identyfikacji związków fenolowych dokonywano na podstawie czasu retencji porównywanego ze wzorcem oraz przy użyciu zbieranych przez DAD „widm” UV (spektrum w zakresie 200-700). Zawartość związków fenolowych podano w  $\text{mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$  soku.

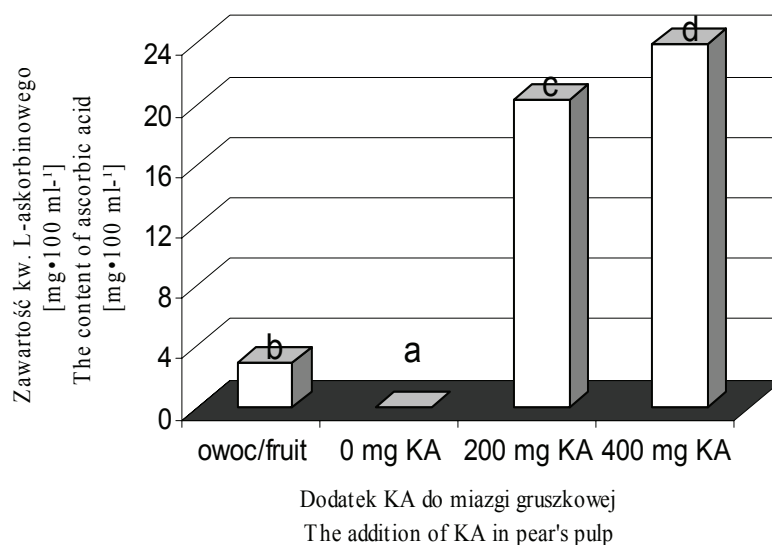
Dodatkowo przeprowadzano oznaczenie zawartości kwasu askorbinowego w surowcu oraz sokach bezpośrednio po wyprodukowaniu. Oznaczanie wykonano wg PN-A-04019 [16]. Wyniki wyrażano  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  surowca lub  $\text{mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$  soku.

Wyniki doświadczenia opracowano statystycznie przy użyciu dwuczynnikowej analizy wariancji w układzie losowym. Ocenę istotności wpływu poszczególnych czynników przeprowadzono na podstawie testu F Fishera-Snedecora. Do porównań wartości średnich posłużono się różnicami granicznymi obliczonymi przy użyciu testu Tuckey’a, przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Gruszki nie są bogatym źródłem kwasu askorbinowego, jego zawartość w owocach gruszy odmiany Konferencja wynosiła  $2,9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

Analiza statystyczna wyników bezpośrednio po produkcji soków wykazała, że dodatek kwasu L-askorbinowego do miazgi wpływał istotnie na jego zawartość w soku. Wraz ze wzrostem dodawanego kwasu L-askorbinowego istotnie wzrastała zawartość tego kwasu w soku. W sokach gruszkowych wyprodukowanych bez dodatku kwasu L-askorbinowego do miazgi nie stwierdzono jego obecności, natomiast zgodnie z oczekiwaniami soki z dodatkiem 400 mg suplementu wykazywały jego najwyższą zawartość (rys. 1).



Rys. 1. Zawartość kwasu L-askorbinowego w sokach w zależności od dodatku kwasu L-askorbinowego (KA) do miazgi gruszkowej [mg·100 ml<sup>-1</sup> soku].

Fig. 1. The content of ascorbic acid of pears juices depending on the addition of L-ascorbic acid (KA) in pear's pulp [mg·100 ml<sup>-1</sup> of juice].

W sokach z gruszek odmiany Konferencja zidentyfikowano cztery kwasy fenolowe: p-hydroksybenzoesowy, chlorogenowy, p-kumarowy i synapinowy. Stwierdzono także obecność (-)epikatechiny (tab. 1). Zidentyfikowane związki są typowe dla soków gruszkowych, co potwierdzają wcześniejsze doniesienia literaturowe [20, 22].

Decydujący wpływ na zawartość związków w sokach wywierał dodatek KA. Przeprowadzone badania wskazują, że zawartość kwasu chlorogenowego zależy głównie od stopnia zabezpieczenia tego związku przed procesami enzymatycznego utlenienia czy też hydrolizy. Poziom kwasu chlorogenowego w sokach bezpośrednio po produkcji wynosił, w zależności od ilości dodanego KA, od 8,64 do 26,88 mg·100 ml<sup>-1</sup> soku. Zawartość kwasu p-hydroksybenzoesowego, p-kumarowego, synapinowego i epikatechiny była niska i zawierała się w zakresie od 0,15 do 3,67 mg·100 ml<sup>-1</sup> soku.

Tabela 1

Zawartość związków fenolowych w sokach gruszkowych w zależności od dodatku kwasu L-askorbinowego (KA) do miazgi gruszkowej oraz okresu przechowywania soków [ $\text{mg}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$ ]  
 The content of phenolic compounds of pears juices depending on the addition of L-ascorbic acid (KA) in pear's pulp and storage duration juices [ $\text{mg}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$ ]

Dodatek KA [ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ gruszek] Addition KA [ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ pear]	Okres przechowywania soków [tygodnie] Storage duration [week]					
	0	3	6	12	24	36
kwas p-hydroksybenzoesowy / hydroxybenzoic acid						
0	A 0,33 ab	A 0,49 b	AB 0,19 a	A 0,15 a	A 0,25 ab	A 0,16 a
200	B 0,78 b	B 1,08 c	A 0,10 a	A 0,14 a	A 0,14 a	A 0,08 a
400	C 3,67 c	B 1,02 b	B 0,41 a	A 0,36 a	A 0,16 a	A 0,17 a
kwas chlorogenowy / chlorogenic acid						
0	A 8,64 a	A 6,19 a	A 8,36 a	A 1,75 a	A 1,66 a	A 1,38 a
200	B 21,71 c	B 24,33 c	A 9,96 b	A 4,56 ab	A 6,24 ab	A 1,07 a
400	B 26,88 b	B 22,45 b	B 25,95 b	B 23,31 b	B 22,03 b	A 0,17 a
(-)epikatechina / (-)epicatechin/						
0	B 1,34 c	A 0,69 b	A 0,95 bc	A 0,44 ab	B 0,92 bc	A 0,05 a
200	A 0,87 ab	B 1,77 c	A 1,28 b	B 1,13 b	B 0,68 a	B 0,92 ab
400	B 1,25 b	A 0,96 b	A 1,17 b	B 0,89 b	A 0,10 a	C 1,29 b
p-kumarowy / p-coumaric acid/						
0	A 0,21 a	A 0,18 a	A 0,18 a	A 0,21 a	A 0,19 a	A 0,21 a
200	A 0,20 a	A 0,16 a	A 0,27 a	A 0,16 a	A 0,19 a	A 0,21 a
400	B 0,43 b	B 0,46 b	A 0,22 a	A 0,26 a	A 0,21 a	A 0,16 a
kwas synapinowy / synapic acid/						
0	A 0,15 b	A 0,00 a	A 0,00 a	A 0,00 a	A 0,00 a	A 0,00 a
200	B 0,26 c	C 0,24 bc	B 0,17 b	B 0,12 ab	B 0,12 ab	AB 0,05 a
400	A 0,18 b	B 0,13 ab	B 0,16 ab	C 0,18 b	B 0,16 ab	B 0,09 a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone taką samą dużą literą (w kolumnach) i małą literą (w wierszach) nie różnią się między sobą statystycznie istotnie przy  $\alpha = 0,05$

Mean values followed by the same capital letter (vertically) and little letter (horizontally) do not differ at 5% level of significance

Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała istotny wpływ dodatku KA na zawartość związków fenolowych w sokach. Dodatek do miazgi owocowej KA w ilości 200 i  $400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  gruszek ograniczał degradacją kwasów p-hydroksybenzoesowego i chlorogenowego w sokach. Zawartość (-)epikatechiny i kwasu synapinowego była



istotnie wyższa przy dawce 200 mg·kg<sup>-1</sup> gruszek w porównaniu z sokiem kontrolnym tj. bez dodatku KA, zaś zwiększenie dodatku KA do ilości 400 mg·kg<sup>-1</sup> nie wpłynęło istotnie na zawartość tych związków w sokach. Natomiast na poziom kwasu p-kumarowego istotny wpływ obserwowano dopiero w sokach z dodatkiem KA w ilości 400 mg·kg<sup>-1</sup> gruszek. Podsumowując, można stwierdzić, że dodatek KA ograniczał degradacją związków fenolowych zachodzącą podczas tworzenia miazgi.

Wyniki dotyczące zmian zawartości związków fenolowych w czasie przechowywania soków wskazują, że po 36 tygodniach przechowywania soków pozostało w nich średnio od 5 do 68% początkowej zawartości badanych polifenoli. Po 3 tygodniach przechowywania soków stwierdzono istotne zmniejszenie poziomu kwasów p-hydroksybenzoesowego, p-kumarowego i synapinowego. Warto dodać, że po tym okresie przechowywania w sokach bez dodatku KA nie wykryto obecności kwasu synapinowego. Przechowywanie soków przez 6 tygodni wpłynęło istotnie na spadek poziomu kwasu p-hydroksybenzoesowego. Natomiast zawartość pozostałych kwasów i epikatechiny w sokach nie uległa istotnej zmianie. Zawartość kwasu chlorogenowego i epikatechiny uległa istotnej zmianie dopiero po 12 tygodniach przechowywania, w stosunku do początkowej zawartości tych związków w sokach bezpośrednio po produkcji. Po kolejnych 24 tygodniach przechowywania zaobserwowano istotne zmniejszenie zawartości kwasu p-kumarowego, a po 36 tygodniach kwasu chlorogenowego i synapinowego. Przyczyną strat zawartości kwasów fenolowych i epikatechiny w czasie przechowywania soków mogły być procesy chemicznego utleniania i związana z tym polimeryzacja i kondensacja utlenionych związków. Obserwowane straty tych związków są podobne do tych, jakie podają źródła literaturowe [2, 6, 7, 11, 12, 19, 20].

## Wnioski

1. W naturalnie mętnych sokach z gruszek odmiany Konferencja stwierdzono występowanie kwasów: p-hydroksybenzoesowego, chlorogenowego, p-kumarowego, synapinowego oraz (-)epikatechiny.
2. Zastosowanie dodatku kwasu L-askorbinowego w sposób istotny wpłynęło na ograniczenie degradacji zawartości kwasu p-hydroksybenzoesowego i kwasu chlorogenowego w sokach.
3. Podczas przechowywania soków obserwowano zmniejszenie zawartości omawianych związków. Po 36 tygodniach przechowywania soków pozostało w nich średnio od 5 do 68% początkowej zawartości badanych polifenoli.
4. Analiza związków fenolowych może być przydatna do charakteryzowania soków gruszkowych oraz do wykrywania zafałszowań soków otrzymanych z półproduktów.

### Literatura


- [1] Czapski J.: Technologia produkcji soków owocowych i warzywnych. Mat. Międzyn. Symp. "Fruit and Vegetable Juices and Drinks – Today and in the XXI Century", Rytro 1999, s. 139-147.
- [2] Chobot R.: Stabilizacja soków jabłkowych naturalnie mętnych przez obróbkę mechaniczną i techniczną moszczu. Przem. Spoż., 1985, **37 (9)**, 409-411.
- [3] Cliff M., Dever M.: Characterisation of varietal apple juice. Can Inst. Food Sci. Technol. J., 1990, **23 (4/5)**, 217-222.
- [4] Cliff M., Dever M.C., Gayton R.: Juice extraction process and apple cultivar influence on juice properties. J. Food Sci., 1991, **56 (6)**, 1614-1617, 1627.
- [5] Cornwell C.J., Wrolstad R.E.: Causes of browning in pear juice concentrate during storage. J. Food Sci., 1981, **46**, 515-518.
- [6] Dever M.C., Cliff M., Vento L.: Effect of apple storage on quality of non-oxidative juice. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 1991, **24 (5)**, 252-258.
- [7] Gasik A., Horubała A., Kubicz E.: Wpływ dodatku przeciwutleniaczy do miazgi jabłkowej na zawartość związków fenolowych w sokach. Przem. Spoż., 1991, **5/6**, 140-142.
- [8] Horubała A.: Pojemność przeciwutleniająca i jej zmiany w procesach przetwarzania owoców i warzyw. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1999, **3**, 30-31.
- [9] Lozano J.E., Drudis-Biscarri R., Ibarz-Ribas A.: Enzymatic browning in apple pulps. J. Food Sci., 1994, **59 (3)**, 564-567.
- [10] Markowski J.: Wybrane czynniki warunkujące jakość naturalnie mętnych soków jabłkowych. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1997, **10**, 37-39.
- [11] Markowski J., Plocharski W.: Determination of phenolic compounds in apples and processed apple products. J. Fruit Ornament Plant Res. Special ed., 2005, 93-104.
- [12] Markowski J.: Some parameters affecting quality and stability of cloudy apple juice. Fruit Proc., 1998, **7**, 277-282.
- [13] Mitek M., Kalisz S.: Współczesne poglądy na właściwości przeciwutleniające soków owocowych i warzywnych. Przem. Spoż., 2003, **5**, 37-39.
- [14] Oszmiański J., Sożyński J.: Wpływ sposobu otrzymywania soku jabłkowego na zawartość polifenoli i barwę. Zesz. Nauk. AR Wrocław, Technol. Żywności, 1981, **136 (2)**, 57-62.
- [15] Oszmiański J.: Soki naturalnie mętne - dobry kierunek w przetwórstwie jabłek. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2006, **2**, 20-22
- [16] PN-90/A-75101/04. Produkty spożywcze. Oznaczanie zawartości witaminy C.
- [17] Roig MZ.S., Kennedy J.F.: L-ascorbic acid: an overview. Int. J. Food Nutr., 1993, **44**, 59-72.
- [18] Sapers G.M., Hicks K.B., Philips J.B., Garzarella L., Pondish D.L., Matulaitis R.M., McCormack T.J., Sondey S.M., Seib P.A., El-Ataway Y.S.: Control of enzymatic browning in apple with ascorbic acid derivatives poluphenol oxidase inhibitors, and complexing agent. J. Food Sci., 1989, **54 (4)**, 997-1002.
- [19] Spanos G.A., Wrolstad R.E., Hestherbell D.A.: Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. J. Agric. Food Chem., 1990, **38**, 1572-1579.
- [20] Spanos G.A. i Wrolstad R.E.: Influence of variety, maturity, processing, and storage on the phenolic composition of pear juice. J. Agric. Food Chem., 1990, **38**, 817-824.
- [21] Spanos G.A. i Wrolstad R.E.: Influence of processing and storage on the phenolic composition of thompson seedless grape juice. J. Agric. Food Chem., 1990, **38**, 1565-1571.
- [22] Tanriöven D., Ekşi A.: Phenolic compounds in pear juice from different cultivars. Food Chem., 2005, **93**, 89-93.

**EFFECT OF ADDITION L-ASCORBIC ACID IN PULP ON POLYPHENOLS CONTENT  
IN PEARS JUICES****S u m m a r y**

The aim of the study was evaluating the effects of addition L-ascorbic acid in pulp on polyphenols content in pear juices.

The materials for the study involves samples of fruit juice obtained from pear cultivar Conference. The pears were harvested at commercial maturity. The steps involved in the processing of the raw material are picking, washing, filtering, grinding (with addition ascorbic acid 0, 200, 400 mg·kg<sup>-1</sup> pears), pressing, bottling, seeding, pasteurisation and cooling (to 20°C) in order. After manufacturing juices were stored for 3, 6, 12, 24 i 36 weeks in temperature 20°C.

The phenolic content of pears juices using the HPLC technique were analyzed. The results indicated that p-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, (-)-epicatechin, p-cumaric acid, synapic acid. The study proved that the ascorbic acid dose influenced on increasing individual phenolic acid. Storage duration of pears juices resulted losses polyphenols content in juices.

**Key words:** cloudy pear juice, polyphenols, HPLC, ascorbic acid 

MONIKA KOSMALA, KRZYSZTOF KOŁODZIEJCZYK

## PROCYJANIDYNY NAJPOPULARNIEJSZYCH W POLSCE DESEROWYCH ODMIAN JABŁEK

### Streszczenie

W etanolowych ekstraktach 7 deserowych odmian jabłek (Jonagold, Cortland, Lobo, Idared, Gloster, Champion, Elstar) oznaczono zawartość głównych flawan-3-oli jabłek: epikatechiny, procyanidyn: B1, B2, C i procyanidyn oligomerycznych. Oznaczenia wykonano metodą RP-HPLC. Przeprowadzono również oznaczenia spektrofotometryczne sumy zawartości: polifenoli metodą Folina-Ciocalteu'a oraz sumy zawartości procyanidyn metodą testu wanilinowego.

Ogólna zawartość procyanidyn w miąższu jabłek wyniosła od 258 do 631 mg/kg (HPLC) w tym: epikatechina 33–172 mg/kg, procyanidyna B1 4–47 mg/kg, procyanidyna B2 64–166 mg/kg, procyanidyna C 5–73 mg/kg i procyanidyny oligomeryczne 108–172 mg/kg. W miąższu suma polifenoli wyniosła od 407 do 643 mg/kg.

Skórka jabłek zawierała ogółem procyanidyn od 701 do 1445 mg/kg, w tym: epikatechina 156–400 mg/kg, procyanidyna B1 14–74 mg/kg, procyanidyna B2 185–369 mg/kg, procyanidyna C 97–213 mg/kg i procyanidyny oligomeryczne 211–459 mg/kg. Suma polifenoli zawartych w skórce wyniosła od 1573 do 2850 mg/kg. Jabłka odmiany Elstar scharakteryzowano jako najbogatsze w procyanidyny, zarówno w miąższu, jak i w skórce. Wykazano, że skórka bogatsza jest w procyanidyny w porównaniu z miąższem. Wykazano dobrą korelację między wynikami otrzymanymi metodą testu wanilinowego i metodą HPLC do oznaczania procyanidyn w miąższu i jadalnych częściach jabłek.

**Słowa kluczowe:** procyanidyny, jabłka, HPLC, test wanilinowy

### Wprowadzenie

Polifenole to wtórne metabolity roślin wytwarzane zarówno podczas fizjologicznego rozwoju, jak i w odpowiedzi na stres, którym może być promieniowanie słoneczne, susza, czy też atak patogenu. Polifenole w jabłkach składają się w ponad 50% z procyanidyn, pozostałą część stanowią glikozydy kwercetynowe, kwasy fenolowe i chalkony [8]. Procyanidyny, znane także jako taniny, odpowiadają za cierpki i gorzki smak owoców i warzyw [9].

---

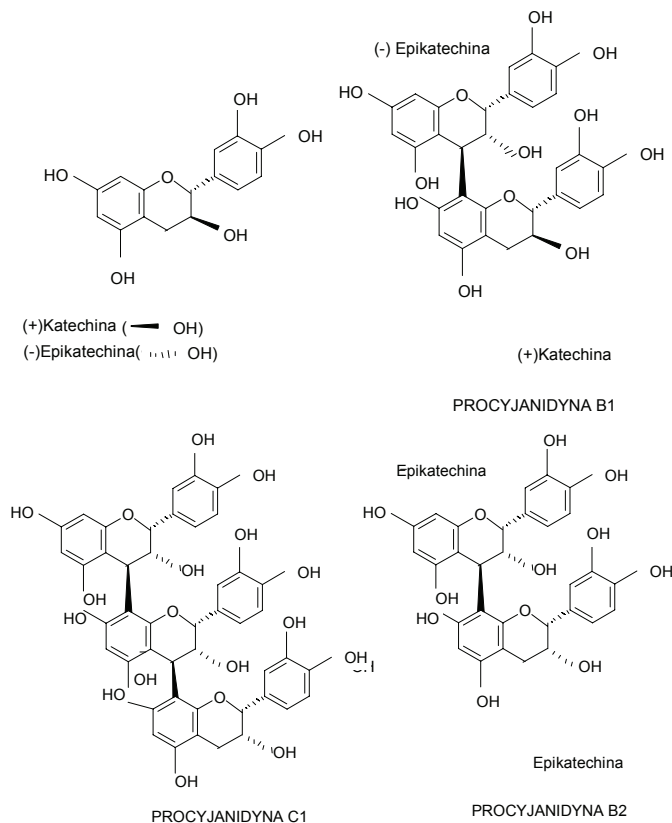
*Mgr inż. M. Kosmala, dr inż. K. Kołodziejczyk, Instytut Chemicznej Technologii Żywności, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź*

Procyjanidyny wykazują działanie przeciwutleniające, przeciwnowotworowe, zapobiegają chorobie niedokrwiennej serca, działają przeciwbakteryjnie (np. niszczą bakterie w układzie moczowym) [10], działają stymulująco na porost włosów, nie wykazując przy tym toksyczności [17]. Polifenole wykazują działanie przeciwutleniające poprzez terminację wolnych rodników i chelatowanie metali odpowiedzialnych za katalizowanie utleniania lipidów [3]. Chronią serce przed szkodliwym działaniem wolnych rodników, działają relaksacyjnie na wewnętrzne pierścienie aorty [1]. Prozdrowotne właściwości procyjanidyn przyczyniają się do ich coraz większego zastosowania jako dodatków diet [7].

Procyjanidyny występują w roślinach w formie oligomerów i polimerów o różnym stopniu polimeryzacji [9]. Od stopnia polimeryzacji zależą właściwości prozdrowotne procyjanidyn. Procyjanidyny w jabłkach stanowią głównie trzy dimery (rys. 1): procyjanidyna B1 składająca się z monomerów: epikatechiny i katechiny połączonych wiązaniem  $4\beta\rightarrow 8$ , procyjanidyna B2 (epikatechyna-( $4\beta\rightarrow 8$ )-epikatechyna), procyjanidyna B5 (epikatechyna-( $4\beta\rightarrow 6$ )-epikatechyna) oraz trimer C1 (epikatechyna-( $4\beta\rightarrow 8$ )-epikatechyna-( $4\beta\rightarrow 8$ )-epikatechyna) [6, 11]. Zawartość procyjanidyn, jak i innych polifenoli, zależy od odmiany i warunków uprawy, zwłaszcza od warunków nasłonecznienia [10]. Wpływ ma odmiana jabłoni część jabłka - w skórce znajduje się więcej glikozydów kwercetynowych, procyjanidyn, florydżyny, kwasu chlorogenowego niż w miąższu. Miąższ nie zawiera antocyjanów, a w nasionach znajduje się głównie florydżyna [2].

Doniesienia o zawartościach procyjanidyn w jabłkach są szczątkowe i zwykle nie obejmują odmian jabłek najpopularniejszych w naszym kraju. Poznanie szczegółowego składu procyjanidyn zawartych w odmianach jabłek umożliwi producentom i konsumentom wybranie jabłka o największej wartości prozdrowotnej. Dokonany w pracy podział jabłka na najchętniej konsumowaną część - miąższ i część często odrzucaną - skórkę umożliwi wykazanie, że skórka zawiera więcej procyjanidyn niż miąższ, co zachęci być może do spożywania jabłek ze skórką. Ze względu jednak na niechęć konsumentów do spożywania skórki, głównymi adresatami tej pracy powinni być producenci, którzy w trosce o dobro swoich klientów i jakość produktu będą wykorzystywać całe owoce do produkcji musów, dżemów czy soków. Producentom preparatów bogatych w fitozwiązki może również dostarczyć informacji potrzebnych do trafnego wyboru surowca o najwyższej zawartości polifenoli.

Celem pracy było oznaczenie w 7 najpopularniejszych w Polsce deserowych odmianach jabłek (Jonagold, Cortland, Lobo, Idared, Gloster, Champion, Elstar) głównych flawan-3-oli jabłek: epikatechiny, procyjanidyn: B1, B2, C i procyjanidyn oligomerycznych.



Rys. 1. Procyjanidyny występujące w jabłkach.

Fig. 1. Procyanidins contended in apples

### Material i metody badań

Do analiz użyto po 10 jabłek odmian: Jonagold, Cortland, Lobo, Idared, Gloster, Champion i Elstar, pochodzących z sadów Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach. Jabłka zakupiono w listopadzie 2005 roku, w sklepie firmowym w Dąbrowicach i poddano analizie.

#### Ekstrakcja

Po 3 jabłka (najmniejsze, średnie, największe) obierano ze skórki, odrzucano części niejadalne tj. ogonki i nasiona, każdy owoc osobno ważono. Ekstrakcji poddawano oddzielnie miąższ i skórkę (skórka stanowiła ok. 6-8% masy jabłka). Po 1/8 każdego jabłka (ok. 20 g miąższu) rozcierano w młynku z piaskiem kwarcowym (5 g – 3 ml) i ok. 30 ml 60% wodnego roztworu etanolu. W celu zmniejszenia enzymatycznego ciemnienia do roztworu etanolu dodawano 2 mmol/l  $\text{NH}_4\text{F}$ . Zawartość młynka rozcierano przez 5-7 min do uzyskania jednorodnej zawiesiny i przenoszono do kolby

miarowej o poj. 100 ml, uzupełniano do kreski roztworem etanolu i umieszczano na 10 min w łaźni ultradźwiękowej, następnie pozostawiano na 24 h w temperaturze pokojowej (23–25°C). Skórki w ilości ok. 10 g z 3 jabłek (po 1/3 z każdego jabłka) umieszczano w kolbie o poj. 250 ml ze szlifem, ekstrahowano roztworem 60% etanolu o objętości 150 ml i poddawano sonifikacji przez 10 min, pozostawiano na 24 h, ekstrakty przenoszono ilościowo do kolby o poj. 200 ml i uzupełniano roztworem etanolu. Po odwirowaniu w fiolkach, przy prędkości 9 x 10 rad/s, ekstrakty poddawano bezpośrednio analizie HPLC.

#### *Układ HPLC*

Kolumna RP firmy Phenomenex Synergi 4 µm Fussion-RP 80A (150 x 2,00 mm), detektor diodowy. Układ gradientowy; faza A – 0,05% kwas fosforowy w wodzie i faza B – 0,05% kwas fosforowy w acetonitrylu. Przepływ 0,25 ml/min, temp. 25°C. Gradient: stabilizacja przez 10 min z 4% B, 0–33 min, 4–50% B, 33–34 min – 50% B, 34–35 min – 4% B. Procyjanidyny oznaczano przy długości fali 280 nm, porównując czas retencji i widmo absorpcyjne. Zawartość procyjanidyn w ekstrakcie obliczano na podstawie wzorca epikatechiny.

#### *Oznaczenia spektrofometryczne*

W ekstraktach oznaczano sumę zawartości polifenoli metodą Folina-Ciocalteau'a [4] oraz sumę zawartości procyjanidyn metodą testu wanilinowego [12] w 2 powtórzeniach.

#### *Metoda Folina-Ciocalteau'a*

W kolbkach o poj. 25 ml umieszczano 0,5 ml ekstraktu, dodawano 0,25 ml odczynnika Folina-Ciocalteau'a oraz 2,5 ml 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dopełniano wodą do kreski i mieszano. Inkubację prowadzono w temp. pokojowej przez 20 min. Absorbancję roztworów mierzono przy długości fali 720 nm. Sumę zawartości polifenoli przeliczano na epikatechinę.

#### *Test wanilinowy*

W dwóch próbkach umieszczano po 1 ml ekstraktu. Do jednej próbki dodawano 2,5 ml metanolu (próba zerowa A<sub>0</sub>), do drugiej roztwór 1% waniliny w metanolu (przygotowany bezpośrednio przed analizą) A<sub>S</sub>. Do obu próbek dodawano po 2,5 ml 9 mol/l HCL w metanolu i mieszano. Do każdej serii pomiarów przygotowywano próby odczynnikowe. Próba odczynnikowa A<sub>A</sub> składała się z 3,5 ml metanolu i 2,5 ml 9 mol/l HCL w metanolu, próba odczynnikowa A<sub>B</sub> składała się z 1 ml metanolu, 2,5 ml 1% waniliny w metanolu i 2,5 ml 9 mol/l HCL w metanolu. Inkubację prowadzono przez 20 min w temp. 30°C. Absorbancję mierzono przy długości fali 500 nm. Sumę zawartości procyjanidyn wyliczano według wzoru :  $A = (A_S - A_A) - (A_B - A_0)$ .

Wyniki badań poddano jednoczynnikowej analizie wariancji przy użyciu statystycznego programu ANOVA.

### Wyniki i dyskusja

Zawartość poszczególnych procyanidyn oraz ich sumy w miąższu i skórce jabłek, oznaczone metodą HPLC, zamieszczono w tab. 1., a w tab. 2. przedstawiono

Tabela 1

Zawartość procyanidyn w miąższu i w skórce jabłek różnych odmian, oznaczona metodą HPLC.  
The contents of procyanidins in apple flesh and in apple peel of different varieties, measured by HPLC method.

Odmiana jabłek Apple variety	Zawartość procyanidyn w miąższu / Procyanidins content in flesh					
	Monomery Monomers [mg/kg]	B1 [mg/kg]	B2 [mg/kg]	C1 [mg/kg]	Oligomery(tetr+) Oligomers(tetr+) [mg/kg]	ΣPC [mg/kg]
Champion	102 ± 1 <sup>a</sup>	4 ± 1 <sup>a</sup>	97 ± 1 <sup>a</sup>	5 ± 1 <sup>a</sup>	137 ± 5 <sup>a</sup>	346 ± 10 <sup>a</sup>
Cortland	117 ± 1 <sup>b</sup>	51 ± 1 <sup>b</sup>	126 ± 1 <sup>b</sup>	55 ± 2 <sup>b</sup>	163 ± 3 <sup>a</sup>	514 ± 8 <sup>a</sup>
Elstar	172 ± 1 <sup>c</sup>	47 ± 1 <sup>c</sup>	166 ± 3 <sup>c</sup>	73 ± 1 <sup>c</sup>	172 ± 4 <sup>a</sup>	631 ± 13 <sup>a</sup>
Gloster	61 ± 1 <sup>d</sup>	35 ± 1 <sup>d</sup>	91 ± 2 <sup>d</sup>	38 ± 1 <sup>d</sup>	136 ± 5 <sup>a</sup>	360 ± 13 <sup>a</sup>
Idared	33 ± 1 <sup>e</sup>	21 ± 4 <sup>e</sup>	56 ± 4 <sup>e</sup>	26 ± 1 <sup>e</sup>	122 ± 4 <sup>a</sup>	258 ± 14 <sup>a</sup>
Jonagold	49 ± 1 <sup>f</sup>	13 ± 2 <sup>f</sup>	64 ± 3 <sup>f</sup>	32 ± 1 <sup>f</sup>	120 ± 6 <sup>a</sup>	277 ± 13 <sup>a</sup>
Lobo	65 ± 1 <sup>g</sup>	39 ± 1 <sup>g</sup>	88 ± 2 <sup>g</sup>	42 ± 1 <sup>g</sup>	108 ± 4 <sup>a</sup>	343 ± 10 <sup>a</sup>
Zakres / Range	33 - 172	4 - 51	56 - 166	5 - 73	108 - 172	258 - 631
Zawartość procyanidyn w skórce / Procyanidins content in peel						
Champion	156 ± 2 <sup>a</sup>	52 ± 4 <sup>a</sup>	185 ± 4 <sup>a</sup>	97 ± 1 <sup>a</sup>	211 ± 9 <sup>a</sup>	701 ± 13 <sup>a</sup>
Cortland	235 ± 3 <sup>b</sup>	42 ± 1 <sup>b</sup>	252 ± 2 <sup>b</sup>	136 ± 2 <sup>bc</sup>	221 ± 4 <sup>a</sup>	887 ± 12 <sup>b</sup>
Elstar	400 ± 5 <sup>c</sup>	68 ± 2 <sup>c</sup>	369 ± 3 <sup>c</sup>	213 ± 1 <sup>a</sup>	395 ± 3 <sup>b</sup>	1445 ± 15 <sup>c</sup>
Gloster	214 ± 1 <sup>d</sup>	21 ± 3 <sup>d</sup>	255 ± 2 <sup>b</sup>	138 ± 3 <sup>b</sup>	252 ± 2 <sup>c</sup>	880 ± 11 <sup>b</sup>
Idared	396 ± 2 <sup>c</sup>	54 ± 3 <sup>a</sup>	358 ± 5 <sup>d</sup>	200 ± 2 <sup>a</sup>	366 ± 2 <sup>d</sup>	1375 ± 15 <sup>e</sup>
Jonagold	219 ± 1 <sup>e</sup>	14 ± 2 <sup>e</sup>	204 ± 4 <sup>e</sup>	131 ± 3 <sup>c</sup>	237 ± 1 <sup>e</sup>	804 ± 9 <sup>f</sup>
Lobo	323 ± 2 <sup>f</sup>	74 ± 1 <sup>f</sup>	287 ± 2 <sup>f</sup>	174 ± 4 <sup>da</sup>	459 ± 5 <sup>f</sup>	1317 ± 14 <sup>g</sup>
Zakres / Range	156 - 400	14 - 74	185 - 369	97 - 213	211 - 395	701 - 1445

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Monomery to epikatechina i katechina, B1, B2 - procyanidyny dimeryczne, C1 - trimer, oligomery powyżej trimerów, ΣPC - suma procyanidyn;

Monomers - epicatechin and catechin; B1, B2-dimeric procyanidins, C1 - trimer, oligomers over trimers, ΣPC - total procyanidins;

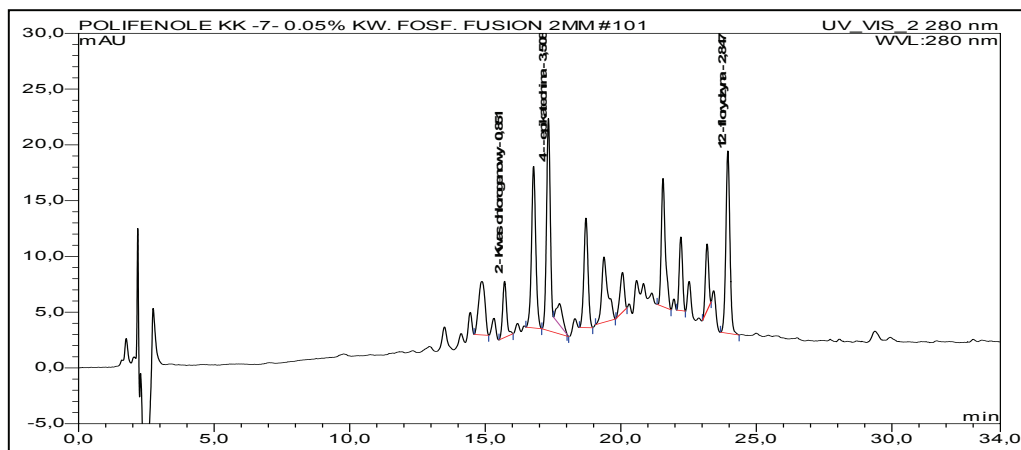
<sup>a,b,c</sup> - wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w kolumnie nie różnią się statystycznie istotnie  $\alpha = 0,05$ ;

<sup>a,b,c</sup> - mean values marked by the same letter in the column are not statistically significantly different at  $\alpha = 0.05$ .



wyniki uzyskane metodami spektrofotometrycznymi wraz z oznaczeniem zawartości sumy polifenoli. Przykładowy chromatogram HPLC przedstawiono na rys. 2.

W miąższu badanych jabłek, w zależności od odmiany, suma zawartości procyanidyn wyniosła od 258 do 631 mg/kg (HPLC), w tym: epikatechina stanowiła 33–172 mg/kg, procyanidyna B1 4–47 mg/kg, procyanidyna B2 64–166 mg/kg, procyanidyna C1 5–73 mg/kg i procyanidyny oligomeryczne 108–172 mg/kg. Odmiana jabłek wpływała także na sumę zawartości procyanidyn w skórce, która zawierała się w granicach od 701 do 1445 mg/kg, w tym: epikatechina 156–400 mg/kg, procyanidyna B1 14–74 mg/kg, procyanidyna B2 185–369 mg/kg, procyanidyna C1 97–213 mg/kg i procyanidyny oligomeryczne 211–459 mg/kg. W skórce suma zawartości polifenoli wyniosła 1573–2850 mg/kg, a suma zawartości procyanidyn 1231–2377 mg/kg, w zależności od odmiany.



Rys. 2. Chromatogramy ekstrakstu ze skórki jabłka odmiany Elstar. Między 15 a 20 minutą oznaczono mieszaninę procyanidyn.

Fig. 2. Extract chromatograms of Elstar apple variety (peel). Between 15-20 minute mixture of procyanidins was indicated.

Spośród badanych jabłek owoce odmiany Elstar scharakteryzowano jako najzabsobniejsze w procyanidyny (tab. 1, rys. 2), co oznaczono zarówno w miąższu, jak i w skórce. Z kolei jabłka odmiany Idared zawierały najmniej procyanidyn w miąższu, ale dość dużo w skórce. W jabłkach odmiany Cortland stwierdzono zrównoważoną zawartość procyanidyn w miąższu i w skórce (tab. 1). Uzyskane wyniki w małym stopniu możliwe są do porównania z danymi literaturowymi, gdyż te w większości nie dotyczą odmian jabłek najpopularniejszych w Polsce, lecz raczej odmian występujących w zachodniej Europie. Co więcej, zawartość polifenoli zależy od położenia owocu w koronie jabłoni, warunków uprawy czy nasłonecznienia [2].

Awad i wsp. [2] przebadali odmiany jabłek Jonagold, Elstar oraz mutantów odmiany Elstar: Elshof i Red Elstar. W skórce owoców odmiany Jonagold oznaczyli oni katechinę (epikatechinę i katechinę) na poziomie 0,80–0,90 mg/g s.s., tj. ~ 112–126 mg/kg s.s. (przy założeniu, że średnia zawartość suchej substancji w jabłkach wynosi 14%), w skórce odmiany Elstar na poziomie 1,83–1,88 mg/g s.s., tj. ~ 256–263 mg/kg, w skórce odmiany Elshof na poziomie 1,84 - 2,27 mg/g s.s., tj. ~ 258–318 mg/kg i w skórce odmiany Red Elstar na poziomie 1,74–1,87 mg/g s.s., tj. ~ 244–262 mg/kg. Według ww. autorów średnia zawartość procyanidyn w miąższu wynosiła 0,37 mg/g s.s., tj. ~ 60 mg/kg. Zacytowane dane liczbowe są porównywalne z wynikami niniejszej pracy w odniesieniu do jabłek odmian Elstar i Jonagold uprawianych w Polsce. Z badań własnych wynika (tab. 1), że w skórce wszystkich badanych jabłek stwierdzono więcej flawan-3-oli niż w miąższu, co potwierdzają publikacje Pearsona i Tana [13] oraz Gu'a i wsp. [8]. Pierwsi autorzy w jabłku odmiany Red Delicious metodą HPLC oznaczyli tych związków, z podziałem na skórkę i miąższ, odpowiednio 2075,6 i 352,8 mg/kg w tym flawan-3-oli 654,3 i 192,6 mg/kg. Według Gu'a i wsp. [8], w jabłkach Red Delicious, Golden Delicious, Granny Smith, Gala, Fuji zawartość procyanidyn wynosiła od 69 do 141 mg/100 g świeżego jabłka. Dla porównania, autorzy ekstrahowali jabłka całe i bez skórki, uzyskując zawartość procyanidyn w jabłku całym o 12–21% większą niż w obranym. Metodą NP-HPLC oznaczyli również poszczególne grupy flawan-3-oli, uzyskując monomery w ilości 4,1–7,9 mg/100 g, dimery 9,4–15 mg/100g i trimery 5,8–9,3 mg/100 g, pozostała ilość stanowiły oligomery.

W tab. 2. przedstawiono zawartość procyanidyn oznaczonych metodą testu wanilinowego oraz zawartość polifenoli ogółem, oznaczoną metodą Folina-Ciocalteu'a z podziałem na skórkę i miąższ jabłka, ponadto w tab. 3. przedstawiono stosunek zawartości procyanidyn oznaczonych metodą HPLC i testem wanilinowym w miąższu, skórce i części jadalnej jabłek. Oznaczenie zawartości polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteu'a miało na celu wskazanie udziału procyanidyn w ogólnej sumie polifenoli (tab. 2, rys. 2).

W skórce oznaczono zawartość procyanidyn w zakresie od 1152 do 2308 mg/kg, a polifenoli w zakresie od 1451 do 2695 mg/kg. W miąższu zawartość procyanidyn wahała się od 256 do 577 mg/kg, a zawartość polifenoli od 407 do 636 mg/kg. Wyniki te są zbieżne z danymi literaturowymi. Pearson i Tan [13] w jabłkach odmiany Red Delicious oznaczyli polifenole metodą Folina-Ciocalteu'a z podziałem na skórkę i miąższ uzyskując wyniki odpowiednio 1845 i 430 mg/kg.

Tani i szybki test wanilinowy jest odpowiednią metodą do oznaczania sumy zawartości procyanidyn zwłaszcza w miąższu i w całym jabłku, co wykazano wysoką korelacją wyników spektrofotometrycznych i HPLC (tab. 3). Przydatność testu wanilinowego potwierdzają wyniki badań uzyskane przez Escarpę i Gonzaleza [6]. Metoda HPLC umożliwia jednak oznaczenie poszczególnych flawan-3-oli i z tego względu

może być stosowana jako metoda odniesienia. Metoda RP-HPLC ma jednak pewne ograniczenia w wykrywaniu i oznaczaniu procyjanidyn oligomerycznych ze względu na ich właściwości adhezyjne. Dlatego niższy współczynnik korelacji oznaczenia procyjanidyn metodą HPLC w porównaniu z wynikami testu wanilinowego może wskazywać na większy udział procyjanidyn oligomerycznych w skórce [12].

Tabela 2

Zawartość polifenoli w miąższu oraz w skórce jabłek różnych odmian, oznaczona metodami spektrofotometrycznymi: testem wanilinowym – suma zawartości procyjanidyn i metodą Folina-Ciocalteu'a – suma zawartości polifenoli.

The contents of polyphenols measured by spectrophotometric methods: by vanilin test - sum of content of procyjanidins and by Folin-Ciocalteu method - sum of content of polyphenols in flesh and apple peel of different varieties.

Odmiana jabłek Apple variety	Miąższ Flesh		Skórka Peel	
	$\Sigma$ PC VT [mg/kg]	$\Sigma$ PF FC [mg/kg]	$\Sigma$ PC VT [mg/kg]	$\Sigma$ PF FC [mg/kg]
Champion	346 ± 25 <sup>a</sup>	497 ± 4 <sup>a</sup>	1355 ± 63 <sup>a</sup>	1451 ± 46 <sup>a</sup>
Cortland	577 ± 69 <sup>b</sup>	623 ± 27 <sup>b</sup>	1975 ± 35 <sup>b</sup>	1570 ± 82 <sup>b</sup>
Elstar	56 ± 6 <sup>b</sup>	636 ± 30 <sup>b</sup>	2308 ± 96 <sup>c</sup>	1990 ± 72 <sup>c</sup>
Gloster	377 ± 62 <sup>ac</sup>	478 ± 41 <sup>a</sup>	1655 ± 63 <sup>d</sup>	1772 ± 30 <sup>d</sup>
Idared	457 ± 50 <sup>c</sup>	643 ± 11 <sup>b</sup>	1404 ± 28 <sup>a</sup>	2695 ± 43 <sup>e</sup>
Jonagold	256 ± 26 <sup>d</sup>	407 ± 20 <sup>d</sup>	1152 ± 111 <sup>e</sup>	1639 ± 67 <sup>b</sup>
Lobo	374 ± 58 <sup>ac</sup>	550 ± 38 <sup>e</sup>	1382 ± 10 <sup>a</sup>	2595 ± 35 <sup>f</sup>
Zakres / Range	256 - 577	407 - 636	1152 - 2308	1451 - 2695

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\Sigma$ PC VT - suma procyjanidyn oznaczona metodą testu wanilinowego / sum of procyjanidins by vanilin test  
 $\Sigma$ PF FC – suma zawartości polifenoli oznaczona metodą Folina-Ciocalteu'a / sum of content of polyphenols by Folin-Ciocalteu metod;

<sup>a,b,c</sup> - wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w kolumnie nie różnią się statystycznie istotnie  $\alpha = 0,05$ ;

<sup>a,b,c</sup> – mean values marked by the same letter in the column are not statistically significantly different at  $\alpha = 0.05$ .

Na rys. 3. przedstawiono wyniki zawartości procyjanidyn metodą HPLC, metodą testu wanilinowego oraz sumy polifenoli metodą Folina-Ciocaltea w przeliczeniu na jadalną część jabłka. Wyniki obliczono na podstawie danych tab. 1. i 2. z uwzględnieniem wyznaczonego doświadczalnie udziału skórek w całkowitej masie jabłka danej odmiany. Zawartość procyjanidyn w jadalnej części jabłek zawierała się w zakresie od 330 do 678 mg/kg, z użyciem metody HPLC, i od 426 do 704 mg/kg w teście wanilinowym, zawartość sumy polifenoli mieściła się w zakresie od 573 do 807 mg/kg.

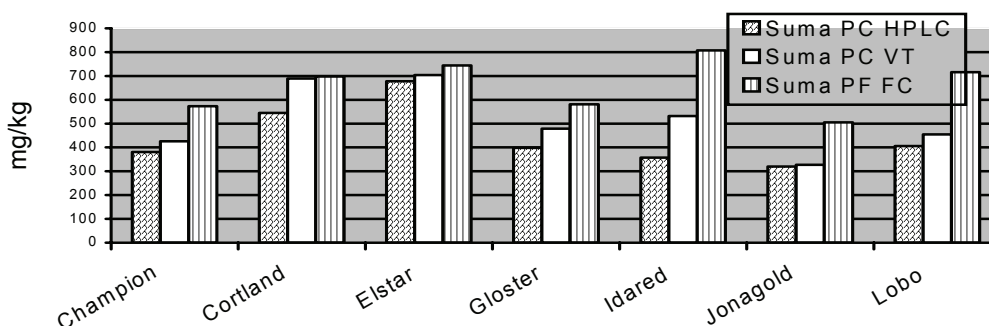
Tabela 3

Stosunek zawartości procyanidyn oznaczonych techniką HPLC i testem wanilinowym w miąższu, skórce i części jadalnej jabłek.

Procyanidins contents rate measured by HPLC to procyanidins contents measured by vanillin test in flesh, peel and edible part of apple.

Odmiana jabłek Apple variety	Miąższ Flesh	Skórka Peel	Część jadalna jabłka Edible part of apple
	$\Sigma$ PC HPLC/ $\Sigma$ PC VT	$\Sigma$ PC HPLC/ $\Sigma$ PC VT	$\Sigma$ PC HPLC/ $\Sigma$ PC VT
Champion	1,0	0,48	0,89
Cortland	0,89	0,45	0,89
Elstar	1,17	0,63	0,79
Gloster	0,95	0,53	0,96
Idared	0,56	0,98	0,83
Jonagold	1,08	0,70	0,67
Lobo	0,92	0,95	0,82
Wartość średnia Mean value	1,0	0,63	0,85

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



Rys. 3. Zawartość procjanidyn oznaczona metodą HPLC i metodą testu wanilinowego oraz zawartość sumy polifenoli oznaczona metodą Folina-Ciocalteau'a w przeliczeniu na jadalną część jabłka.

Fig. 3. The contents of procyanidins measured by HPLC and by vanillin test with the contents of total polyphenols measured by Folin-Ciocalteau method calculated on edible part of apple.

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

Znaczny udział w sumie zawartości polifenoli w jabłkach mają procyanidyny (rys. 2). Wyniki te potwierdzają dane uzyskane przez innych autorów. Lotito i Frei [10] oznaczyli zawartość polifenoli w jabłkach deserowych: Red Delicious, Granny Smith i Fuji metodą Folina-Ciocalteau'a, uzyskując odpowiednio 1760, 1160, 990 mg/kg świeżego

jabłka. De Pascual-Teresa i wsp. [4] metodą HPLC oznaczyli katechiny w ilości od 90 do 4200 mg/kg świeżego jabłka w jabłkach odmiany przemysłowej Reinette oraz odmianach deserowych: Red Delicious, Granny Smith i Golden. Pearson i Tan [13] w całym jabłku odmiany Red Delicious oznaczyli metodą Folina-Ciocalteu'a polifenole na poziomie 710 mg/kg, a metodą HPLC na poziomie 482,4 w tym procyanidyny 228,2 mg/kg.

### Wnioski

1. Procyanidyny stanowiły główną grupę polifenoli badanych jabłek deserowych.
2. Zawartość procyanidyn, a także suma zawartości polifenoli w skórce była 2-3 razy większa niż w miąższu, w związku z czym wskazane jest spożywanie jabłek ze skórką, względnie wykorzystywanie skórek lub całych jabłek jako surowca do otrzymywania fitozwiązków.
3. Spośród przebadanych jabłek odmiana Elstar zawierała najwięcej polifenoli, w tym najwięcej procyanidyn.
4. Wyniki oznaczania procyanidyn w jabłkach, zwłaszcza w miąższu, testem wanilinowym i metodą HPLC wykazały dużą zbieżność.

*Analizy wykonano z funduszy projektu badawczego PBZ-KBN-094/P06/2003*

### Literatura

- [1] Aldini G., Carini M., Piccoli A.: Procyanidins from grape seeds protect endothelial cells from peroxynitrite damage and enhance endothelial cells from peroxynitrite damage and enhance endothelium-dependent relaxation in human artery: new evidences for cardio-protection. *Life Sci.*, 2003, **73**, 2883-2898.
- [2] Awad M.A., De Jager A., van Westing L. M.: Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. *Scientia Horticulturae*, 2000, **83**, 249-263.
- [3] Correia R.T. P., McCue P.: Production of phenolic antioxidants by solid-state bioconversion of pineapple waste mixed with soy flour using *Rhizopus oligosporus*. *Process Biochem.*, 2004, **39** 2167-2172.
- [4] De Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C.: Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish food stuffs and beverages. *J. Nutr.*, 2000, **129**, 1662-1668.
- [5] Escarpa A., Gonzalez M.C.: High-performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties. *J. Chromatogr. A*, 1998, **823**, 331-337.
- [6] Escarpa A., Gonzalez M.C.: Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*, 2001, **427**, 119-127.
- [7] Foo L. Y., Lu Y.: Isolation and identification of procyanidins in apple pomace. *Food Chem.*, 1999, **64**, 511-518.
- [8] Gu L. Kelm M. Prior R.L.: Concentration of proanthocyanidins in common foods and estimation of normal consumption. *J. Nutr.*, 2004, **134**, 3 ProQuest Agric. J.

- [9] Kahle K., Kraus M., Richling E.: Polyphenol profiles of apple juices. *Mol.Nutr.Food Res.*, 2005, **49**, 797-806.
- [10] Lotito S. B., Frei B.: Relevance of apple polyphenols as antioxidant in human plasma: contrasting *in vitro* and *in vivo* effects. *Free Radic. Biol. Med.*, 2004, **36 (2)**, 201-211.
- [11] Markowski J., Płocharski W.: Zawartość związków fenolowych i aktywność antyoksydacyjna handlowych soków jabłkowych. XXXV Sesja Nauk. KNoŻ, Łódź 21-22 IX 2004, s. 42-43.
- [12] Nakamura Y., Tsuji S.: Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. *J. Health Sci.*, 2003, **49 (1)**, 45-54.
- [13] Pearson D.A., Tan C.H.: Apple juice inhibits human low density lipoprotein oxidation. *Life Sci.*, 1999, **64 (21)**, 1913-1920.
- [14] Prior R.L., Gu L.: Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in American diet. *Phytochem.* 2005, **66**, 2264-2280.
- [15] Shibusawa Y., Yanagida A.: High-speed counter-current chromatography of apple procyanidins. *J. Chromatogr. A*, 2000, **886 (1-2)**, 65-73.
- [16] Shoji T., Mutsuga M.: Isolation and structural elucidation of some procyanidins from apple by low-temperature nuclear magnetic resonance. *J.Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 3806-3813.
- [17] Takahashi T., Yokoo Y., Inoue T.: Toxicological studies on procyanidin B-2 for external application as a hair growth agent. *Food Chem. Toxicol.*, 1999, **37**, 545-552.


## PROCYANIDINS IN THE MOST POPULAR IN POLAND DESSERT APPLE VARIETIES

### Summary

The contents of major flavan-3-ols: epicatechin, procyanidins: B1, B2, C, oligomeric procyanidins in ethanol extracts of 7 dessert apple varieties (Jonagold, Cortland, Lobo, Idared, Gloster, Champion, Elstar) was measured. The measurement was performed by RP-HPLC. Spectrophotometric measurements of total polyphenols by Folin-Ciocalteu method and total procyanidins by vanillin test method were also performed.

The contents of total procyanidins in apple flesh was on level 258-631 mg/kg (HPLC), including epicatechin 33-172 mg/kg, procyanidin B1 4-47 mg/kg, procyanidin B2 64-166 mg/kg, procyanidin C1 5-73 mg/kg and oligomeric procyanidins 108-172 mg/kg. For apple flesh the total polyphenols ranged 407-643 mg/kg.

For apple peel the total procyanidins ranged 701-1445 mg/kg, including epicatechin 156-400 mg/kg, procyanidin B1 14-74 mg/kg, procyanidin B2 185-369 mg/kg, procyanidin C 97-213 mg/kg and oligomeric procyanidins 211-459 mg/kg. For apple peel the total polyphenols ranged from 1573 to 2850 mg/kg. Elstar variety was characterized as the richest in procyanidins, both in apple flesh and in peel. Apple peel was shown to be richer in procyanidins than apple flesh. Good correlation between vanillin test and HPLC method for quantifying procyanidins in flesh and in edible part of apple was established.

**Key words:** procyanidins, apple, HPLC, vanillin test 

HANNA KOWALSKA

## KINETYKA OSMOTYCZNEGO ODWADNIANIA DYNI

### Streszczenie

Kostki dyni odmiany Melonowa Żółta w kształcie prostopadłościanu o wymiarach 5 x 50 x 50 mm odwadniano osmotycznie w roztworach sacharozy i syropu skrobiowego w temp. 30, 50 i 80°C. Czas odwadniania wynosił od 0 do 180 min. Proces prowadzono w dyfuzorze umożliwiającym przepływ roztworu osmotycznego w stałej temperaturze. Równolegle prowadzono odwadnianie osmotyczne dyni w temp. 30 i 50°C z zastosowaniem wstępnej obróbki termicznej poprzez 3-minutowe zanurzenie w wodzie o temp. 80°C.

Zawartość i ubytki wody w dyni odwadnianej osmotycznie w roztworze sacharozy zależały od temperatury i rodzaju substancji osmotycznej oraz w niewielkim stopniu od wstępnej obróbki termicznej. W przypadku zastosowania roztworu syropu skrobiowego tylko próbki dyni odwadniane w temp. 80°C różniły się istotnie pod względem zawartości wody od próbek odwadnianych w temp. 30 i 50°C. Największe wartości stosunku ubytku wody do przyrostu masy suchej substancji odnotowano podczas osmotycznego odwadniania dyni w temp. 30°C bez wstępnej obróbki termicznej.

**Słowa kluczowe:** odwadnianie osmotyczne, dynia, ubytek wody, wnikanie substancji osmotycznej

### Wprowadzenie

Zastosowanie zjawiska odwadniania osmotycznego w przetwarzaniu żywności wynika z potrzeby polepszania cech jakościowych produktu. Proces ten może być stosowany jako jeden z etapów produkcji żywności przy wykorzystaniu różnych surowców roślinnych [9, 11, 12].

Wielu autorów analizowało kinetykę odwadniania osmotycznego owoców i warzyw [1, 4, 5, 7]. Zakres temperatury 20-50°C uznano za najwłaściwszy dla tego procesu, szczególnie przy produkcji żywności mało przetworzonej. Działanie temp. wyższej od 50°C powoduje utratę właściwości półprzepuszczalnych przez błony komórkowe i zakłócenia procesu osmozy. Podwyższenie temperatury wpływa znacząco na kinetykę odwadniania osmotycznego oraz skład chemiczny i właściwości produktu końcowego. Jednocześnie wyższa temperatura powoduje straty składników odżywczych (np. wita-

min), zmiany struktury, niszczenie błon komórkowych, utratę selektywności i wzrost ilości substancji osmotycznej wnikażącej do wnętrza tkanki [7, 8].

Przedłużenie okresu trwałości oraz jakości produktu końcowego można uzyskać przy zastosowaniu odpowiednich parametrów odwadniania osmotycznego. Zastosowanie syropu skrobiowego jako roztworu osmotycznego może doprowadzić do znacznego zmniejszenia zawartości wody w surowcu. Jednocześnie przyrost masy substancji osmotycznej jest ograniczony w porównaniu z zastosowaniem innych roztworów osmotycznych. Przetrzywanie surowców roślinnych w roztworze sacharozy, charakteryzującej się mniejszą masą cząsteczkową, wpływa na większe zmniejszenie zawartości wody, ale jednocześnie większe jest również wnikanie substancji osmotycznej do odwadnianego materiału [4, 5].

Dynia jest cenionym surowcem pod względem składu chemicznego i znajduje zastosowanie z uwagi na wykorzystanie nasion i części miąższowej (przeciery, marynaty, dżemy) [2, 3]. Charakteryzuje się dość wysoką zawartością składników odżywczych takich, jak:  $\beta$ -karoten, witamina C i mniejsze ilości witaminy E, B<sub>6</sub>, tiaminy, ryboflawiny, niacyny oraz składników mineralnych, m.in. potas, wapń, fosfor i mniejsze ilości sodu, magnezu, żelaza, cynku, miedzi [6]. Do tej pory opublikowano niewiele prac dotyczących jej suszenia lub odwadniania osmotycznego. Ze względu na walory żywieniowe istnieje potrzeba prowadzenia badań dotyczących odwadniania osmotycznego dyni w celu opracowania technologii w małym stopniu przetwarzających ten surowiec, który nie może być przechowywany przez dłuższy okres.

Celem pracy było określenie kinetyki odwadniania osmotycznego dyni w zależności od temperatury i rodzaju substancji osmotycznej oraz wstępnej obróbki termicznej.

### **Material i metody badań**

Z dyni odmiany Melonowa Żółta wycinano prostopadłościany o wymiarach 5 x 50 x 50 mm (tylko część miąższowa) i odwadniano osmotycznie w roztworach sacharozy i syropu skrobiowego o równoważniku glukozowym DE wynoszącym 30-35. Stężenia roztworów osmotycznych odpowiadały aktywności wody 0,9. Proces prowadzono w dyfuzorze umożliwiającym przepływ roztworu osmotycznego w stałej temp. 30, 50 i 80°C. Czas odwadniania wynosił od 0 do 180 min. Równolegle prowadzono odwadnianie osmotyczne dyni w temp. 30 i 50°C z zastosowaniem wstępnej obróbki termicznej (blanszowania) poprzez 3-minutowe zanurzenie w wodzie o temp. 80°C.

Badania przeprowadzono w trzech powtórzeniach przy zastosowaniu tych samych warunków odwadniania osmotycznego.

Oznaczano zawartość suchej masy metodą suszarkową w suszarce komorowej [10].

Szczegółowe badania dotyczyły analizy:

- zmian zawartości wody (u) [g/g s.m.] opisanej równaniem:



$$u = a + b \exp\left(\frac{-\tau}{c}\right) \quad (1)$$

- ubytków wody (U) [g/g p.s.m.] i wnikania substancji osmotycznej (S) [g/g p.s.m.] wyrażonych równaniem:

$$U(S) = a(1 - \exp(-\tau \cdot b)) \quad (2)$$

gdzie:  $a$ ,  $b$ ,  $c$  – parametry równania,

$\tau$  – czas odwadniania osmotycznego [min].

Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu komputerowego Microsoft Excel, Table curve (Jandel Scientific) oraz Statgraphics Plus. Wyniki opracowano statystycznie przeprowadzając wieloczynnikową analizę wariancji (Multifactor ANOVA) i sprawdzono efekty współdziałań pomiędzy parami cech na podstawie określenia najmniejszej istotnej różnicy (NIR). Wnioskowanie statystyczne przeprowadzono na poziomie istotności  $\alpha=0,05$ .

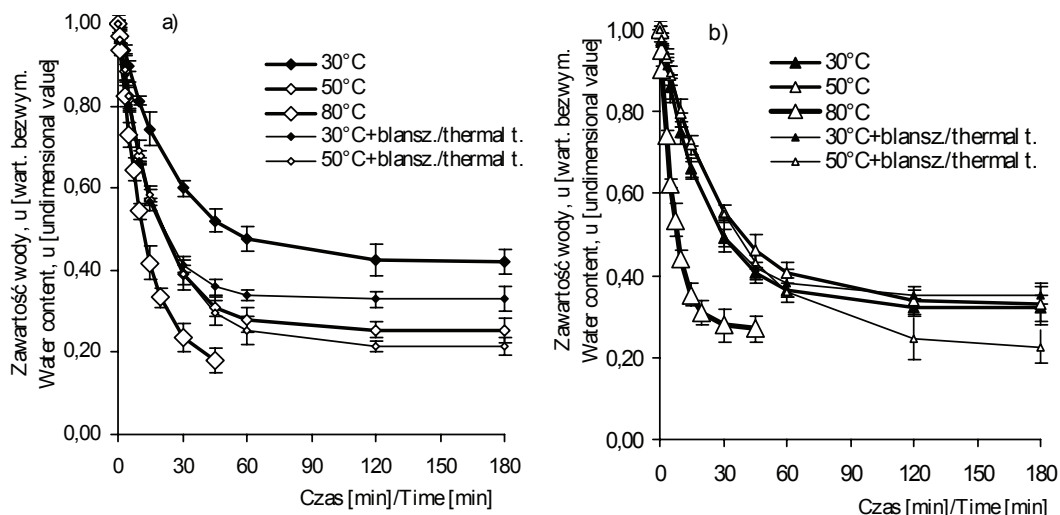
### Wyniki i dyskusja

Zawartość wody w dyni odwadnianej osmotycznie w roztworze sacharozy zależała od obróbki termicznej, temperatury oraz rodzaju substancji osmotycznej (rys. 1a, 1b). Podobne zależności wykazano w badaniach Mayor i wsp. [9] dotyczących odwadniania osmotycznego dyni w roztworach soli (NaCl).

Wstępna obróbka termiczna spowodowała większe, o około 30 i 15%, zmniejszenie zawartości wody w dyni odwadnianej osmotycznie przez 180 min w roztworze sacharozy, odpowiednio w temp. 30 i 50°C (rys. 1a). Podwyższenie temperatury z 30 do 80°C wpłynęło na uzyskanie statystycznie istotnych różnic jej zawartości od około 0,52 i 0,30 do 0,18 g/g s.m. w surowcu odwadnianym przez 45 min w roztworze sacharozy (rys. 1a).

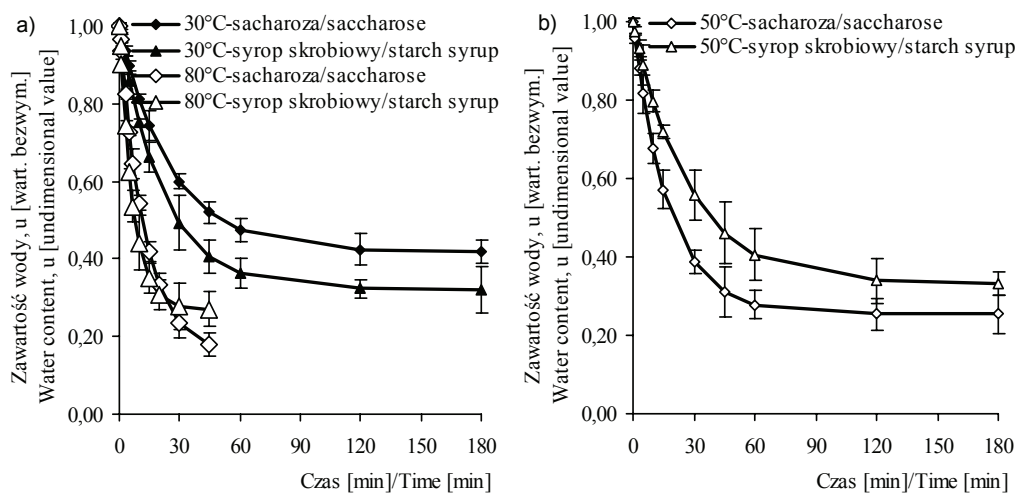
Zastosowanie temp. 30 i 50°C oraz wstępnej obróbki termicznej nie miało wpływu na zmiany zawartości wody w dyni odwadnianej w roztworze syropu skrobiowego (rys. 1b), ale w temp. 80°C zawartość wody w odwadnianym surowcu była znacząco niższa w porównaniu z odwadnianiem w temp. 30 i 50°C (rys. 1b). Równocześnie stwierdzono, że dynia odwadniana osmotycznie w roztworze syropu skrobiowego w temp. 30 i 50°C charakteryzowała się o około 25-30% mniejszą zawartością wody w porównaniu z odwadnianiem w roztworze sacharozy (rys. 2a i 2b). Natomiast w temp. 80°C wartości te były porównywalne (rys. 2a).

Ubytki wody w dyni odwadnianej w roztworze sacharozy zależały w sposób istotny statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) od temperatury procesu (rys. 2a). Po 45 min jej osmotycznego odwadniania w temp. 30, 50 i 80°C ubytki te wynosiły odpowiednio 1,69; 2,85 i 5,26 g/g p.s.m. Nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic pomiędzy ubytkami wody w surowcu odwadnianym ze stosowaniem wstępnej obróbki termicznej i bez niej. Przy zastosowaniu tej obróbki uzyskano tylko nieznacznie większe ubytki wody w dyni (rys. 2a).



Rys. 1. Wpływ temperatury i obróbki termicznej na kinetykę odwadniania osmotycznego dyni w roztworze: a) sacharozy, b) syropu skrobiowego.

Fig. 1. The effect of temperature and thermal treatment on osmotic dehydration of pumpkin kinetic in: a) sucrose solution, b) starch syrup solution.

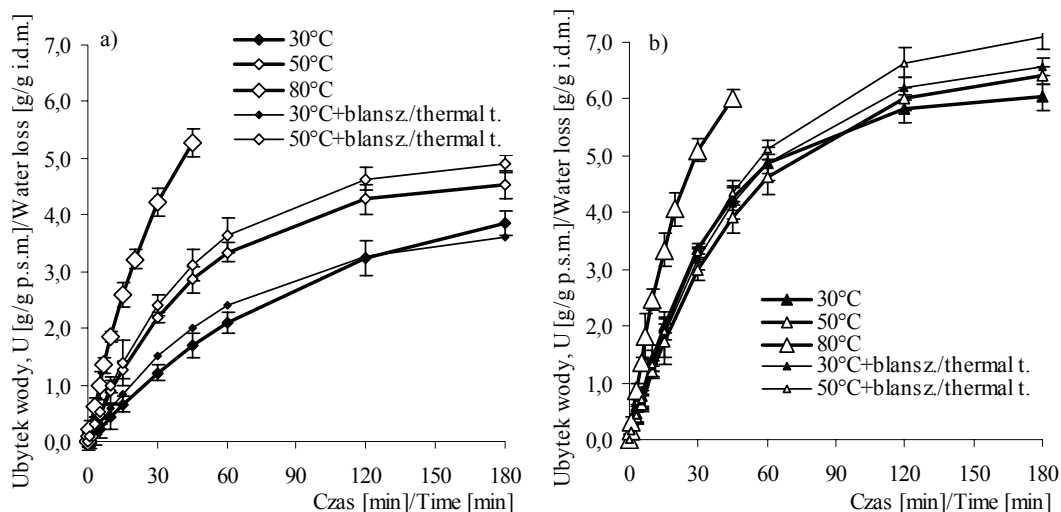


Rys. 2. Wpływ rodzaju substancji osmotycznej na kinetykę odwadniania osmotycznego dyni: a) w temperaturze 30 i 80°C; b) 50°C.

Fig. 2. The kind of osmotic substance effect on osmotic dehydration of pumpkin kinetic: a) at temperature 30 and 80°C; b) 50°C.

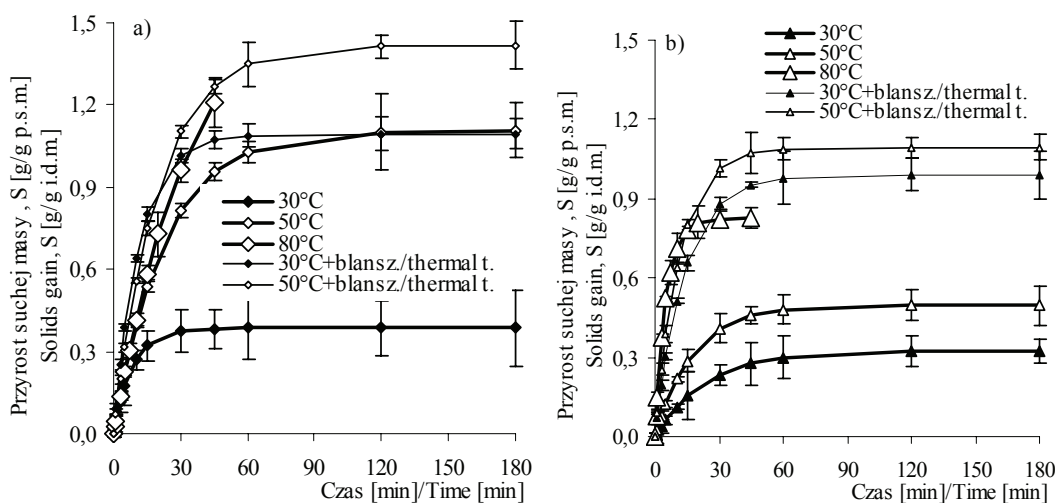
Nie stwierdzono wpływu temp. w zakresie do 50°C i wstępnej obróbki termicznej na ubytki wody w dyni odwadnianej w roztworze syropu skrobiowego (rys. 2b). Natomiast zastosowanie w tym procesie temp. 80°C wpłynęło istotnie statystycznie

( $p \leq 0,05$ ) na zwiększenie ubytków wody w porównaniu z jej ubytkami w niższej temperaturze.



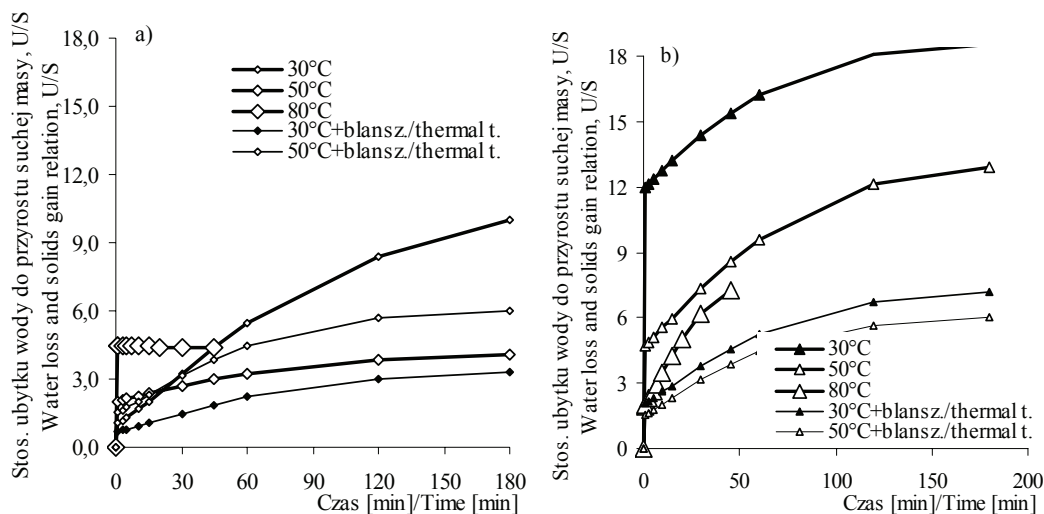
Rys. 3. Wpływ temperatury i obróbki termicznej na kinetykę odwadniania osmotycznego dyni w roztworze: a) sacharozy, b) syropu skrobiowego.

Fig. 3. The effect of temperature and thermal treatment on osmotic dehydration of pumpkin kinetic in: a) sucrose solution, b) starch syrup solution.



Rys. 4. Wpływ temperatury i obróbki termicznej na kinetykę odwadniania osmotycznego dyni w roztworze: a) sacharozy, b) syropu skrobiowego.

Fig. 4. The effect of temperature and thermal treatment on osmotic dehydration of pumpkin kinetic in: a) sucrose solution, b) starch syrup solution.



Rys. 5. Wpływ temperatury i obróbki termicznej na kinetykę odwadniania osmotycznego dyni w roztworze: a) sacharozy, b) syropu skrobiowego.

Fig. 5. The effect of temperature and thermal treatment on osmotic dehydration of pumpkin kinetic in: a) sucrose solution, b) starch syrup solution.

Zaobserwowano również istotny wpływ rodzaju substancji osmotycznej na ubytki wody dyni (rys. 3a, 3b). Dynia odwadniana przez 45 min w temp. 80°C w roztworze syropu skrobiowego wykazywała około 15% większe ubytki wody w porównaniu z zastosowaniem roztworu sacharozy, a w temp. 30°C różnice te były około 2,5-krotnie większe. Zbliżone zależności uzyskano w badaniach Lewickiego i wsp. [8] oraz Kowalskiej i Lenarta [4].

Na przyrost masy suchej substancji w dyni w największym stopniu miała wpływ temperatura i zastosowanie wstępnej obróbki termicznej (rys. 4). Jednocześnie zaobserwowano, że jej przyrost w największym stopniu następował na początku odwadniania osmotycznego (do około 60 min), po czym zmieniał się nieznacznie. Podczas odwadniania osmotycznego badanego surowca przez 45 min w roztworze sacharozy przyrost masy suchej substancji ulegał zwiększeniu wraz z podwyższaniem temperatury i był ponad 2,5- i 3-krotnie większy odpowiednio w temp. 50 i 80°C w porównaniu z odwadnianiem w temp. 30°C (rys. 4a). Zastosowanie wstępnej obróbki termicznej spowodowało rozluźnienie tkanki dyni, a tym samym blisko 3-krotne zwiększenie wnikania do niej substancji osmotycznej dyni w procesie odwadniania przez 45 min w temp. 30°C. W temp. 50°C wpływ obróbki termicznej był mniejszy, ale również statystycznie istotny.

Odwadnianie osmotyczne dyni w roztworze syropu skrobiowego w temp. 30 i 50°C (rys. 4b) spowodowało uzyskanie bardziej zbliżonych wartości przyrostu masy suchej substancji i wynosiły one około 0,27 i 0,46 g/g p.s.m., podczas gdy w temp.

80°C były około 2-3,5-krotnie większe. Podobnie wstępna obróbka termiczna wpłynęła na 2-3-krotnie większy przyrost masy suchej substancji w dyni odwadnianej w roztworze syropu skrobiowego niż w próbkach odwadnianych bez obróbki termicznej.

Stosunek ubytku wody do przyrostu masy suchej substancji w badanym materiale był znacznie większy przy zastosowaniu roztworu syropu skrobiowego (12- i 18-krotnie większy odpowiednio w temp. 50 i 30°C po 180 min odwadniania) w porównaniu z zastosowaniem roztworu sacharozy (4- i 10-krotnie większy odpowiednio w temp. 50 i 30°C) (rys. 5a, 5b). Wykazano przy tym negatywny wpływ obróbki termicznej na stosunek ubytku wody do przyrostu masy suchej substancji w odwadnianej dyni (był tylko od 3- do 7-krotnie większy). Największe wartości tego wskaźnika stwierdzono przy zastosowaniu temp. 30°C i obu roztworów osmotycznych, a najmniejsze w dyni poddawanej obróbce termicznej i odwadnianej w roztworze syropu skrobiowego w temp. 30 i 50°C. W badaniach Kowalskiej i Lenarta [4] wykazano, że ubytek wody w dyni w kształcie kostek o boku 10 mm odwadnianej w roztworze sacharozy w temp. 30°C przez 180 min był 5-10-krotnie większy w odniesieniu do przyrostu masy suchej substancji.

### Wnioski

1. Zawartość i ubytki wody w dyni odwadnianej osmotycznie w roztworze sacharozy zależy od temperatury i rodzaju substancji osmotycznej oraz w niewielkim stopniu od wstępnej obróbki termicznej.
2. Zastosowanie temperatury 30 i 50°C oraz wstępnej obróbki termicznej nie ma wpływu na zmiany zawartości i ubytki wody w dyni odwadnianej w roztworze syropu skrobiowego, ale w temperaturze 80°C zawartość jej jest o około 51-70% mniejsza niż w niższej temperaturze.
3. Przyrost masy suchej substancji w czasie odwadniania osmotycznego dyni zależy od temperatury i wstępnej obróbki termicznej oraz w mniejszym stopniu, ale istotnym statystycznie, od rodzaju substancji osmotycznej.
4. Zastosowanie roztworu syropu skrobiowego do osmotycznego odwadniania dyni wpływa na uzyskanie większych wartości stosunku ubytku wody do przyrostu masy suchej substancji w porównaniu z odwadnianiem w roztworze sacharozy. Największe wartości stosunku ubytku wody do przyrostu masy suchej substancji odnotowano przy zastosowaniu temperatury 30°C.

### Literatura

- [1] Cerkowniak M, Lenart A.; Kinetyka odwadniania osmotycznego jabłek oraz układu modelowego, *Mat. XXVII Sesji Nauk. KTiChŻ PAN, Szczecin 1996*, s. 98-103.
- [2] Chang Bon Choi, Yong Kon Park, Yoon Han Kang, Mee Weon Park: Effects of pumpkin powder on chemically induced stomach and mammary cancers in Sprague-Dawley rats, *J. Korea Society Food Sci. Nutr.* 1998 **27** (5), 973-979.

- [3] Dąbrowski A., Gałązka J., Zalewski S.: Technological properties, nutritional value and storage properties of new pumpkin varieties, *Acta Alimentaria Polonica*, 1989 **15** (2), 153-159.
- [4] Kowalska H., Lenart A.: The influence of plant tissue structure on osmotic dehydration, 12th Int. Drying Symp. (IDS'2000), Netherlands 2000, paper, nr 242.
- [5] Kowalska H., Lenart A.: Mass exchange during osmotic pretreatment of vegetables, *J. Food Eng.* 2001, **49** (2/3), 137-140.
- [6] Kuchanowicz H., Nadolna L., Przygoda B., Iwanow K.: Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych. *Prace IŻŻ*, 1998, **85**, 434.
- [7] Lenart A., Lewicki P.P., Karandys S.: Kinetic of osmotic dehydration of pumpkin, *Proc. of the Fifth Seminar Properties of Water in Foods*, eds. Lewicki P.P., Wyd. SGGW. Warszawa 1993, pp. 129-143.
- [8] Lewicki P.P., Kowalska H., Lenart A.: Effect of temperature on mass transfer during osmotic dehydration of plant tissue. *Proc. of Industrial Seminar, Industrial Application of Osmotic Dehydration Treatments of Food*, Bertinoro, Italy 1998, pp. 44-50.
- [9] Mayor L., Moreira R., Chenlo F., Sereno A.M.: Kinetics of osmotic dehydration of pumpkin with sodium chloride solutions, *J. Food Eng.* 2006, **74**, 253-262.
- [10] PN-90/A-75101.03: Przetwory owocowe i warzywne. Oznaczenie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [11] Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S., Niranjan K., Knorr D.: Recent developments in osmotic dehydration: methods to enhance mass transfer, *Trends in Food Sci. Technol.*, 2002, (13) **2**, 48-59.
- [12] Soliva-Fortuny R.C., Belloso O.M.: New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Sci. Technol.* 2003, **14**, 341-353.

#### KINETIC OF OSMOTIC DEHYDRATION OF PUMPKIN

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

Osmotic dehydration of pumpkin v. Melonowa Żółta by 5 x 50 x 50 mm in shape of plate was carried out in the diffuser enabling the flow of osmotic solution and constant temperature. Solutions of saccharose and starch syrup at temperature 30, 50 and 80°C were applied to this process. Time of osmotic dehydration of pumpkin was changed since 0 to 180 min. Simultaneously before osmotic dehydration of pumpkin at 30 and 50°C was preliminary thermal treatment for 3 minutes immersion in water at temperature 80°C.

The water content and water loss from osmo-dehydrated pumpkin in saccharose solution was depended from temperature and kind of osmotic substance as well as in small stages from preliminary thermal processing.

There was no temperature and thermal treatment effect on pumpkin during osmotic dehydration in starch syrup solution at 30-50°C temperature range; the differences were appeared in comparison 80°C only. The highest value of water loss to solids gain relation was noted down in osmo-dehydrated pumpkin in starch syrup solution at temperature 30°C without of preliminary thermal treatment.

**Key words:** osmotic dehydration, pumpkin, water loss, solids gain ☒

MAŁGORZATA KOWALSKA, AGNIESZKA GÓRECKA,  
KRZYSZTOF ŚMIECHOWSKI, KRZYSZTOF KRYGIER

## FIZYCZNA STABILNOŚĆ EMULSJI NISKOTŁUSZCZOWEJ W ZALEŻNOŚCI OD ZASTOSOWANYCH HYDROKOLOIDÓW

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu wielkości dodatku, rodzaju oraz układu zastosowanych hydrokoloïdów na stabilność niskotłuszczowych emulsji majonezowych. Przebadano pięć emulsji niskotłuszczowych różniących się ilością i rodzajem użytego hydrokoloïdu. Wielkość cząstek emulsji oznaczono w spektrometrze laserowym. Pomiar lepkości pozornej emulsji wykonywano przy użyciu reometru rotacyjnego. Otrzymane wyniki wskazują na brak znaczącego wzrostu współczynnika dyspersji kuleczek tłuszczu w emulsjach w czasie ich przechowywania oraz brak znaczącego wzrostu średniej wielkości cząstek tłuszczu, co świadczy o tym, że niskotłuszczowe emulsje zawierające odpowiednio dobrane ilości i rodzaje hydrokoloïdów są stabilne w czasie ich przechowywania.

**Słowa kluczowe:** emulsja, lepkość, wielkość cząstek emulsji, hydrokoloïdy

### Wprowadzenie

Wysokie spożycie tłuszczu w krajach Unii Europejskiej przyczynia się do rozwoju wielu chorób, m.in. otyłości, chorób układu krążenia i chorób nowotworowych. Równolegle obserwuje się wzrost zainteresowania konsumentów żywnością niskotłuszczową, która przez amerykańską organizację Food and Drug Administration jest uznana za żywność funkcjonalną, ze względu na redukcję ryzyka wystąpienia ww. chorób.

Jednym z produktów, który ma swój niskotłuszczowy odpowiednik jest majonez. Majonez tradycyjny zawiera ok. 80% oleju roślinnego, a także żółtko jaja kurzego będące znaczącym źródłem cholesterolu. Redukcja zawartości tłuszczu lub całkowita jego eliminacja z produktu realizowana jest przez wprowadzenie do żywności nowych

---

*Dr inż. M. Kowalska, dr hab. K. Śmiechowski, prof. PR, Wydział Materialoznawstwa i Technologii Obuwia, Politechnika Radomska, ul. Chrobrego 27, 26-600 Radom, mgr inż. A. Górecka, prof. dr hab. K. Krygier, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, 02-787 Warszawa, ul. Nowoursynowska 156C*

składników, tzw. zamienników tłuszczu. Wśród zamienników węglowodanowych dużą grupę stanowią skrobie modyfikowane. Skrobie w formie natywnej mają ograniczone zastosowanie w przemyśle spożywczym. Nadanie im odpowiednich cech osiąga się przeprowadzając modyfikacje. Również często stosuje się do produkcji niskotłuszczowych emulsji gumę ksantanową i guar ze względu na ich bardzo dobre właściwości teksturotwórcze [2, 3, 5, 7, 10].

W przypadku emulsji bardzo ważnym zagadnieniem jest ich stabilność fizyczna podczas przechowywania. Emulsje często wykazują niestabilność koloidalną. Typowymi zjawiskami świadczącymi o ich niestabilności są flokulacja i koalescencja. Flokulacja jest to powstawanie dużych skupisk cząstek (agregacja cząstek), ale każda cząstka zachowuje swój film (otoczkę). Flokulacja może prowadzić do koalescencji – zlewania się cząstek fazy rozproszonej, a więc powstawania pojedynczych, nowych, większych cząstek [1, 6].

Jakość i stabilność emulsji w znacznej mierze uwarunkowana jest wielkością cząstek tłuszczu i ich rozkładem w emulsji. Na ww. cechy emulsji wpływ ma kilka czynników, m.in. bardzo dużą rolę odgrywają parametry homogenizacji, ale także właściwości fazy wodnej - jej skład oraz lepkość [4].

Pomiaru wielkości cząstek można dokonać za pomocą kilku metod. Obecnie jednak największe znaczenie mają metody polegające na pomiarze ekstynkcji bądź rozproszenia światła. W tym przypadku jest możliwe w krótkim czasie dokonanie wielokrotnego pomiaru występującego zjawiska, co znacznie podwyższa dokładność otrzymanych wyników. Szczególnie dynamiczny rozwój obserwuje się w odniesieniu do urządzeń pracujących na zasadzie ugięcia i rozproszenia światła laserowego [8, 9].

Celem pracy było określenie wpływu wielkości dodatku, rodzaju oraz układu zastosowanych hydrokolidów na stabilność niskotłuszczowych emulsji majonezowych.

### **Material i metody badań**

Material badawczy stanowiły niskotłuszczowe emulsje majonezowe zawierające następujące hydrokoloidy:

- hydroksypropylofosforan diskrobiowy (HFD) – Ultra-Tex 2000 firmy National Starch & Chemical - skrobia instant z kukurydzy woskowej stosowana m.in. do produkcji sosów metodą na zimno. Zalecany dodatek do produktów płynnych to 2-5%. Lepkość jej wodnego roztworu oznaczona wiskografem Brabendera wynosi: 1400 BU min (B113TR: 4,6% skrobi, 30°C + 10 min, pH 3), 1200 BU min (B113TR: 4,6% skrobi, 95°C, pH 3);
- sól sodowa oktenylobursztynianu skrobiowego (OSA) - N-Creamer 46 firmy National Starch & Chemical - skrobia instant z kukurydzy woskowej stosowana m.in. do produkcji sosów metodą na zimno. Nie ma właściwości silnie zagęszczających, podnoszących lepkość układu, ale jest szczególnie polecana do emulsji typu o/w ze



- względu na jej bardzo dobre właściwości emulgujące i stabilizujące tego typu układy. Zalecany dodatek zapewniający otrzymanie stabilnej emulsji to 0,5–2,5%;
- guma ksantanowa - masa cząsteczkowa ok.  $100 \cdot 10^4$  Da;
  - guma guar - masa cząsteczkowa  $50 \cdot 10^3$ – $800 \cdot 10^3$  Da.

Skład recepturowy niskotłuszczowych (5% tłuszczu) emulsji majonezowych (tab.1) opracowano na podstawie specyfikacji poszczególnych preparatów i danych z literatury.

Tabela 1

Skład niskotłuszczowych emulsji majonezowych [%].  
Composition of low fat mayonnaise emulsions [%].

Składniki / Components	Skład procentowy / Percentage composition				
	emulsja 1 emulsion 1	emulsja 2 emulsion 2	emulsja 3 emulsion 3	emulsja 4 emulsion 4	emulsja 5 emulsion 5
Benzoosan sodu / Sodium benzoate	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Woda / Water	84,8	82,8	81,8	81,3	81,3
Ocet 12% / Vinegar 12%	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Cukier / Sugar	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Sól / Salt	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
Musztarda / Mustard	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Olej / Oil	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
HFD / Hydroxypropyl distarch phosphate	3,0	5,0	5,0	5,0	5,0
OSA / Starch sodium octenyl succinate	-	-	1,0	1,0	1,0
Guma guar / Guar gum	-	-	-	0,5	-
Guma ksantanowa / Xsantan gum	-	-	-	-	0,5

Emulsje majonezowe otrzymywano w homogenizatorze próżniowym 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.

Wielkość cząstek tłuszczu w emulsji oznaczano w spektrometrze laserowym Mikrotrac FRA/UPA (produkcja Leed's & Northrup, USA). Oznaczanie wielkości cząstek wykonywano w ciągu 30 s. Na podstawie otrzymanych wyników wyliczono współczynnik dyspersji k.

$$k = a - b/c$$

gdzie: a – największa wielkość cząstki tłuszczu w 90% wszystkich cząstek,

b – największa wielkość cząstki tłuszczu w 10% wszystkich cząstek,

c – największa wielkość cząstki tłuszczu w 50% wszystkich cząstek.

Pomiar lepkości pozornej emulsji wykonywano przy użyciu reowiskozyometru Rheotest-2 Typ RV2 przy szybkości ścinania równej 0,3333 1/s.

Powyższe oznaczenia przeprowadzono po 24 h od wytworzenia emulsji. Po 4 tygodniach mierzono ponownie wielkość cząstek tłuszczu. Próbkę emulsji przechowywano w słoikach typu twist-off, bez dostępu światła, w temp. 25°C. Wykonano trzy serie pomiarów każdej emulsji.

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji przy użyciu programu Statgraphics 5.0.

### Wyniki i dyskusja

Niskotłuszczowe emulsje majonezowe wykazywały zróżnicowaną wielkość cząstek tłuszczu zarówno po 24 h od wytworzenia, jak i po 4 tygodniach testu przechowalniczego (tab. 2).

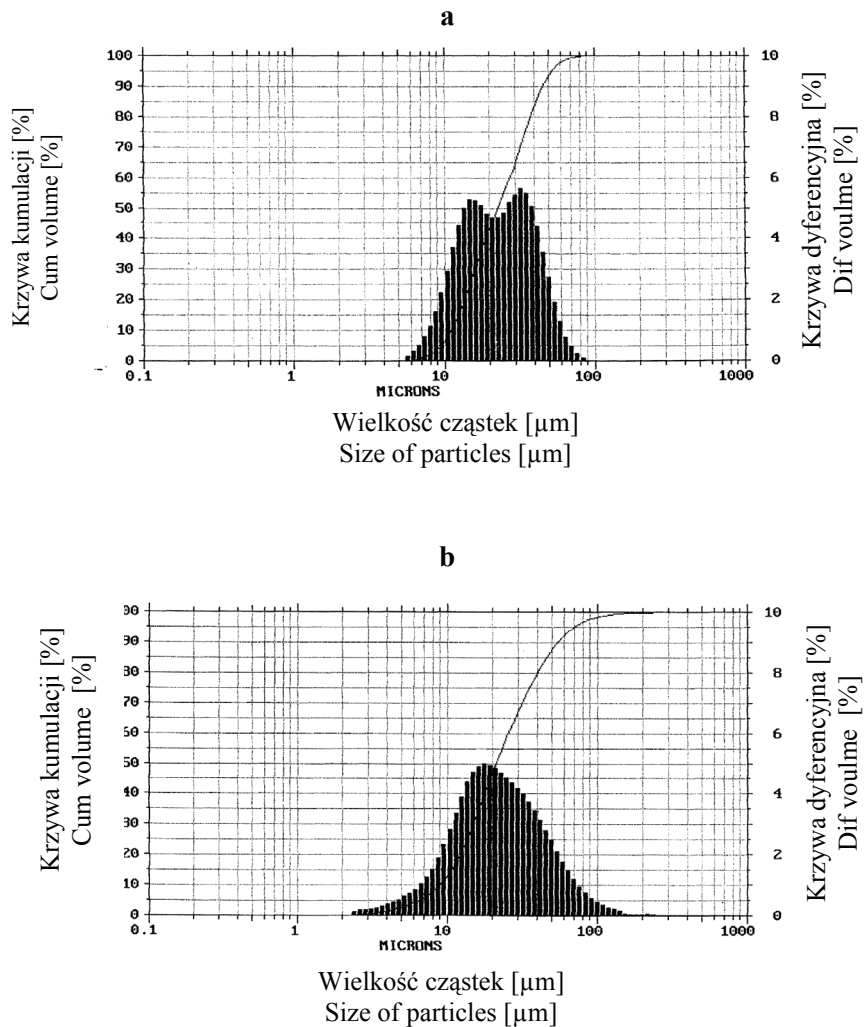
Tabela 2

Charakterystyka emulsji.  
Description of emulsions.

Emulsja - dodatek hydrokolidów Emulsion - hydrocolloids addition	Liczba frakcji Fraction number		Współczynnik dyspersji Dispersion index		Średnia wielkość cząstek tłuszczu [μm] Mean size of fat particle [μm]		Lepkość [Pa·s] Viscosity [Pa·s]
	po 24 h 24 h	po 4 tyg. 4 weeks	po 24 h 24 h	po 4 tyg. 4 weeks	po 24 h 24 h	po 4 tyg. 4 weeks	po 24 h 24 h
Emulsja 1 / Emulsion 1 HFD 3%	1	1	1,16 <sup>A</sup>	1,13 <sup>A</sup>	32,37 <sup>C</sup>	35,27 <sup>D</sup>	14,66 <sup>A</sup>
Emulsja 2 / Emulsion 2 HFD 5%	2	1	2,11 <sup>B</sup>	1,49 <sup>A</sup>	25,92 <sup>B</sup>	27,89 <sup>C</sup>	54,97 <sup>C</sup>
Emulsja 3 / Emulsion 3 HFD 5%, OSA 1%	3	3	3,76 <sup>C</sup>	3,48 <sup>B</sup>	18,58 <sup>A</sup>	21,98 <sup>A</sup>	40,31 <sup>B</sup>
Emulsja 4 / Emulsion 4 HFD 5%, OSA 1%, guar 0,5%	4	4	5,12 <sup>D</sup>	5,10 <sup>C</sup>	17,98 <sup>A</sup>	25,79 <sup>B</sup>	87,95 <sup>D</sup>
Emulsja 5 / Emulsion 5 HFD 5%, OSA 1%, ksantan 0,5%	1	2	1,46 <sup>A</sup>	1,29 <sup>A</sup>	36,46 <sup>D</sup>	39,00 <sup>E</sup>	234,53 <sup>E</sup>

Objaśnienie: / Explanatory note:

Wartości średnie badanych emulsji oznaczone tymi samymi literami nie różniły się statystycznie istotnie pomiędzy sobą. / The mean values of investigated emulsions which are designates by the same letters did not statistically significantly differ between each other.



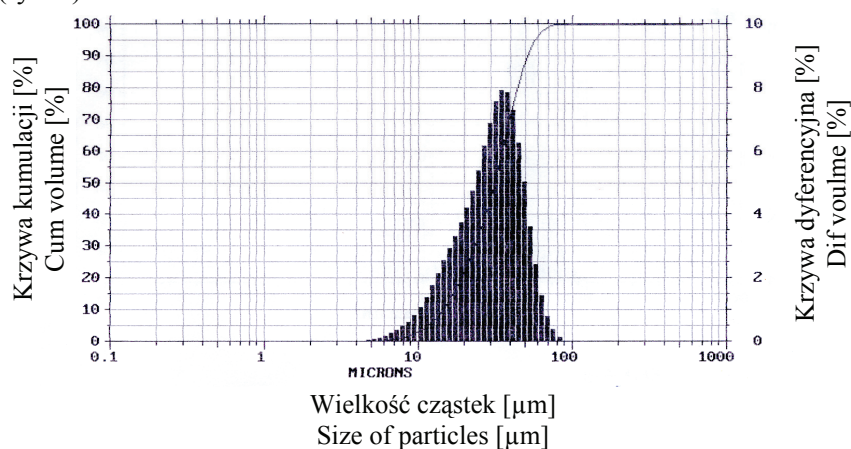
Rys. 1. Rozkład wielkości cząstek niskotłuszczowej emulsji majonezowej nr 2 (5% HFD): a) po 24 h od wytworzenia, b) po 4 tygodniach od wytworzenia

Fig. 1. Distribution of particle size of low fat mayonnaise emulsion no. 2 (5% HFD): a) after 24 hours from making, b) after 4 weeks from making

Jako emulsję wyjściową potraktowano emulsję nr 2 z dodatkiem 5% hydroksypropylofosforanu diskrobiowego (HFD). Średnia wielkość cząstek tej emulsji po 24 h od wytworzenia wynosiła 25,92  $\mu\text{m}$ , a po 4 tygodniach przechowywania wzrosła do 27,89  $\mu\text{m}$ , czyli o ok. 2  $\mu\text{m}$ . W tej emulsji 90% cząstek tłuszczu po 24 h od wytworzenia miało wielkość mniejszą niż 45,17  $\mu\text{m}$ , a po 4 tygodniach – mniejszą niż 53,89  $\mu\text{m}$ . Po 24 h od wytworzenia 50% cząstek tłuszczu miało wielkość mniejszą niż 22,82  $\mu\text{m}$ , a po 4 tygo-

dniach – mniejszą niż 21,25  $\mu\text{m}$  (rys. 1 a, b). W emulsji stwierdzono występowanie dwóch frakcji po 24 h i jednej frakcji po 4 tygodniach. Wartość współczynnika dyspersji świadczy o zróżnicowanych rozmiarach cząstek tłuszczu w emulsji. Im jego wartość jest większa tym cząstki tłuszczu są bardziej zróżnicowane pod względem wielkości, im mniejszy – tym cząstki tłuszczu są bardziej zbliżone do siebie pod względem wielkości. Współczynnik dyspersji emulsji z dodatkiem 5% HFD wynosił 2,11.

Emulsja nr 1 z dodatkiem 3% HFD charakteryzowała się wyższą średnią wielkością cząstek tłuszczu (32,37  $\mu\text{m}$ ) niż emulsja z dodatkiem 5% HFD. Emulsja ta charakteryzowała się niską lepkością – 14,66 Pa·s, co mogło sprzyjać szybkiemu łączeniu się cząstek tłuszczu zaraz po otrzymaniu emulsji, gdy w układzie zachodzą jeszcze bardzo intensywnie interakcje pomiędzy jego składnikami. Średnia wielkość cząstek tłuszczu tej emulsji po 4 tygodniach wzrosła do 35,27  $\mu\text{m}$ , czyli o ok. 3  $\mu\text{m}$ . W tym przypadku 90% cząstek tłuszczu po 24 h od wytworzenia miało wielkość mniejszą niż 51,17  $\mu\text{m}$ , a po 4 tygodniach – mniejszą niż 54,98  $\mu\text{m}$ . Po 24 h od wytworzenia 50% cząstek tłuszczu miało wielkość cząstek mniejszą niż 31,39  $\mu\text{m}$ , a po 4 tygodniach – mniejszą niż 34,04  $\mu\text{m}$ . W tej emulsji stwierdzono również występowanie tylko jednej frakcji cząstek tłuszczu zarówno po 24 h, jak i po 4 tygodniach od jej wytworzenia, a współczynnik dyspersji wynosił 1,16 po 24 h oraz 1,13 po 4 tygodniach od wytworzenia emulsji (rys. 2).

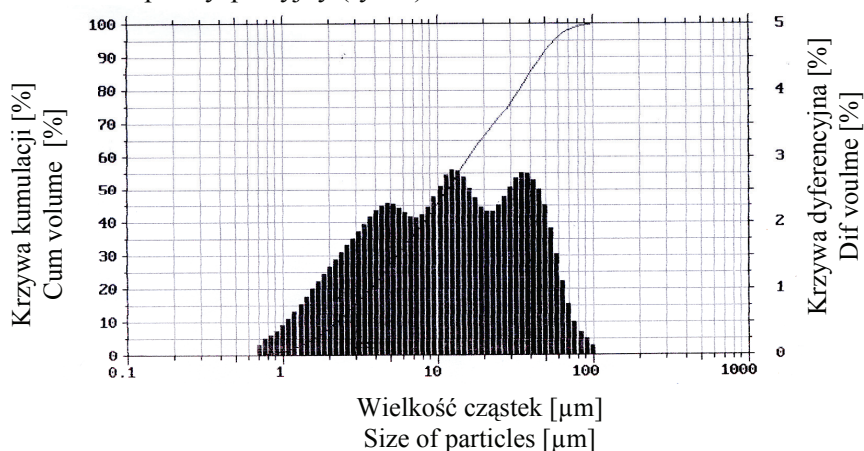


Rys. 2. Rozkład wielkości cząstek niskotłuszczowej emulsji majonezowej nr 1 (3% HFD) po 24 h od wytworzenia

Fig. 2. Distribution of particle size of low fat mayonnaise emulsion no. 1 (3% HFD) after 24 hours from making

Średnia wielkość cząstek emulsji nr 3 z dodatkiem 5% HFD i 1% OSA była stosunkowo mała i wynosiła 18,58  $\mu\text{m}$  po 24 h od wytworzenia. Wpływ na wielkość cząstek tłuszczu mógł mieć w tym przypadku dodatek skrobi - soli sodowej oktenylo-

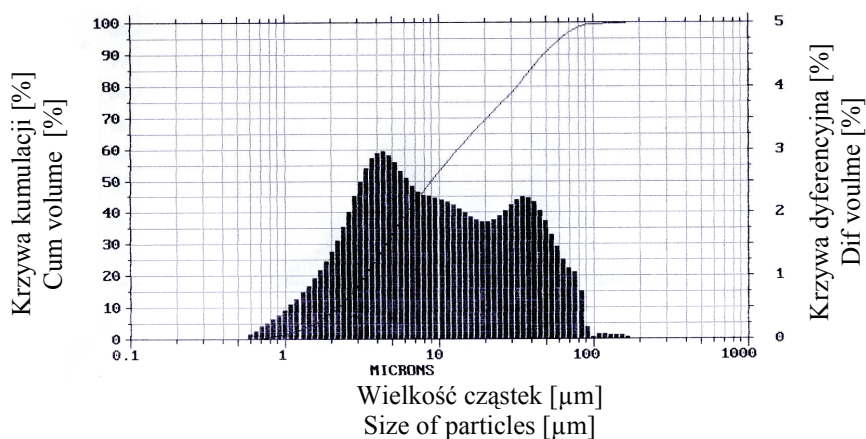
burdztynianu skrobiowego (OSA) - która ma właściwości emulgujące. Po 4 tygodniach przechowywania średnia wielkość cząstek wzrosła do 21,98  $\mu\text{m}$ , czyli o ok. 3,5  $\mu\text{m}$ . Po 24 h od wytworzenia 90% cząstek emulsji z dodatkiem 5% HFD i 1% OSA miało średnicę mniejszą niż 46,09  $\mu\text{m}$ , a po 4 tygodniach – mniejszą niż 51,10  $\mu\text{m}$ . Z kolei 50% cząstek tłuszczu miało średnicę mniejszą niż 11,66  $\mu\text{m}$ , a po 4 tygodniach – mniejszą niż 13,90  $\mu\text{m}$ . W emulsji stwierdzono występowanie 3 frakcji cząstek tłuszczu po 24 h i po 4 tygodniach od jej wytworzenia. Zatem można stwierdzić, że emulsja ta miała charakter polidispersyjny (rys. 3).



Rys. 3. Rozkład wielkości cząstek niskotłuszczowej emulsji majonezowej nr 3 (5% HFD, 1% OSA) po 24 h od wytworzenia.

Fig. 3. Distribution of particle size of low fat mayonnaise emulsion no. 3 (5% HFD, 1% OSA) after 24 hours from making.

Średnia wielkość cząstek emulsji nr 4 z dodatkiem 5% HFD, 1% OSA i 0,5% gumy guar wynosiła 17,98  $\mu\text{m}$ . Po 4 tygodniach osiągnęła ona wartość 25,79  $\mu\text{m}$ , czyli wzrosła o ok. 8  $\mu\text{m}$ . Zatem emulsja z dodatkiem 5% HFD, 1% OSA i 0,5% gumy guar okazała się najmniej stabilna ze wszystkich. W emulsji tej 90% cząstek po 24 h od wytworzenia miało średnicę mniejszą niż 47,59  $\mu\text{m}$ , natomiast po 4 tygodniach 90% cząstek tłuszczu miało średnicę mniejszą niż 61,80  $\mu\text{m}$ . 50% cząstek tłuszczu po 24 h od wytworzenia miało średnicę mniejszą niż 8,87  $\mu\text{m}$ , natomiast po 4 tygodniach 50% cząstek tłuszczu miało średnicę mniejszą niż 11,75  $\mu\text{m}$  (rys. 4). Analiza tych wyników również wskazuje na niestabilność emulsji. W tej emulsji stwierdzono występowanie 4 frakcji cząstek tłuszczu zarówno po 24 h, jak i po 4 tygodniach od jej wytworzenia.

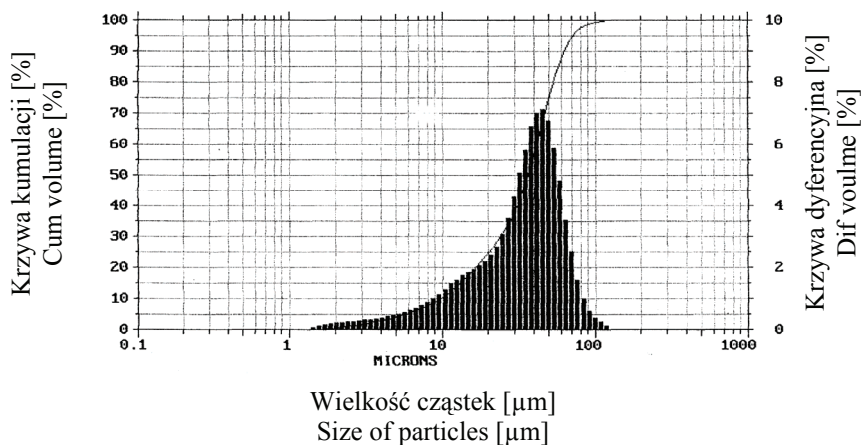


Rys. 4. Rozkład wielkości cząstek niskotłuszczowej emulsji majonezowej nr 4 (5%HFD, 1%OSA, 0,5% gumy guar) po 24 h od wytworzenia.

Fig. 4. Distribution of particle size of low fat mayonnaise emulsion no. 4 (5%HFD, 1%OSA, 0,5% gum guar) after 24 hours from making.

Największą średnią wielkość cząstek tłuszczu po 24 h od wytworzenia (36,46 μm) miała emulsja z dodatkiem 5% HFD, 1% OSA i 0,5% gumy ksantanowej. Emulsja ta charakteryzowała się również najwyższą lepkością – 234,53 Pa·s. W tym przypadku dużą średnią wielkość cząstek tłuszczu można tłumaczyć trudnościami związanymi ze zdyspergowaniem podczas procesu homogenizacji fazy olejowej w fazie wodnej o wysokiej lepkości. Niemniej jednak układ ten okazał się stabilny, gdyż po 4 tygodniach średnia wielkość cząstek tłuszczu wzrosła do 39,00 μm, czyli o ok. 2,5 μm. W układzie o tak wysokiej lepkości aglomeracja i koalescencja cząstek, mimo ich dużych rozmiarów, może być utrudniona. O wysokiej stabilności układu także świadczy fakt, że po 24 h od wytworzenia 90% cząstek tłuszczu miało średnicę mniejszą niż 62,37 μm, a po 4 tygodniach 90% cząstek miało średnicę mniejszą niż 63,15 μm, jak również, że po 24 h od wytworzenia 50% cząstek tłuszczu miało średnicę mniejszą niż 36,09 μm, a po 4 tygodniach – 38,89 μm.

W tej emulsji stwierdzono również występowanie 1 frakcji cząstek tłuszczu po 24 h i 2 frakcji po 4 tygodniach od jej wytworzenia. Wartość współczynnika dyspersji świadczy o zbliżonych rozmiarach cząstek tłuszczu w emulsji, wynosił on 1,46 po 24 h oraz 1,29 po 4 tygodniach od wytworzenia emulsji (rys. 5).



Rys. 5. Rozkład wielkości cząstek niskotłuszczowej emulsji majonezowej nr 5 (5%HFD, 1%OSA, 0,5% gumy ksantan) po 24 h od wytworzenia.

Fig. 5. Distribution of particle size of low fat mayonnaise emulsion no. 5 (5%HFD, 1%OSA, 0,5% gum xantan) after 24 hours from making.

### Wnioski

1. W badanych emulsjach stwierdzono brak znaczącego wzrostu średniej wielkości cząstek tłuszczu niskotłuszczowych emulsji majonezowych po 4 tygodniach przechowywania.
2. Nie stwierdzono znaczącego wzrostu współczynnika dyspersji kuleczek tłuszczu w emulsjach w czasie ich przechowywania, co świadczy o tym, że niskotłuszczowe emulsje zawierające odpowiednio dobrane ilości i rodzaj hydrokoloidów są stabilne w czasie ich przechowywania.
3. Emulsja z dodatkiem jedynie 3% hydroksypropylofosforanu diskrobiowego, charakteryzująca się najniższą lepkością wynoszącą 14,66 Pa·s, była stabilna w czasie jej przechowywania przez okres 4 tygodni w temp. 25°C.
4. Zbyt duża lepkość emulsji z dodatkiem 5% hydroksypropylofosforanu iskrobiowego, 1% soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego i 0,5% gumy ksantanowej wynosząca 234,53 Pa·s, jak również zbyt mała lepkość emulsji z dodatkiem 3% hydroksypropylofosforanu diskrobiowego wynosząca 14,66 Pa·s sprzyja powstawaniu cząstek tłuszczu o stosunkowo dużej wielkości.
5. Najmniejszą średnicę cząstek tłuszczu, wynoszącą ok.  $1,8 \cdot 10^{-5}$  m, niskotłuszczowych emulsji majonezowych wykazują te, w których składzie występuje dodatek 5% hydroksypropylofosforanu diskrobiowego i 1% soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego.

### Literatura

- [1] Chanamai R., McClements D.J.: Creaming stability of flocculated monodisperse oil-in-water emulsions. *J. Colloid Int. Sci.*, 2000, **225**, 214-218.
- [2] Guinard J.X., Mazzucchelli R.: The sensory perception of texture and mouthfeel. *Trends Food Sci. Technol.*, 1997, **8 (1)**, 1-6.
- [3] Kostyra E.: Zamienniki tłuszczu w serze Cheddar o obniżonej zawartości tłuszczu. *Żywność, Żywnienie a Zdrowie*, 1997, **2 (6)**, 151.
- [4] Langtona M., Jordanssona E., Altskär A., Sørensen C., Hermanssona A.: Microstructure and image analysis of mayonnaises. *Food Hydrocolloids*, 1999, **13** 113–125.
- [5] Pszczola E.D.: High technology. Taking ingredients to a new level. *Food Technol.*, 1997, **6**, 79-80.
- [6] Roland I., Piel G., Delattre L., Evrard B.: Systematic characterization of oil-in-water emulsions for formulation design. *Int. J. Pharm.*, 2003, **263**, 85–94.
- [7] Schube V, Kaliszan E, Ratusz K.: Skrobie modyfikowane we wsadach owocowych, majonezach i dresingach. *Przem. Spoż.*, 2003, **3 (57)**, 22.
- [8] Śmiechowski K., Kowalska M.: Influence of pH on the particle size water emulsion for fiber leather. International Scientific Conference “Light Industry – Fibrous Materials”, Radom 2005.
- [9] Śmiechowski K., Szała J.: Wielkość i polidispersja emulsji środków natłuszczających na przykładzie wybranych produktów. *Przegl. Skórzany*, 1998, **12**, 8-11.
- [10] Tyszkiewicz I.: Zamienniki tłuszczu w technologii żywności o obniżonej energetyczności. *Przem. Spoż.*, 1992, **5/6 (46)**, 132.

#### PHYSICAL STABILITY OF LOW FAT EMULSION IN DEPENDENCE ON ADDED HYDROCOLLOIDS

##### Summary

The aim of this study was to determinate the influence of the size of added hydrocolloids and the composition of emulsions on the stability of low fat mayonnaise emulsion.

Five low fat emulsions were investigated. These emulsions contained different quantity of added hydrocolloids and contained different composition of hydrocolloids. The particle size of emulsion was determined by Laser Spectrometer. Apparent viscosity was determined by viscosimeter. (-) The results obtained in this study showed the lack of significant growth of dispersion index and lack of significant growth of average particle size of fat. This shows that low-fat emulsions which have adequately selected quantities and kinds of hydrocolloids are stability during storage.

**Key words:** emulsion, viscosity, particle size of emulsion, hydrocolloids 



JOANNA KRASZEWSKA, WIESŁAW WZOREK, IWONA WOJTASIK

## WPLYW WARUNKÓW HODOWLI SZCZEPÓW Z GATUNKU *LACTOBACILLUS PLANTARUM* NA ICH AKTYWNOŚĆ ANTAGONISTYCZNĄ

### Streszczenie

Obecnie dużym zainteresowaniem cieszy się żywność funkcjonalna, do której należą m.in. produkty zawierające żywe kultury bakterii probiotycznych (np. bakterie fermentacji mlekowej). Bakterie fermentacji mlekowej odgrywają kluczową rolę podczas naturalnej konserwacji produktów spożywczych. Drobnoustroje te wytwarzają wiele związków o właściwościach antagonistycznych wobec bakterii gnilnych i chorobotwórczych, a także drożdży i pleśni. Zdolność produkcji przez bakterie fermentacji mlekowej metabolitów antagonistycznych zależy od wielu czynników m.in. temperatury i czasu hodowli bakterii.

Celem pracy było określenia wpływu warunków (temperatury, czasu) hodowli szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* na właściwości antagonistyczne w stosunku do bakterii gram-dodatnich oraz gram-ujemnych.

Stwierdzono, że badane szczepy hamują wzrost stosowanych bakterii wskaźnikowych. Wykazano wpływ czasu oraz temperatury inkubacji bakterii fermentacji mlekowej na ich działanie antagonistyczne w stosunku do bakterii wskaźnikowych. Największe strefy zahamowania wzrostu obserwowano - na ogół - stosując 48-godziną inkubację bakterii fermentacji mlekowej w temperaturze 37°C. Badane szczepy *Lactobacillus plantarum* inkubowane w temp. 6°C nie wykazywały zdolności hamowania wzrostu bakterii *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* 180, *K. ornithinolytica*.

**Słowa kluczowe:** probiotyki, bakterie fermentacji mlekowej, *Lactobacillus plantarum*, antagonizm

### Wprowadzenie

Zastosowanie bakterii fermentacji mlekowej w produkcji żywności przyczynia się do wyeliminowania lub zahamowania rozwoju drobnoustrojów toksynotwórczych, patogennych oraz powodujących psucie się produktów spożywczych. Udział bakterii fermentacji mlekowej w konserwowaniu żywności związany jest z hamującym wpływem produkowanych przez nie metabolitów. Do związków o charakterze antagoni-

stycznym, produkowanych przez bakterie fermentacji mlekowej należą m.in.: kwas mlekowy i octowy [1], kwas 2-pirolidono-5-karboksyłowy [15], kwasy tłuszczowe [5], kwas fenylomlekowy i 4-hydroksyfenylomlekowy [14], nadtlenek wodoru [3], bakteriocyny [2], diacetyl [6], aldehyd octowy, etanol [13], kwas benzoowy, 5-metylohydantoina, lakton kwasu mewalonowego [12]. Według danych literaturowych [7, 8] zdolność bakterii fermentacji mlekowej do syntezy związków o właściwościach antagonistycznych zależy nie tylko od szczepu bakterii, ale również od warunków środowiska, fizycznych i chemicznych, takich jak: wiek hodowli (faza wzrostu drobnoustrojów), skład podłoża, pH środowiska, temperatura czy czas inkubacji.

Celem pracy było określenie antagonistycznej aktywności szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* w zależności od temperatury i czasu hodowli bakterii fermentacji mlekowej.

### Material i metody badań

W badaniach stosowano szczepy należące do gatunku *Lactobacillus plantarum*: *L. plantarum* 44, *L. plantarum* 299v, *L. plantarum* ATCC 4080, *L. plantarum* NCAIM B.01834, *L. plantarum* NCAIM B. 01149.

Jako drobnoustroje wskaźnikowe zastosowano bakterie gram-dodatnie: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus pumilus* ATCC 8241, *Bacillus megaterium*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 oraz gram-ujemne pałeczki z gatunków: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Citrobacter freundii* 488, *Pseudomonas fluorescens* 16/94, *Proteus mirabilis* 180, *Klebsiella ornithinolytica*.

Właściwości antagonistyczne bakterii fermentacji mlekowej badano metodą słupkową [9]. Celem określenia wpływu czasu inkubacji bakterii fermentacji mlekowej na syntezę substancji antagonistycznych 24-godzinną hodowlę posiewano na podłoże MRS i inkubowano w temp. 28°C przez 24, 48 oraz 72 godz. Do określenia wpływu temperatury inkubacji hodowlę szczepów z gatunku *L. plantarum* prowadzono przez 48 godz. w temp. 6, 22 oraz 37°C. Następnie z podłoża z wyrosłą hodowlą bakterii fermentacji mlekowej wycinano słupki i przenoszono na płytki z zestalonym bulionem wzbogaconym (BTL Sp.z o.o. Zakład Enzymów i Peptonów) zawierającym 24-godzinną hodowlę szczepu wskaźnikowego. W ten sposób przygotowane hodowle inkubowano w temp. 37°C przez 24 godz. w anaerostatach. Po tym czasie mierzono średnicę strefy zahamowania wzrostu szczepu wskaźnikowego (testowego). Wynik podawano w mm po odjęciu średnicy słupka. Wykonano sześć serii doświadczeń, każdą w dwóch powtórzeniach. Wyliczono wartości średnie oraz odchylenia standardowe.

Tabela 1

Wielkość stref zahamowania wzrostu szczepów testowych determinowana czasem inkubacji bakterii fermentacji mlekowej [mm].  
Zones inhibition growth of test bacteria was determined by incubation time of lactic acid bacteria [mm].

Szczepy testowe Test strains		Szczepy badane / Studied strains														
		<i>L. plantarum</i> 44			<i>L. plantarum</i> 299v			<i>L. plantarum</i> ATCC 4080			<i>L. plantarum</i> NCAIM B.01834			<i>L. plantarum</i> NCAIM B.01149		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Czas inkubacji [godz.] / Incubation time [h]																
Bakterie gram-dodatnie / Gram-positive bacteria																
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	27,8 ±0,4	22,8 ±1,2	10,3 ±0,5	25,0 ±0,9	24,7 ±0,8	11,8 ±1,3	24,3 ±0,5	25,7 ±0,8	13,5 ±1,3	24,2 ±1,3	23,7 ±0,5	14,8 ±1,5	25,2 ±1,5	21,3 ±0,8	12,3 ±0,5	
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	5,8 ±0,8	9,2 ±0,4	10,3 ±1,0	6,5 ±1,4	10,2 ±1,5	9,2 ±0,4	5,8 ±0,1	8,8 ±1,2	10,5 ±0,6	5,3 ±0,5	10,0 ±1,3	9,8 ±0,8	6,5 ±1,1	7,5 ±1,1	10,5 ±0,6	
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	10,2 ±0,4	12,3 ±1,4	8,5 ±0,6	11,2 ±0,4	12,8 ±0,1	6,8 ±0,8	12,0 ±1,1	12,2 ±1,3	6,5 ±0,6	12,2 ±1,2	13,3 ±0,8	6,7 ±0,5	11,2 ±0,8	11,2 ±0,1	6,3 ±0,5	
<i>B. pumilus</i> ATCC 8241	5,2 ±0,4	7,8 ±0,1	7,5 ±0,6	5,8 ±0,4	8,0 ±0,6	7,7 ±0,8	6,8 ±1,3	8,2 ±0,8	7,7 ±0,5	7,0 ±0,9	8,7 ±0,5	8,5 ±0,6	6,7 ±1,0	7,8 ±0,1	7,5 ±0,8	
<i>B. megaterium</i>	5,0 ±0,0	11,8 ±0,4	5,3 ±0,5	6,3 ±1,5	11,2 ±0,4	4,8 ±0,4	6,2 ±1,5	10,0 ±0,6	5,5 ±0,6	6,0 ±1,6	10,0 ±1,1	5,0 ±0,6	5,8 ±1,3	10,2 ±1,5	4,5 ±0,6	
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	7,2 ±0,4	9,2 ±1,5	11,7 ±1,4	7,7 ±1,4	8,5 ±1,2	10,5 ±0,6	8,7 ±0,5	8,8 ±1,3	11,0 ±0,9	9,2 ±1,2	10,5 ±1,7	11,3 ±1,9	8,3 ±1,0	9,8 ±0,8	9,3 ±0,8	

Bakterie gram-ujemne / Gram-negative bacteria															
<i>E. coli</i> ATCC 25922	6,7 ±1,4	8,3 ±1,0	10,3 ±1,0	7,2 ±0,4	9,8 ±0,8	9,8 ±0,8	6,0 ±0,0	7,3 ±0,8	11,0 ±0,6	5,7 ±0,5	7,2 ±0,8	10,5 ±0,6	6,8 ±1,3	13,0 ±1,1	10,7 ±0,8
<i>K. ornithinolytica</i>	4,0 ±0,0	5,0 ±1,3	4,7 ±0,5	4,7 ±0,5	5,7 ±0,9	4,0 ±0,0	4,5 ±0,6	5,3 ±0,8	4,0 ±0,0	4,0 ±0,0	4,7 ±1,4	5,3 ±0,5	5,0 ±0,0	4,3 ±1,2	5,3 ±0,5
<i>C. freundii</i> 488	4,0 ±0,0	6,3 ±0,5	8,5 ±0,6	5,0 ±0,0	7,0 ±0,6	6,3 ±0,5	5,0 ±1,6	6,0 ±0,0	7,5 ±0,6	5,0 ±0,9	7,0 ±0,9	8,7 ±0,5	5,8 ±1,3	8,0 ±0,9	8,2 ±0,8
<i>P. fluorescences</i> 16/94	10,7 ±0,5	9,7 ±1,2	9,5 ±0,8	10,7 ±1,0	11,3 ±1,0	10,2 ±0,8	10,5 ±0,6	9,0 ±0,9	8,5 ±1,1	10,8 ±0,8	10,0 ±1,1	9,8 ±0,8	11,3 ±0,5	11,0 ±0,6	9,3 ±0,5
<i>P. mirabilis</i> 180	4,2 ±0,4	6,2 ±0,4	8,3 ±0,5	5,2 ±0,8	5,2 ±0,4	7,2 ±1,6	4,8 ±0,4	6,8 ±1,5	7,7 ±1,0	4,5 ±0,6	5,2 ±0,4	7,8 ±1,0	4,5 ±0,6	6,0 ±0,0	6,7 ±0,5

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wyniki podano jako średnią z 6 serii / the results were provided as mean from 6 series;

± - odchylenie standardowe / ± - standard deviation

Tabela 2

Wielkość stref zahamowania wzrostu szczepów testowych determinowana temperaturą inkubacji bakterii fermentacji mlekowej [mm].  
Zones inhibition growth of test bacteria was determined by incubation temperature of lactic acid bacteria [mm].

Szczepy testowe Test strains		Szczepy badane / Studied strains														
		<i>L. plantarum</i> 44			<i>L. plantarum</i> 299v			<i>L. plantarum</i> ATCC 4080			<i>L. plantarum</i> NCAIM B.01834			<i>L. plantarum</i> NCAIM B.01149		
		6	22	37	6	22	37	6	22	37	6	22	37	6	22	37
Temperatura inkubacji [°C] / Incubation temperature [°C]																
Bakterie gram-dodatnie / Gram-positive bacteria																
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	6,8 ±0,4	7,0 ±0,8	8,0 ±1,4	5,8 ±1,0	7,5 ±1,3	9,5 ±1,3	6,3 ±0,5	8,5 ±0,7	10,8 ±1,7	8,8 ±1,7	10,8 ±1,7	5,8 ±1,7	9,5 ±0,6	10,8 ±1,5	8,2 ±0,8	10,5 ±1,3
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	5,5 ±0,6	10,3 ±1,5	4,7 ±0,8	4,7 ±1,4	11,0 ±1,6	5,3 ±1,4	5,5 ±1,4	10,8 ±1,5	6,3 ±1,4	6,3 ±1,4	6,3 ±1,4	5,0 ±0,0	10,3 ±1,0	7,0 ±1,8	4,8 ±0,4	6,3 ±0,5
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	1,3 ±0,5	7,7 ±1,0	8,5 ±1,5	1,0 ±0,0	7,3 ±1,0	10,0 ±1,7	1,3 ±0,5	5,7 ±1,2	8,8 ±2,1	8,8 ±2,1	8,8 ±2,1	1,3 ±0,5	6,5 ±1,1	10,0 ±0,8	1,0 ±0,0	9,0 ±2,7
<i>B. pumilus</i> ATCC 8241	3,2 ±0,4	6,5 ±0,6	4,2 ±2,2	2,8 ±0,8	7,0 ±0,0	6,7 ±1,9	3,5 ±0,6	6,0 ±0,0	6,0 ±1,8	6,0 ±1,8	6,0 ±1,8	2,7 ±0,5	7,3 ±0,5	8,5 ±0,6	2,2 ±0,4	5,3 ±0,8
<i>B. megaterium</i>	4,5 ±0,6	5,8 ±0,4	7,0 ±0,0	3,8 ±0,8	6,3 ±0,5	7,5 ±1,2	3,3 ±0,5	6,3 ±0,5	8,2 ±0,8	8,2 ±0,8	8,2 ±0,8	3,3 ±0,8	5,3 ±0,5	7,5 ±0,6	3,3 ±0,5	7,5 ±1,1
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	3,3 ±1,2	6,3 ±0,5	7,7 ±1,8	3,7 ±1,0	7,3 ±1,0	8,0 ±0,0	3,3 ±1,0	7,8 ±0,5	7,5 ±1,6	7,5 ±1,6	7,5 ±1,6	3,5 ±0,8	9,7 ±0,5	7,3 ±0,5	4,0 ±0,0	8,5 ±1,9

Bakterie gram-ujemne / Gram-negative bacteria															
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,0	2,2 ±0,4	25,0 ±1,6	0,0	3,5 ±0,6	24,8 ±1,5	0,0	3,5 ±0,6	26,0 ±1,4	0,0	3,7 ±0,5	27,0 ±1,8	0,0	3,5 ±0,6	29,0 ±0,0
<i>K. ornithinolytica</i>	0,0	3,0 ±0,0	3,3 ±1,0	0,0	3,5 ±0,6	3,3 ±0,9	0,0	3,2 ±0,4	4,2 ±0,8	0,0	4,2 ±0,4	4,0 ±0,0	4,2 ±0,8	7,5 ±1,1	26,3 ±0,5
<i>C. freundii</i> 488	1,3 ±0,5	5,2 ±0,4	5,0 ±0,0	2,0 ±0,0	5,0 ±0,0	5,8 ±0,8	1,3 ±0,5	5,2 ±0,4	5,5 ±0,8	1,8 ±0,4	6,0 ±0,0	4,7 ±0,5	1,3 ±0,5	5,8 ±1,0	5,3 ±0,5
<i>P. fluorescences</i> 16/94	1,3 ±0,5	9,2 ±1,2	6,7 ±0,8	1,5 ±0,8	5,0 ±0,0	6,3 ±1,8	1,3 ±0,5	8,7 ±0,5	7,0 ±1,7	3,0 ±0,0	7,2 ±0,4	6,0 ±1,1	3,0 ±0,6	7,2 ±0,8	5,3 ±1,5
<i>P. mirabilis</i> 180	0,0	7,0 ±2,4	4,5 ±0,8	0,0	7,7 ±0,5	4,2 ±0,8	0,0	5,3 ±1,4	4,8 ±0,8	0,0	5,7 ±0,5	6,2 ±0,4	0,0	5,5 ±0,6	4,3 ±0,5

Objaśnienia: / Explanatory notes:  
wyniki podano jako średnią z 6 serii / the results were provided as mean from 6 series;  
± - odchylenie standardowe / ± - standard deviation

## Wyniki i dyskusja

Wpływ czasu inkubacji wybranych szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* na ich właściwości antagonistyczne przedstawiono w tab. 1. Każdy z badanych szczepów wykazywał zdolność hamowania wzrostu zarówno bakterii gram-dodatnich, jak i gram-ujemnych, przy czym zaobserwowano różnice w szerokości stref zahamowania wzrostu, np. mniejsze strefy w przypadku bakterii gram-ujemnych.

Największe strefy zahamowania wzrostu bakterii gram-dodatnich (średnio 7,5–25,7 mm) stwierdzono po zastosowaniu 48-godzinnej hodowli; a najmniejsze strefy (średnio 4,5–14,8 mm) po 72-godzinnej inkubacji bakterii fermentacji mlekowej. Wśród badanych szczepów z rodzaju *Bacillus* sp. największe strefy zahamowania wzrostu obserwowano na ogół po zastosowaniu 48-godzinnej hodowli *Lactobacillus plantarum*. Największą aktywność antagonistyczną wobec *S. epidermidis* ATCC 12228 (strefy zahamowania - 24,2–27,8 mm) wykazywały 24-godzinne hodowle bakterii mlekowych.

Hamowanie wzrostu pałeczek gram-ujemnych, wyrażone szerokością stref, w zależności od czasu inkubacji szczepów badanych było zróżnicowane i przedstawiało się w sposób następujący: strefy zahamowania wzrostu szczepu *E. coli* ATCC 25922 (9,8–11,0 mm), *C. freundii* 488 (6,3–8,7 mm) oraz *P. mirabilis* 180 (6,7–8,3 mm) były największe podczas zastosowania bakterii mlekowych inkubowanych 72 godz. Największe strefy zahamowania wzrostu (10,5–11,3 mm) *P. fluorescens* 16/94 obserwowano po zastosowaniu 24-godzinnej hodowli bakterii fermentacji mlekowej.

Innym z czynników odpowiadających za wielkość stref zahamowania wzrostu bakterii wskaźnikowych jest temperatura inkubacji bakterii fermentacji mlekowej. W badaniach stosowano temp. 6, 22 i 37°C i jeden przedział czasowy inkubacji tj. 48 godz. (tab. 2).

Największe strefy zahamowania wzrostu bakterii gram-dodatnich (średnio 4,2–10,8 mm) stwierdzono po zastosowaniu hodowli *Lactobacillus plantarum* w temp. 37°C. Natomiast najmniejsze strefy odnotowano po inkubacji bakterii antagonistycznych w temp. 6°C (średnio 1,0–6,8 mm). Jest to prawdopodobnie związane z faktem, że bakterie fermentacji mlekowej produkują mniejsze ilości związków o działaniu antagonistycznym podczas inkubacji w temperaturze niższej od ich optymalnej temperatury wzrostu (28°C).

Największe strefy zahamowania wzrostu bakterii gram-ujemnych (średnio 3,3–29,0 mm) stwierdzono w przypadku użycia hodowli bakterii fermentacji mlekowej inkubowanych w temp. 37°C. Natomiast najmniejsze strefy zahamowania wzrostu testowych pałeczek gram-ujemnych wystąpiły po zastosowaniu hodowli inkubowanych w temp. 6°C (średnio 0,0–4,2 mm). Badane szczepy *Lactobacillus plantarum* inkubowane w temp. 6°C nie wykazywały zdolności hamowania wzrostu bakterii *E.*

*coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* 180, *K. ornithinolytica*, podczas gdy inkubowane w temp. 22 i 37°C wykazywały tę cechę.

Według Łaniewskiej-Moroz i Warmińskiej-Radyko [10], najsilniejszą aktywność antybakteryjną wobec *Yersinia enterocolitica* wykazywał szczep z gatunku *Lactobacillus plantarum* po 48-godzinnej hodowli w temp. 30°C. Cheigh i wsp. [4] podają, że po 30-godzinnej inkubacji *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A164 w temp. 30°C produkcja bakteriocyny była o 50% wyższa niż po inkubacji tego szczepu w temp. 25 i 37°C. Mataragas i wsp. [11] badali zdolność produkcji bakteriocyny przez *Lactobacillus curvatus* L442 w temp. 20, 25 i 30°C. Autorzy stwierdzili, że badany szczep produkuje największą ilość bakteriocyny podczas inkubacji w temp. 25°C.

Podczas określania metodą słupkową efektu antagonistycznego oddziaływania bakterii fermentacji mlekowej należy pamiętać, że na strefy zahamowania wzrostu drobnoustrojów wskaźnikowych może wpływać zarówno czas, jak i temperatura hodowli bakterii antagonistycznych. Celowe wydaje się określenie wpływu pH środowiska, jak również składu podłoża na zdolności antagonistyczne tych bakterii.

## Wnioski

1. Czas inkubacji badanych szczepów *Lactobacillus plantarum* wpływa na produkcję metabolitów o właściwościach antybakteryjnych. Największe strefy zahamowania wzrostu testowych bakterii gram-dodatnich stwierdzono po zastosowaniu 48-godzinnej hodowli bakterii fermentacji mlekowej, a pałeczek gram-ujemnych po 72-godzinnej inkubacji *Lactobacillus plantarum*.
2. Temperatura inkubacji bakterii fermentacji mlekowej również wpływa na produkcję metabolitów antybakteryjnych. Największą aktywność antagonistyczną w stosunku do bakterii gram-dodatnich oraz gram-ujemnych obserwowano po użyciu hodowli bakterii fermentacji mlekowej w temp. 37°C. Stwierdzano brak stref zahamowania wzrostu *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* 180 oraz *Klebsiella ornithinolytica* po zastosowaniu bakterii mlekowych inkubowanych w temp. 6°C.

## Literatura

- [1] Annuk H., Shchepetova J., Kullisaar T., Songisepp E., Zilmer M., Mikelsaar M.: Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, **94** (3), 403-412.
- [2] Ayad E.H.E., Verheul A., Wouters J.T.M., Smit G.: Antimicrobial-producing wild lactococci isolated from artisanal and non-dairy origins. *Int. Dairy J.*, 2002, **12**, 145-150.
- [3] Brauncajs M., Sakowska D., Krzemiński Z.: Występowanie w jamie ustnej pałeczek kwasu mlekowego wytwarzających nadtlenek wodoru. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2001, **53**, 331-336.
- [4] Cheigh C-I., Choi H.-J., Park H., Kim S.-B., Kook M.-C., Kim T.-S., Hwang J.-K., Pyun Y.-R.: Influence of growth conditions on the production of a nisin-like bacteriocin by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A164 isolated from kimchi. *J. Biotechnol.*, 2002, **95**, 225-235.



- [5] Corsetti A., Gobbetti M., Rossi J., Damiani P.: Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1998, **50**, 253-256.
- [6] Jay J.M.: Antimicrobial properties of diacetyl. Appl. Environ. Microbiol., 1982, **44** (3), 525-532.
- [7] Klewicka E., Libudzisz Z.: Przeciwdrobnoustrojowa aktywność bakterii mlekowych. Przegl. Mlecz., 1998, **12**, 411-416.
- [8] Klewicka E., Libudzisz Z., Czajka D., Kuc K.: Antagonistyczna aktywność bakterii fermentacji mlekowej *Lactobacillus acidophilus*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1999, **4** (21), Supl., 168-175.
- [9] Kraszewska J., Wzorek W., Sztando E., Raczyńska-Cabaj A.: Aktywność antagonistyczna bakterii fermentacji mlekowej z gatunku *Lactobacillus plantarum*. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 2005, **4** (1), 39-52.
- [10] Laniewska-Moroz Ł., Warmińska-Radyko I.: Antibacterial activity of the preparation from *Lactobacillus plantarum* culture against *Yersinia enterocolitica*. Pol. J. Food Nutr. Sci., 1999, **8** (49), 31-36.
- [11] Mataragas M., Metaxopoulos J., Galiotou M., Drosinos E.H.: Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. Meat Sci., 2003, **64**, 265-271.
- [12] Niku-Paavola M.-L., Laitila A., Mattila-Sandholm T., Haikara A.: New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. J. Appl. Microbiol., 1999, **86**, 29-35.
- [13] Nosova T., Jousimies-Somer H., Jokelainen K., Heine R., Salaspuro M.: Acetaldehyde production and metabolism by human indigenous and probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. Alcohol Alcohol., 2000, **35** (6), 561-568.
- [14] Valerio F., Lavermicocca P., Pascale M., Visconti A.: Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. FEMS Microbiol. Lett., 2004, **233**, 289-295.
- [15] Yang Z., Suomalainen T., Mäyrä-Mäkinen A., Huttunen E.: Antimicrobial activity of 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid produced by lactic acid bacteria. J. Food Protect., 1997, **60** (7), 786-790.

#### INFLUENCE OF CULTURAL CONDITIONS OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM* STRAINS ON THEIR ANTAGONISTIC ACTIVITY

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

In recent years functional foods have become increasingly popular. Products which include viable probiotic culture (for example lactic acid bacteria) belong to functional foods. Lactic acid bacteria play a main role in the natural preservation of food products. These microorganisms produce several metabolic compounds with antagonistic properties against spoilage, pathogenic bacteria, yeasts and moulds. Production ability of antagonistic compounds depends on several factors among other things temperature and time incubation.

The aim of this study was to determine of growth conditions (temperature, time) of *Lactobacillus plantarum* strains and to determine the antagonistic properties against gram-positive and gram-negative bacteria.

All the chosen *Lactobacillus plantarum* strains are able to inhibit used indicator bacterial strains. The influence of the time and temperature incubation lactic acid bacteria on antagonistic activity against indicator bacteria was observed. The biggest inhibition zones were obtained applying incubation time 48 hours at temperature 37°C. The *Lactobacillus plantarum* strains, which were incubated at 6°C did not inhibit growth of *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* 180, *K. ornithinolytica*.

**Key words:** probiotic, lactic acid bacteria, *Lactobacillus plantarum*, antagonism ☒

EWELINA KRÓL, HALINA. STANIEK, ALINA PRZYBYLSKA, ZBIGNIEW  
KREJPCIO, DANUTA OLEJNIK

## CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH ASPEKTÓW SPOSOBU ŻYWIENIA PACJENTÓW Z CHOROZAMI UKŁADU KRĄŻENIA NA PODSTAWIE PREFERENCJI POKARMOWYCH

### Streszczenie

Celem niniejszej pracy była ocena wybranych elementów sposobu żywienia 200 pacjentów, hospitalizowanych z powodu chorób układu krążenia i naczyń krwionośnych, na podstawie informacji uzyskanych w trakcie przeprowadzania badań ankietowych. Ankieta dotyczyła preferencji doboru żywności oraz metod obróbki technologicznej stosowanych na co dzień w gospodarstwach domowych respondentów.

Większość respondentów stosowała niewskazane metody technologiczne sporządzania potraw tj. smażenie na tłuszczu, pieczenie czy grillowanie. Wybierając produkty tłuszczowe używane do smażenia, 60% respondentów deklarowało stosowanie zalecanych tłuszczów, pozostałe 40% wybierało tłuszcze przeciwwskazane tj. margaryny.

Zdecydowana większość respondentów spośród mięs wybierała te o niskiej zawartości tłuszczu. Ogólnie ankietowanych cechowała deklarowana duża częstotliwość spożycia mięsa i jego przetworów, a tylko małe lub okazjonalne spożycie ryb.

Określono preferencje badanych odnośnie sposobów konsumpcji owoców i warzyw. Ponad połowa respondentów spożywała owoce surowe, 25,5% w formie częściowo przetworzonej, a 19% w formie wysoko przetworzonej. Podobny odsetek badanych deklarowało spożywanie warzyw w postaci surowej (45,5%) oraz warzyw gotowanych (45%). Tylko 10% spośród badanych spożywało warzywa w formie częściowo przetworzonej.

Ankietowani deklarowali duże spożycie pieczywa mieszanego oraz wysoko przetworzonego, a małe razowego.

Podsumowując należy stwierdzić, że preferencje respondentów dotyczące wybieranych produktów i spożywanych potraw nie były zgodne z zasadami racjonalnego żywienia i mogły zwiększać ryzyko niekorzystnych zmian w stanie zdrowia ankietowanych.

**Słowa kluczowe:** choroby układu krążenia, zwyczaje żywieniowe, preferencje

## **Wprowadzenie**

Choroby układu krążenia stanowią istotną przyczynę zgonów w Polsce zarówno wśród kobiet, jak i mężczyzn [14]. Na częstotliwość występowania chorób układu krążenia wpływ ma wiele czynników. Niektóre z nich np. predyspozycje genetyczne (czynniki endogenne) nie podlegają zmianie, a tzw. czynniki egzogenne, np. sposób żywienia oraz inne należące do stylu życia (stres, palenie tytoniu, aktywność fizyczna) można modyfikować [3, 8, 12]. Za ważny czynnik ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego uważa się dietę obfitującą w tłuszcze nasycone i cholesterol [3]. Duży wpływ na sposób odżywiania ma także czynnik socjoekonomiczny, co potwierdzają dane świadczące o niekorzystnych zachowaniach żywieniowych związanych z niższym poziomem wykształcenia oraz dochodem [1]. Stosowanie prawidłowej wiedzy na temat roli żywienia i stylu życia w etiopatogenezie zaburzeń układu krążenia pozwoliłoby zapewne na ograniczenie ryzyka wielu powikłań.

Celem pracy była analiza wybranych elementów sposobu żywienia pacjentów z problemami kardiologicznymi na podstawie preferencji doboru produktów spożywczych oraz metod ich obróbki technologicznej.

## **Material i metody badań**

Do badań zakwalifikowano 200 pacjentów Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr 1 w Poznaniu, hospitalizowanych z powodu chorób układu krążenia i naczyń krwionośnych oraz towarzyszącym im powikłaniom m.in. niewyrównanego ciśnienia tętniczego, niestabilnej choroby niedokrwiennej serca, niewydolności mięśnia sercowego i innych jednostek chorobowych dotyczących układu krążenia. Pacjenci zostali podzieleni na cztery równoliczne i zróżnicowane pod względem wieku grupy. Wiek badanych zawierał się w czterech przedziałach: 35-45 lat, 46-55 lat, 56-65 lat oraz 66-75 lat. W trakcie badań przeprowadzono ankietę złożoną z 13 pytań dotyczących preferencji doboru produktów spożywczych oraz metod obróbki technologicznej stosowanych w gospodarstwie domowym respondentów.

## **Wyniki i dyskusja**

Większość ankietowanych (90%) deklarowała spożycie mięsa o niskiej zawartości cholesterolu (mięso wołowe, z kurczaka, z indyka, z królika, cielęcina, konina, dziczyzna), czyli zalecanego w profilaktyce kardiologicznej. Jednocześnie na pytanie o częstotliwość spożywania produktów mięsnych ponad połowa (55%) respondentów udzieliła odpowiedzi - kilka razy dziennie (tab. 1).

Duża częstotliwość spożycia mięsa i jego przetworów jest niekorzystna, gdyż wyniki badań wskazują na dodatnią korelację między spożyciem mięsa a ryzykiem wystąpienia chorób układu krążenia [9]. Poza tym w prewencji chorób układu krążenia

istotny jest rodzaj, a nie całkowita ilość spożywanego tłuszczu [6]. Ponadto zastąpienie nasyconych kwasów tłuszczowych nienasyconymi (ryby i produkty roślinne) przynosi lepsze rezultaty niż ograniczenie spożycia tłuszczów. Stwierdzono, jednakże że ankietowanych charakteryzowała niska częstotliwość spożywania ryb (tab. 2). Zaledwie 20% badanych osób deklarowało spożycie ryb kilka razy w tygodniu, a prawie 30% czyniło to okazjonalnie.

Tabela 1

Preferencje pacjentów dotyczące mięsa i jego produktów oraz deklarowana częstotliwość ich spożywania. Patient's preferences with regard to meat and meat products and declared frequency of their consumption.

Preferencje / Preferences	O	Płeć / Sex		Wiek / Age			
		K	M	35-45	46-55	56-65	66-75
[% odpowiedzi] / [answers percentage]							
Rodzaj mięsa / Kind of meat							
Chude i o niskiej zawartości cholesterolu Lean meat and with low cholesterol content	90	90	90	92	88	86	90
Tłuste i o wysokiej zawartości cholesterolu Fatty and with high cholesterol content	10	10	10	8	12	14	10
Rodzaj wędlin / Kind of cured meat							
Chude i o niskiej zawartości cholesterolu Lean meat and with low cholesterol content	51,5	54	49	58	44	52	52
Tłuste i o wysokiej zawartości cholesterolu Fatty and with high cholesterol content	33	30	36	20	42	36	34
Unikanie wędlin / avoiding of cured meat	15,5	16	15	22	14	12	14
Częstotliwość spożywania mięsa i jego przetworów / Frequency of meat and meat products consumption							
Kilka razy w tygodniu / A few times a week	55	48	63	54	54	58	56
Dwa razy w tygodniu / Twice a week	30	37	23	38	30	28	24
Raz w tygodniu / Once a week	10	11	9	4	10	10	16
Nie spożywa wcale / No consumption	5	4	5	4	6	4	4

Objaśnienia: / Explanatory notes:

O - ogółem / total; K - kobiety / women; M - mężczyźni / men

Wśród spożywanego gatunków ryb ankietowani najczęściej wymieniali ryby chude i o niskiej zawartości cholesterolu tj. morszczuk, mintaj, leszcz. Spożycie ryb tłustych i o wysokiej zawartości cholesterolu (flądra, halibut, sardynki, śledzie) deklarowało 30% ankietowanych, przedkładając tym samym specyficzne walory sensoryczne ponad względy zdrowotne. Niskie spożycie ryb zostało także potwierdzone przez in-

nych autorów [4, 13]. Zjawisko to jest niekorzystne, gdyż liczne badania dowodzą, że w populacjach, w których spożycie ryb jest wysokie, ryzyko chorób układu krążenia jest relatywnie niskie. Wynika to przede wszystkim z protekcyjnego działania oleju rybnego, który zawiera kwasy tłuszczowe omega-3 [2].

Respondentów zapytano również o rodzaj obróbki kulinarnej stosowanej w gospodarstwie domowym do przygotowywania posiłków (tab. 3). Aż 69% respondentów zgłosiło stosowanie niewskazanych metod technologicznych sporządzania potraw, tj. smażenie na tłuszczu, pieczenie czy grillowanie, a tylko 31% przestrzegało zasad profilaktyki kardiologicznej, stosując gotowanie na parze oraz w wodzie.

Tabela 2

Preferencje pacjentów dotyczące ryb oraz deklarowana częstotliwość ich spożywania.  
Patient's preferences with regard to fish and declared frequency of its consumption.

Preferencje / Preferences	O	Płeć / Sex		Wiek / Age			
		K	M	35-45	46-55	56-65	66-75
[% odpowiedzi] / [answers percentage]							
Rodzaj ryb / Kind of fish							
Chude i o niskiej zawartości cholesterolu Lean meat and with low cholesterol content	70	70	70	72	70	66	72
Tłuste i o wysokiej zawartości cholesterolu Fatty and with high cholesterol content	30	30	30	28	30	34	28
Częstotliwość spożywania ryb / Frequency of fish consumption							
Kilka razy w tygodniu / A few times a week	20	23	17	24	14	26	16
Raz w tygodniu / Once a week	47,5	41	54	52	46	46	46
Okazjonalnie / Occasionally	32,5	36	29	24	40	28	38

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

Na pytanie dotyczące metod ograniczania zawartości tłuszczu w diecie 52% ankietowanych wybierało eliminację tłustych gatunków mięs i wędlin, 22% spożywanie potraw gotowanych, a tylko 1% unikanie potraw smażonych z udziałem tłuszczów. Ponadto do smażenia 60% respondentów stosowało tłuszcze zalecane, tj. oleje roślinne, a wśród nich oliwę z oliwek, a 40% przeciwwskazane tj. margaryny.

Do smarowania pieczywa 63% ankietowanych stosowało tłuszcze zalecane (margaryny miękkie, masło roślinne, mieszaniny typu masmix), a 28% masło, które jest przeciwwskazane w profilaktyce kardiologicznej. Spośród ogółu ankietowanych 11% w ogóle nie smarowało pieczywa.

Tabela 3

Preferowane metody ograniczenia spożycia tłuszczów oraz tłuszcze stosowane przez respondentów.  
 Preferred methods of limitation of fats consumption and fats used in respondents household.

Preferencje / Preferences	O	Płeć / Sex		Wiek / Age			
		K	M	35-45	46-55	56-65	66-75
[% odpowiedzi] / [answers percentage]							
Metody obróbki technologicznej / Methods of technological processing							
Bezpieczne / Safety	30	33	27	28	28	30	34
Szkodliwe / Harmful	69	66	72	70	70	70	66
Inne / Other	1	1	1	2	2	0	0
Metody ograniczenia tłuszczu w diecie / Methods of fat limitation in diet							
Eliminacja tłustych gatunków mięs i wędlin Elimination of fatty meat and meat products	52	48	42	66	40	52	46
Ograniczenie ilości tłuszczów stołowych Limitation of fat content	6,5	8	5	4	10	8	4
Spożywanie potraw gotowanych Consumption of cooked dishes	22	22	22	16	26	18	28
Unikanie potraw smażonych z udziałem tłuszczów Avoiding of fat frying dishes	1	0	2	0	2	0	2
Stosowanie do smażenia olejów roślinnych Using plant oils for frying	18,5	22	15	14	22	18	20
Tłuszcze stosowane do smażenia potraw / Fats using for dishes frying							
Zalecane / Recommended	60	68	52	56	64	54	66
Przeciwwskazane / Contraindicated	40	32	48	42	36	46	34
Tłuszcze stosowane do smarowania / Fats using for spreading							
Zalecane / Recommended	62,5	69	56	58	64	64	64
Przeciwwskazane / Contraindicated	26,5	22	31	28	24	26	28
Nie spożywa / No consumption	11	9	13	14	12	10	8
Tłuszcze używane do sałatek i surówek / Fats using for salad							
Zalecany / Recommended	50	50	50	56	52	42	50
Przeciwwskazany / Contraindicated	50	50	50	44	48	58	50

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

Do przyrządzania sałatek i surówek respondenci w równym stopniu stosowali zarówno tłuszcze zalecane tj. oliwę z oliwek, inne oleje roślinne, majonez niskokaloryczny, jak i przeciwwskazane, stosowane ze względu na walory smakowe, tj. śmietanę czy

majonez tradycyjny. Racjonalna dieta jest uznawana za główną niefarmakologiczną metodę wspomagającą leczenie chorób układu krążenia. Szczególną uwagę zwraca się na produkty tłuszczowe, a zwłaszcza na źródło ich pochodzenia [5, 15].

Stosowanie margaryn przez osoby chorujące na choroby układu krążenia nie jest korzystne ze względu na obecność trans nienasyconych kwasów tłuszczowych, które podwyższają stężenie cholesterolu całkowitego oraz jego frakcji LDL we krwi [7], co może się przyczyniać do rozwoju miażdżycy [10]. Jednakże w Europie problem ten rozwiązano, gdyż producenci szybko dostosowali produkcję do wymagań profilaktyki zdrowotnej, eliminując z margaryn trans nienasycone kwasy tłuszczowe [6].

W niniejszych badaniach oceniono także preferencje badanych dotyczące sposobu konsumpcji owoców i warzyw (tab. 4). Większość respondentów (55%) konsumowało owoce w formie pozwalającej zachować ich wartość odżywczą, czyli na surowo i w formie sałatek. Około 26% badanych spożywało owoce w formie częściowo przetworzonej (musa, przeciery, słodzone soki owocowe), a 19% preferowało owoce poddane zaawansowanym procesom technologicznym, pozbawionych tym samym części witamin. Analizując spożycie warzyw stwierdzono, że największy odsetek ankietowanych (po 45%) deklarowało spożywanie warzyw surowych i gotowanych, a tylko 10% w formie częściowo przetworzonej (dodatki do zup, sosów i sałatek).

Tabela 4

Preferencje pacjentów dotyczące konsumpcji owoców i warzyw.

Patient's preferences with regard to fruit and vegetables consumption.

Preferencje / Preferences	O	Płeć / Sex		Wiek / Age			
		K	M	35-45	46-55	56-65	66-75
	[% odpowiedzi] / [answers percentage]						
Spożycie owoców / Fruit consumption							
Surowe / Raw	55,5	58	53	68	46	48	60
Częściowo przetworzone / Partially processed	25,5	20	31	24	36	22	20
Wysoko przetworzone / Highly processed	19	22	16	8	18	30	20
Spożycie warzyw / Vegetables consumption							
Surowe / Raw	45,5	42	49	52	46	42	42
Gotowane / Cooked	45	46	44	48	38	46	48
Częściowo przetworzone / Partly processed	9,5	12	7	0	16	12	10

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

Istnieją badania wskazujące na protekcyjną rolę warzyw i owoców w rozwoju chorób układu krążenia. Ochronne działanie owoców i warzyw wynika głównie z za-

wartości błonnika, potasu i folianów [11] i dlatego są one zalecane w profilaktyce kardiologicznej.

Tabela 5

Preferencje pacjentów dotyczące technologii sporządzania potraw i spożywanego pieczywa.  
Patient's preferences with regard to methods of food preparing and bread consumption.

Preferencje / Preferences	O	Płeć / Sex		Wiek / Age			
		K	M	35-45	46-55	56-65	66-75
	[% odpowiedzi] / [answers percentage]						
Rodzaj pieczywa / Kind of bread							
Razowe / Wholesome	28	33	23	36	24	26	26
Mieszane / Mixed	41	35	47	32	48	42	42
Wysoce przetworzone / Highly processed	31	32	30	32	28	32	32

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

W trakcie badań ankietowanych zapytano o rodzaj spożywanego pieczywa, uwzględniając stopień jego przetworzenia. Największy odsetek badanych, tj. 41% deklarowało spożywanie pieczywa mieszanego, a 31% pieczywa wysoce przetworzonego (pieczywo białe, pszenne, chleb tostowy, chałka). Osoby badane rzadziej konsumowały pieczywo razowe, czyli zalecane w profilaktyce kardiologicznej.

Niniejsze badania ujawniły występowanie wielu nieprawidłowości żywieniowych, które w dłuższej perspektywie czasu mogłyby mieć wpływ na wzrost pogłębienia schorzeń układu krążenia u badanych pacjentów. Uogólniając, należy uznać za zasadne upowszechnianie wiedzy żywieniowej z zakresu profilaktyki kardiologicznej, zwłaszcza wśród ludzi młodszych.

## Wnioski

1. Duży odsetek badanych stosował niewskazane metody technologiczne sporządzania potraw, takie jak: smażenie, pieczenie, grillowanie.
2. Zdecydowana większość respondentów spośród mięs wybierała te o niskiej zawartości tłuszczu, z drugiej strony częstotliwość spożywania mięsa była wciąż duża. Za niekorzystne należy uznać zbyt niskie spożycie ryb.
3. Około 40% ankietowanych stosowało do smażenia tłuszcze przeciwwskazane w profilaktyce kardiologicznej, tj. margaryny.
4. Ponad połowa respondentów spożywała owoce surowe, 26% w formie częściowo przetworzonej, a 19% w formie wysoce przetworzonej,



5. Około 45% badanych deklarowało spożywanie warzyw w postaci surowej oraz warzyw gotowanych (45%). Tylko 10% spośród ankietowanych spożywało warzywa w formie częściowo przetworzonej.
6. Ankietowani deklarowali duże spożycie pieczywa mieszanego oraz wysoko przetworzonego, a niskie razowego.
7. Wobec stwierdzonych nieprawidłowości w sposobie żywienia się osób z chorobami serca i układu krążenia należy postulować ciągłe propagowanie wiedzy żywieniowej z zakresu profilaktyki kardiologicznej, zwłaszcza wśród ludzi młodszych.

### Literatura

- [1] Borowiec A., Słońska Z.: Społeczne i ekonomiczne uwarunkowania możliwości zakupu produktów żywnościowych istotnych z punktu widzenia prewencji chorób układu krążenia. *Nowiny Lek.*, 2003, **72**, 208-212.
- [2] Daviglius M.L., Stamler J., Orenca A.J., Dyer A.R., Liu K., Greenland P., Walsh M.K., Morris D., Shekelle R.B.: Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 1997, **336**, 1046-1053.
- [3] Duda G., Józwiak A., Chmielewski Z.: Wybrane elementy stylu życia i nieprawidłowości stanu odżywienia osób w wieku podeszłym z niedokrwinną chorobą serca. *Badania wstępne. Nowiny Lek.*, 2001, **70**, 1028-1036.
- [4] Gierczak M., Narojek L., Trzeciak K.: Porównanie modelu żywienia oraz stylu życia mężczyzn z niedokrwinną chorobą serca w okresie poprzedzającym zawał oraz osób zdrowych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2004, **31**, 127-139.
- [5] Hooper L., Summerbell C. D., Higgins J. P. T., Thompson R. T., Capps N. E., Smith G. D., Riemersma R.A., Ebrahim S.: Dietary fat intake and prevention of cardiovascular disease: systematic review. *BMJ*, 2001, **322**, 757-763.
- [6] Hu F. B., Manson J. E., Willett W. C.: Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: A Critical Review. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2001, **20**, 5-19.
- [7] Judd J. T., Bear D. J., Clevidence B. A., Kris-Etherton P., Muesing R. A., Iwane M.: Dietary cis and trans monounsaturated and saturated fatty acids and plasma lipids and lipoproteins in men. *Lipids*, 2002, **37**, 123-131.
- [8] Kaźmierski R., Ciesielska A., Ciesielski M.: Wpływ czynników psychologicznych na rozwój miażdżycy oraz ryzyko wystąpienia zawału serca i udaru niedokrwinnego mózgu. *Nowiny Lek.*, 2003, **72**, 310-316.
- [9] Kelishadi R., Pour M.H., Zadegan N.S., Kahbazi M., Sadry G., Amani A., Ansari R., Alikhassy H., Bashardoust N: Dietary fat intake and lipid profiles of Iranian adolescents: Isfahan Healthy Heart Program--Heart Health Promotion from Childhood. *Prev. Med.*, 2004, **39**, 760-766.
- [10] Kłoskiewicz-Latoszek L., Respondek W.: Znaczenie diety w leczeniu nadciśnienia tętniczego. *Żyw. Człow. Metab.*, 2001, **28**, 342-349.
- [11] Osler M.: Nutritional modification of cardiovascular disease risk. *Int. Cong. Series*, 2002, **1229**, 109-114.
- [12] Respondek W.: Genetyczne predyspozycje do żywieniowo zależnych chorób układu krążenia. *Żyw. Człow. Metab.*, 2002, **29**,
- [13] Seidler T., Sławińska B.: Ocena sposobu odżywiania się osób z chorobą niedokrwinną serca. *Żyw. Człow. Metab.*, 2000, **27**, 249-252.
- [14] Sygnowska E., Waśkiewicz A.: Aktywność fizyczna a wybrane czynniki ryzyka chorób układu krążenia. *Nowiny Lek.*, 2002, **71**, 260-264.
- [15] Temple N. J.: Dietary fats and coronary heart disease. *Biomed. Pharmacother.*, 1996, **50**, 261-268.

## EVALUTION OF NUTRITIONAL HABITS BASED ON DIETARY PREFERENCES AMONG CARDIOVASCULAR PATIENTS

### S u m m a r y

The aim of this study was to evaluate nutrition habits based on dietary preferences among 200 hospitalized patients due to cardiovascular problems. The questionnaire concerned the preference of food selection as well as methods of technological processing used in respondents' households.


From among all examined persons, majority of respondents declared usage of the unadvisable technological methods of food preparation e.g. frying on fat, baking and grilling. As regards frying fats 60% of respondents declared recommended fats usage, however remaining 40% chose the contraindicated fats e.g. margarine.

The majority of respondents preferred lean meat. Generally respondents declared high frequency of meat consumption and its products, and only little or occasional fish consumption.

The study permitted also to qualify the preferences with regard to consumption of fruit and vegetables. Over half (55,5%) of respondents consumed raw fruit, 25,5% partially processed, and 19% highly processed. Similar percentage of polling (45,5%) declared consumption of raw vegetables as well as boiled vegetables (45%). Only 10% from among investigated subjects consumed partly processed vegetables.

They declared high consumption of mixed bread as well as highly processed breads, and little consumption of wholesome bread.

Summing up, it is possible that cardiovascular disease patient's dietary preferences have had impact on their health.

**Key words:** cardiovascular disease, nutritional habits, preferences 

TOMASZ KRUPA, KAZIMIERZ TOMALA

## WPLYW WARUNKÓW PRZECHOWYWANIA NA ZAWARTOŚĆ ANTOCYJANÓW I AKTYWNOŚĆ PRZECIWIUTLENIAJĄCĄ JAGÓD BORÓWKI WYSOKIEJ

### Streszczenie

Dojrzałe owoce borówki wysokiej odmiany Bluecrop, bez uszkodzeń, zbierano ręcznie i przechowywano w chłodni z kontrolowaną atmosferą (8 wariantów) o zróżnicowanym składzie gazów CO<sub>2</sub> : O<sub>2</sub> (12:1,5; 12:3; 12:6; 12:12 i 18:1,5; 18:3; 18:6; 18:12) oraz w chłodni zwykłej przez okres 8 tygodni, w temp. 0°C. Rozdział antocyjanów wykonano przy użyciu techniki HPLC. W borówkach zidentyfikowano 14 związków z grupy antocyjanów, tj. delfinidyno-3-glukozyd, delfinidyno-3-galaktozyd, delfinidyno-3-arabinozyd, cyjanidyno-3-glukozyd, cyjanidyno-3-galaktozyd, cyjanidyno-3-arabinozyd, peonidyno-3-glukozyd, peonidyno-3-galaktozyd, petunidyno-3-glukozyd, petunidyno-3-galaktozyd, petunidyno-3-arabinozyd, malwidyno-3-glukozyd, malwidyno-3-galaktozyd, malwidyno-3-arabinozyd. Borówki przechowywane w warunkach KA odznaczały się istotnie wyższą zawartością antocyjanów ogółem niż owoce przechowywane w chłodni zwykłej. Wraz z wydłużaniem okresu przechowywania zawartość antocyjanów wykazywała tendencję malejącą. Zmiany aktywności przeciwutleniającej borówek wykazały dużą zależność z zawartością antocyjanów ogółem.

**Słowa kluczowe:** borówka wysoka, antocyjany, HPLC, aktywność przeciwutleniająca

### Wstęp

Właściwości prozdrowotne owoców wiążą się w dużej mierze z zawartością związków przeciwutleniających, które wspomagają naturalne mechanizmy obronne organizmu człowieka. Bogatym źródłem przeciwutleniaczy są owoce jagodowe, a zwłaszcza owoce borówki wysokiej, które zawierają dużo antocyjanów. Zawartość przeciwutleniaczy w borówkach zależy od odmiany, która w znacznym stopniu może być modyfikowana przez warunki środowiskowe. Häkkinen i wsp. [8] oraz Ehlenfeldt i Prior [4] stwierdzili wzrost zawartości antocyjanów w trakcie przechowywania borówek, przy czym tempo tego procesu zależało od stanu fizjologicznego owoców oraz

warunków ich przechowywania. Wzrost zawartości antocyjanów do 14. dnia przechowywania w warunkach chłodni zwykłej obserwowali Zheng i wsp. [14], zaś Forney i wsp. [5] podają, że stężenie dwutlenku węgla powyżej 15%, powoduje utratę barwy skórki borówek. Aktywność przeciwutleniająca owoców borówki wysokiej waha się w zakresie od 17,0 do 42,3  $\mu\text{moli Troloxu} \cdot \text{g}^{-1}$  [11]. W literaturze podkreślany jest także istotny związek między aktywnością przeciwutleniającą owoców a zawartością w nich polifenoli, a szczególnie antocyjanów [2].

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu składu gazowego atmosfery chłodni i okresu przechowywania owoców borówki wysokiej odmiany Bluecrop na zawartość antocyjanów oraz ich aktywność przeciwutleniającą.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem doświadczalnym były owoce borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.) odmiany Bluecrop pochodzące z pola doświadczalnego Katedry Sadownictwa SGGW położonej we wsi Błonie, gmina Prażmów k. Piaseczna. Badania przeprowadzono w latach 2002-2003. Owoce zbierano w stadium dojrzałości konsumpcyjnej i przechowywano w chłodni z kontrolowaną atmosferą (KA) przez 8 tygodni w temp. 0°C i wilgotności względnej powietrza ok. 95%. Czynnikiem zmiennym był skład gazowy atmosfery chłodni. Borówki przechowywano w ośmiu wariantach składu gazów CO<sub>2</sub>:O<sub>2</sub> – 12:1,5, 12:3, 12:6, 12:12, 18:1,5, 18:3, 18:6 i 18:12 oraz w atmosferze normalnej. Doświadczenie założono w czterech powtórzeniach. Próbę jednego powtórzenia stanowiło 0,5 kg owoców. Zawartość antocyjanów, rozdział barwników przy użyciu techniki HPLC oraz aktywność przeciwutleniającą borówek oznaczano pięciokrotnie, tj. bezpośrednio po zbiorze owoców oraz w odstępach 2-tygodniowych podczas ich przechowywania. Zawartość antocyjanów ogółem oznaczano spektrofotometrycznie metodą Fuleki i Francis [6], polegającą na określeniu różnicy absorbancji roztworów o pH 1,0 i 4,5 przy długości fali 520 nm. Wyniki podano w przeliczeniu na chlorek cyjanidyny. Analizę antocyjanów techniką HPLC prowadzono według metody Kalt i wsp. [9]. Homogenizat owocowy ekstrahowano z 25 ml mieszaniny (aceton : metanol : woda = 35 : 35 : 30) zakwaszonej 1 ml HCl o stężeniu 36%. Następnie roztwór sączono, a klarowny przesącz odparowywano pod próżnią w temp. 40°C do odparowania acetonu i metanolu. Pozostały roztwór przelewano do kolby o poj. 25 ml, uzupełniano wodą destylowaną i nanoszono na szczyt kolumny Sep-Pak<sup>®</sup>Plus C18 (Waters). Antocyjany wyflukowano przy użyciu 70% metanolu, a uzyskaną próbkę oczyszczano na filtrze 0,45  $\mu\text{m}$  Millex<sup>®</sup>-HV (Millipore). Analizę rozdziału i zawartości antocyjanów prowadzono wykorzystując chromatograf cieczowy firmy PerkinElmer serii 200 z detektorem Diode Array Detektor (DAD). Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny Spheri-5 RP-18, 5 $\mu$ , 220 x 4,6 mm (Brownlee Columns) przy przepły-

wie  $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . Temp. termostatowania kolumny wynosiła  $22^\circ\text{C}$ . Fazę ruchomą stanowiła mieszanina woda (A) : kwas mrówkowy (B) : acetonitryl (C) o zmiennych parametrach gradientu A i C. Identyfikacji antocyjanów dokonywano na podstawie danych literaturowych dotyczących identyfikacji antocyjanów [7, 14]. Zawartość antocyjanów podano w  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  ś.m. owoców jako ekwiwalent cyjanidyno-3-glukozy. W roku 2003 określano aktywność przeciwutleniającą według metody Saint Criq de Gaulejac i wsp. [12] z użyciem syntetycznego rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyna, Sigma). Aktywność przeciwutleniającą obliczano na podstawie pomiarów absorbancji próby właściwej (ekstrakt z owoców + DPPH) wykonywanych po 20 min przy  $\lambda = 517 \text{ nm}$  w stosunku do próby kontrolnej ( $\text{H}_2\text{O} + \text{DPPH}$ ). Wyniki podano w procentach.

Wyniki opracowano statystycznie metodą dwuczynnikowej analizy wariancji. Do oceny istotności różnic między wartościami średnimi użyto testu Newmana-Keulsa, przyjmując poziom istotności  $\alpha = 0,05$ . Natomiast w celu zobrazowania wpływu dwutlenku węgla i tlenu przeprowadzono trójczynnikową analizę wariancji. Dodatkowo przeprowadzono analizę metodą kontrastów w obrębie grup, które podzielono na kontrolowaną atmosferę i chłodnię zwykłą.

### Wyniki i dyskusja

Zawartość antocyjanów w owocach zależała zarówno od warunków, w jakich przechowywano borówki, jak i od okresu przechowywania. Po dwóch tygodniach przechowywania, w porównaniu z analizami prowadzonymi bezpośrednio po zbiorze, stwierdzono wzrost zawartości antocyjanów w owocach. W kolejnych terminach analiz obserwowano systematyczne zmniejszanie zawartości barwników w materiale doświadczalnym. Mimo, że warunki KA zawsze sprzyjały wyższej zawartości antocyjanów w owocach niż warunki chłodni zwykłej, to tempo spadku tego wskaźnika, rozpatrywane w czasie, było podobne w obu technologiach przechowywania (tab. 1). Basiony i Chen [1] oraz Kalt i McDonald [10] odnotowali wzrost zawartości antocyjanów w trakcie przechowywania borówek. Prior i wsp. [11] oraz Häkkinen i wsp. [8] zwracają uwagę, że proces ten zależy od stanu fizjologicznego owoców oraz warunków przechowywania. W niniejszej pracy, w obu latach badań, wyższą zawartością tych barwników charakteryzowały się borówki z kontrolowanej atmosfery niż z chłodni zwykłej. Natomiast spośród ośmiu wariantów KA istotnie najwyższe wartości tego wskaźnika w roku 2002 stwierdzono w owocach po przechowywaniu w atmosferach o proporcji  $\text{CO}_2:\text{O}_2$  równej 18:1,5 i 12:1,5, zaś w roku 2003 – 12:1,5, 18:1,5, 12:3 i 18:3 (tab. 2).

W doświadczeniu nie stwierdzono współdziałania dwutlenku węgla i tlenu na zawartość antocyjanów ogółem. Zawartość antocyjanów zależała w niewielkim stopniu od stężenia  $\text{CO}_2$ ; wpływ taki udowodniono jedynie w roku 2002. W przypadku tego wskaźnika kluczowe znaczenie miało stężenie tlenu. Najwyższą zawartość antocyja-

nów stwierdzano zawsze w owocach przechowywanych w atmosferze zawierającej 1,5% tlenu (tab. 3). Uzyskane wyniki badań są potwierdzeniem obserwacji Stewarda i wsp. [13] oraz Connora i wsp. [2]. Natomiast odmiennego zdania są Forney i wsp. [5], którzy uważają, że dwutlenek węgla w stężeniu powyżej 15% sprzyja utracie barwy skórki borówek w czasie przechowywania.

Tabela 1

Zawartość antocyjanów ogółem w owocach borówki wysokiej zależnie od warunków i okresu przechowywania [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$  ś.m.].  
Total anthocyanin content in high bush blueberries fruit in relation to conditions and period of storage [ $\text{mg}\cdot 100^{-1}$  f.wt.].

Okres przechowywania [tygodnie] Time of storage [weeks]	2002		2003	
	Chłodnia zwykła Common cold storage	KA CA	Chłodnia zwykła Common cold storage	KA CA
Po zbiorze Harvest	184		175	
2	199 a B	215 b B	186 a B	209 b C
4	182 a B	210 b B	173 a B	187 b B
6	143 a A	171 b A	170 a B	184 b B
8	136 a A	166 b A	140 a A	153 b A

Objaśnienie: / Explanation:

Wartości średnie oznaczone tą samą małą literą w wierszach oraz dużą literą w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie przy  $\alpha=0,05$  wg testu Newmana-Keulsa / Mean values followed by the same small letter in line or capital letter in column do not differ statistically significantly ( $\alpha=0,05$ ) according to Newman-Keuls test.

Stosując technikę HPLC do rozdziału barwników, w doświadczeniu zidentyfikowano 14 związków barwnych z grupy antocyjanów. Analiza wariancji metodą kontrastów wykazała istotnie wyższe zawartości wszystkich analizowanych związków z grupy antocyjanów w borówkach przechowywanych w warunkach kontrolowanej atmosfery niż w chłodni zwykłej. Zależność tę notowano w każdym terminie analiz. Porównania prowadzone między poszczególnymi składami gazowymi w obrębie kontrolowanej atmosfery wykazały, że istotnie najwyższą zawartość związków z grupy antocyjanów oznaczono w owocach przechowywanych w dwóch wariantach  $\text{CO}_2:\text{O}_2$ , tj. 12:1,5 i 18:1,5, niezależnie od roku badań (tab. 2).

Tabela 2

Zawartość poszczególnych antocyjanów w owocach borówki wysokiej zależnie od warunków przechowywania; średnio z różnych okresów przechowywania [mg·100 g<sup>-1</sup> ś.m.].

Content of individual anthocyanins compounds in high bush blueberries fruit depending on storage conditions; mean for different storage periods [mg·100 g<sup>-1</sup> f.wt.].

Antocyjany Anthocyanin	Rok Year	KA (CO <sub>2</sub> :O <sub>2</sub> ) / CA (CO <sub>2</sub> :O <sub>2</sub> )								Chłodnia zwykła Common cold storage
		12:1,5	12:3	12:6	12:12	18:1,5	18:3	18:6	18:12	
Antocyjany ogółem Total anthocyanin	2002	206 ef	192 cd	181 ab	172 a	211 f	198 de	187 bc	176 a	
	$\bar{X}$	190 b								165 a
	2003	193 d	186 cd	181 abc	176 ab	191 cd	186 cd	179 ab	173 a	
	$\bar{X}$	183 b								167 a
delfinidyno- -3- galaktozyd	2002	10,3 ef	9,6 cd	9,1 ab	8,7 a	10,6 f	10,0 de	9,4 bc	8,8 a	
	$\bar{X}$	9,6 b								8,3 a
	2003	9,6 d	9,2 bcd	9,0 abc	8,8 ab	9,5 cd	9,2 cd	8,9 ab	8,6 a	
	średnio	9,1 b								8,3 a
delfinidyno- -3- glukozyd	2002	5,5 ef	5,1 cd	4,8 ab	4,6 a	5,7 f	5,4 de	5,0 bc	4,7 a	
	$\bar{X}$	5,1 b								4,4 a
	2003	4,9 d	4,7 bcd	4,6 abc	4,5 ab	4,8 cd	4,7 cd	4,5 ab	4,4 a	
	$\bar{X}$	4,7 b								4,9 a
delfinidyno- -3- arabinozyd	2002	10,7 ef	10,0 cd	9,5 ab	9,0 a	11,0 f	10,3de	9,8 bc	9,2 a	
	$\bar{X}$	9,9 b								8,6 a
	2003	9,8 d	9,5 bcd	9,3 abc	9,0 ab	9,7 cd	9,5 cd	9,1 ab	8,9 a	
	$\bar{X}$	9,3 b								8,5 a
petunidyno- -3- galaktozyd	2002	5,8 de	5,5 bc	5,2 ab	5,0 a	5,9 e	5,6 cd	5,3 bc	5,0 a	
	$\bar{X}$	5,4 b								4,8 a
	2003	6,6 d	6,4 bcd	6,2 abc	6,1 ab	6,6 cd	6,4 bcd	6,2 ab	6,0 a	
	$\bar{X}$	6,3 b								5,8 a
petunidyno- -3- glukozyd	2002	4,8 de	4,6 bc	4,4 ab	4,2 a	4,9 e	4,6 cd	4,4 ab	4,2 a	
	$\bar{X}$	4,5 b								4,0 a
	2003	5,3 d	5,1 bcd	5,0 abc	4,8 ab	5,2 cd	5,1 bc	4,9 ab	4,8 a	
	$\bar{X}$	5,7 b								4,6 a
petunidyno- -3- arabinozyd	2002	4,6 de	4,4 bc	4,2 ab	4,0 a	4,7 e	4,5 cd	4,3 ab	4,0 a	
	$\bar{X}$	4,3 b								3,8 a
	2003	5,7 c	5,5 bc	5,4 abc	5,2 ab	5,7 c	5,5 bc	5,3 ab	5,1 a	
	$\bar{X}$	5,4 b								5,0 a

c.d. Tab. 2

malvidyno- -3- galaktozyd	2002	20,6 de	19,4 bc	18,3 ab	17,6 a	21,0 e	19,9 cd	18,9 b	17,8 a	
	$\bar{X}$	19,2 b								16,9 a
	2003	20,9 d	20,1 bc	19,6 ab	19,1 ab	20,7 cd	20,1 bc	19,4 a	18,7 a	
	$\bar{X}$	19,8 b								17,8 a
malvidyno- -3- glukozyd	2002	12,1 de	11,5 bc	10,9 ab	10,5 a	12,3 e	11,6 cd	11,1 ab	10,5 a	
	$\bar{X}$	11,3 b								10,0 a
	2003	10,4 d	10,0 bc	9,8 abc	9,5 ab	10,3 cd	10,0 bc	9,7 ab	9,4 a	
	$\bar{X}$	9,9 b								8,8 a
malvidyno- -3- arabinozyd	2002	20,0 de	18,8 bc	17,8 ab	17,1 a	20,4 e	19,3 cd	18,3 b	17,3 a	
	$\bar{X}$	18,6 b								16,4 a
	2003	20,9 d	20,1 bc	19,6 ab	19,1 ab	20,7 cd	20,1 bc	19,4 a	18,7 a	
	$\bar{X}$	19,8 b								17,6 a

Objaśnienie: / Explanation:

Wartości średnie oznaczone tą samą literą w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie przy  $\alpha=0,05$  wg testu Newmana-Keulsa / means in line followed by the same letter do not differ statistically significantly ( $\alpha=0,05$ ) according to Newman-Keuls test.

Tabela 3

Zawartość antocyjanów ogółem w owocach borówki wysokiej zależnie od stężenia tlenu i dwutlenku węgla w KA; średnio z różnych okresów przechowywania [ $\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ ś.m.}$ ].

Total anthocyanin content in high bush blueberries fruit in relation to oxygen and carbon dioxide concentration in CA; mean for different storage periods [ $\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ f.wt.}$ ].

CO <sub>2</sub> / O <sub>2</sub>	2002			2003		
	12%	18%	$\bar{X}$	12%	18%	$\bar{X}$
1,5%	206 a C	211 a D	208 C	193 a B	191 a B	192 C
3%	192 a B	198 a C	195 B	186 a AB	186 a B	186 B
6%	181 a A	187 a B	184 A	181 a A	179 a AB	180 A
12%	172 a A	176 a A	174 A	176 a A	173 a A	174 A
$\bar{X}$	187 a	192 b	-	184 a	182 a	-

Objaśnienie jak w tab. 1. / Explanation as in Tab. 1.

Następnie oceniano, czy dodatni wpływ warunków KA na zawartość poszczególnych barwników antocyjanowych zależy zarówno od stężenia CO<sub>2</sub> jak i O<sub>2</sub>, czy może któryś z tych komponentów atmosfery odgrywa rolę nadrzędną. Stwierdzono, że oddziaływanie dwutlenku węgla na zawartość antocyjanów było sporadyczne. Wpływ taki udowodniono wyłącznie w roku 2002 w przypadku czterech spośród czternastu



analizowanych związków. Wówczas oznaczono wyższą zawartość delfinidyno-3-galaktozydu, delfinidyno-3-arabinozydu, malwidyno-3-galaktozydu i malwidyno-3-arabinozydu w owocach przechowywanych w atmosferze zawierającej 18% CO<sub>2</sub>. Czynnikiem, który wywierał istotny wpływ na zawartość związków z tej grupy było stężenie tlenu. W tym przypadku stwierdzono, że owoce przechowywane w atmosferze niskotlenowej (1,5% O<sub>2</sub>), niezależnie od poziomu dwutlenku węgla, charakteryzowały się zawsze największą zawartością barwników w skórce (tab. 4).

Tabela 4

Zawartość poszczególnych antocyjanów w owocach borówki wysokiej zależnie od stężenia tlenu i dwutlenku węgla w KA; średnio z różnych okresów przechowywania [mg·100 g<sup>-1</sup> ś.m.].

Some individual anthocyanins compounds in high bush blueberries fruit in relation to oxygen and carbon dioxide concentration in CA; mean for different storage periods [mg·100 g<sup>-1</sup> f.wt.]

Antocyjany Anthocy- anin	CO <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2002			2003		
		12%	18%	$\bar{X}$	12%	18%	$\bar{X}$
delfinidyno- 3-galaktozyd	1,5%	10,33 a C	10,57 a C	10,45 D	9,67 a B	9,55 a B	9,61 C
	3%	9,65 a B	9,95 a B	9,80 C	9,29 a	9,29 a B	9,29 BC
	6%	9,09 a A	9,38 a A	9,24 B	9,04 a AB	8,93 a AB	8,99 AB
	12%	8,65 a A	8,80 a A	8,72 A	8,80 a A	8,65 a A	8,72 A
	$\bar{X}$	9,43 a	9,68 b	-	9,20 a	9,10 a	-
delfinidyno- 3-glukozyd	1,5%	5,55 a C	5,68 a D	5,61 D	4,94 a B	4,89 a B	4,92 C
	3%	5,19 a B	5,34 a C	5,27 C	4,77 a AB	4,76 a AB	4,77 BC
	6%	4,89 a AB	5,05 a B	4,97 B	4,66 a A	4,59 a A	4,62 AB
	12%	4,65 a A	4,73 a A	4,69 A	4,52 a A	4,45 a A	4,48 A
	$\bar{X}$	5,07 a	5,20 a	-	4,72 a	4,67 a	-
delfinidyno- 3-arabinozyd	1,5%	10,79 a C	11,04 a D	10,91 D	9,88 a B	9,78 a B	9,83 C
	3%	10,09 a B	10,39 a C	10,24 C	9,54 a AB	9,52 a AB	9,53 BC
	6%	9,51 a A	9,81 a B	9,66 B	9,31 a A	9,18 a A	9,25 AB
	12%	9,06 a A	9,21 a A	9,13 A	9,03 a A	8,90 a A	8,97 A
	$\bar{X}$	9,86 a	10,11 b	-	9,44 a	9,35 a	-
petunidyno- 3-galaktozyd	1,5%	5,83 a C	5,92 a C	5,88 D	6,67 a B	6,60 a B	6,63 C
	3%	5,52 a B	5,61 a B	5,56 C	6,44 a AB	6,43 a B	6,43 BC
	6%	5,28 a AB	5,36 a B	5,32 B	6,29 a A	6,20 a AB	6,24 AB
	12%	5,06 a A	5,07 a A	5,06 A	6,10 a A	6,01 a A	6,05 A
	$\bar{X}$	5,42 a	5,49 a	-	6,37 a	6,31 a	-
petunidyno- 3-glukozyd	1,5%	4,86 a C	4,93 a C	4,90 D	5,33 a B	5,28 a B	5,31 C
	3%	4,60 a B	4,67 a B	4,64 C	5,15 a AB	5,14 a B	5,15 BC
	6%	4,40 a AB	4,46 a B	4,43 B	5,03 a A	4,96 a AB	5,00 AB
	12%	4,22 a A	4,22 a A	4,22 A	4,88 a A	4,81 a A	4,84 A
	$\bar{X}$	4,52 a	4,57 a	-	5,10 a	5,05 a	-

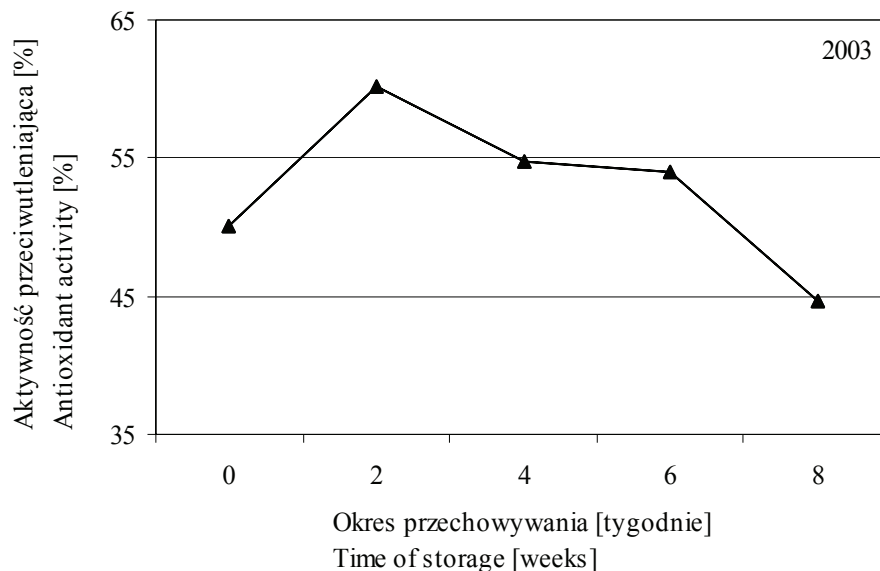
c.d. Tab. 4

petunidyno- 3-arabinozyd	1,5%	4,68 a C	4,75 a C	4,72 D	5,75 a B	5,70 a B	5,72 C
	3%	4,43 a B	4,50 a B	4,47 C	5,56 a AB	5,55 a B	5,55 BC
	6%	4,24 a AB	4,30 a B	4,27 B	5,43 a A	5,35 a AB	5,39 AB
	12%	4,07 a A	4,07 a A	4,07 A	5,26 a A	5,19 a A	5,23 A
	$\bar{X}$	4,35 a	4,40 a	-	5,50 a	5,45 a	-
malvidyno- 3-galaktozyd	1,5%	20,62 a C	21,05 a D	20,83 D	20,98 a B	20,72 a B	20,85 C
	3%	19,40 a B	19,91 a C	19,66 C	20,18 a AB	20,18 a B	20,18 BC
	6%	18,39 a A	18,92 a B	18,65 B	19,64 a A	19,41 a AB	19,53 AB
	12%	17,67 a A	17,87 a A	17,77 A	19,11 a A	18,79 a A	18,95 A
	$\bar{X}$	19,02 a	19,44 b	-	19,98 a	19,77 a	-
malvidyno- 3-glukozyd	1,5%	12,16 a C	12,35 a C	12,26 D	10,49 a B	10,36 a B	10,42 C
	3%	11,50 a B	11,68 a B	11,59 C	10,09 a AB	10,09 a B	10,09 BC
	6%	10,98 a AB	11,16 a B	11,07 B	9,82 a A	9,70 a AB	9,76 AB
	12%	10,52 a A	10,53 a A	10,53 A	9,56 a A	9,40 a A	9,48 A
	$\bar{X}$	11,29 a	11,43 a	-	9,99 a	9,89 a	-
malvidyno- 3-arabinozyd	1,5%	20,02 a C	20,43 a D	20,23 D	20,99 a B	20,73 a B	20,86 C
	3%	18,84 a B	19,33 a C	19,08 C	20,18 a AB	20,18 a B	20,18 BC
	6%	17,85 a A	18,37 a B	18,11 B	19,64 a A	19,41 a AB	19,53 AB
	12%	17,16 a A	17,34 a A	17,25 A	19,11 a A	18,79 a A	18,95 A
	$\bar{X}$	18,47 a	18,87 b	-	19,98 a	19,78 a	-

Objaśnienie jak w tab. 1. / Explanation as in Tab. 1.

Ocena aktywności przeciwutleniającej borówek wykazała wzrost siły wiązania wolnych rodników DPPH po 2 tygodniach przechowywania owoców, jednak w kolejnych terminach analiz obserwowano istotne zmniejszenie wartości tego wskaźnika (rys. 1). Analiza statystyczna wyników metodą kontrastów wykazała istotnie wyższą aktywność przeciwutleniającą borówek przechowywanych w kontrolowanej atmosferze niż w chłodni zwykłej. Jednak wpływ składu gazowego atmosfery chłodni na aktywność przeciwutleniającą owoców okazał się statystycznie nieistotny (wyników nie przedstawiono). Stwierdzone w doświadczeniu zmiany aktywności przeciwutleniającej jagód wykazują zależność z zawartością antocyjanów ogółem. Uzyskane wyniki stanowią potwierdzenie badań Kalt i wsp. [9] oraz Connora i wsp. [3], którzy podają, że pojemność przeciwutleniająca owoców borówki wysokiej zależy w dużym stopniu od zawartości polifenoli, a zwłaszcza antocyjanów.

Podobnie, jak w przypadku antocyjanów, również aktywność przeciwutleniająca owoców nie zależała w sposób statystycznie istotny od stężenia dwutlenku węgla, natomiast wykazała taką zależność ze stężeniem tlenu. Owoce przechowywane w atmosferze o zawartości tlenu 1,5% wykazały istotnie wyższą aktywność przeciwutleniającą, zwłaszcza w porównaniu z borówkami, w których otoczeniu utrzymywano 12% tlenu (tab. 5).



Rys. 1. Wpływ okresu przechowywania na aktywność przeciwutleniającą owoców borówki wysokiej; średnio z różnych warunków przechowywania.

Fig. 1. Effect of time of storage on antioxidant activity blueberries fruit; mean for different storage conditions.

Tabela 5

Aktywność przeciwutleniająca owoców borówki wysokiej zależnie od stężenia tlenu i dwutlenku węgla w KA; średnio z różnych okresów przechowywania [%].

Antioxidant activity of high bush blueberries fruit depending on oxygen and carbon dioxide concentration in CA; mean for different storage periods.

		2003		
		12%	18%	$\bar{x}$
O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub> 1,5%	55,3 a B	55,2 a B	55,3 B
	3%	53,9 a AB	54,4 a B	54,1 AB
	6%	53,1 a A	53,0 a AB	53,1 AB
	12%	52,4 a A	52,0 a A	52,2 A
	$\bar{x}$	53,6 a	53,6 a	

Objasnienie jak w tab. 1. / Explanation as in Tab. 1.

## Wnioski

1. Owoce borówki wysokiej przechowywane w chłodni z kontrolowaną atmosferą, zwłaszcza o niskiej zawartości tlenu (1,5 lub 3%), wyróżniają się wyższą zawartością antocyjanów oraz aktywnością wiązania wolnych rodników DPPH niż owoce z chłodni zwykłej
2. Ograniczenie zawartości tlenu w atmosferze chłodni jest głównym czynnikiem wpływającym na wysoką zawartość poszczególnych antocyjanów w owocach borówki wysokiej. Oddziaływanie dwutlenku węgla jest sporadyczne i dotyczy głównie związków z grupy delfinidyn i malwidyn.

## Literatura

- [1] Basiouny F.M., Chen Y.: Effects of harvest date, maturity and storage intervals on postharvest quality of rabbiteye blueberries (*Vaccinium ashei* Reade). Proc. Fla. State Hort. Soc., 1988, **101**, 281-284.
- [2] Connor A.M., Luby J.J., Hancock J.F., Berkheimer M., Hanson E.J.: Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. J. Agric. Food Chem., 2002, **50**, 893-898.
- [3] Connor A.M., Luby J.J., Tong C.B.: Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content and anthocyanin content among blueberry cultivars. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 2002, **127**, 89-97.
- [4] Ehlenfeldt M.K., Prior R.L.: Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentration in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. J. Agric. Food Chem., 2001, **49**, 2222-2227.
- [5] Forney C.F., Neily W.G., Kumudini U.K.G.N.: Controlled atmosphere storage of highbush blueberries in Nova Scotia., 2002, [http://www.nsac.ns.ca/conferences/nabrew/abstracts\\_p.htm](http://www.nsac.ns.ca/conferences/nabrew/abstracts_p.htm).
- [6] Fuleki T., Francis F.J.: Quantitative methods for anthocyanins. J. Food Sci., 1968, **33**, 72.
- [7] Gao L., Mazza G.: Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolic in blueberries. J. Food Sci., 1994, **57**, 1057-1059.
- [8] Häkkinen S.H., Kärenlampi S.O., Mykkänen H.M., Törrönen A.R.: Influence of domestic processing and storage on flavonol content in berries. J. Agric. Food Chem., 2000, **48**, 2960-2965.
- [9] Kalt W., Forney C.F., Martin A., Prior R.L.: Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruit. J. Agric. Food Chem., 1999, **47**, 4638-4644.
- [10] Kalt W., McDonald J.E.: Chemical composition of lowbush blueberry cultivars. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 1996, **121**, 142-146.
- [11] Prior R.L., Cao G., Martin A., Sofic E., McEwen J., O'Brien C., Lischner N., Ehlenfeldt M., Kalt W., Krewer G., Mainland C.M.: Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of vaccinium species. J. Agric. Food Chem., 1998, **46**, 2686-2693.
- [12] Saint Crieg de Gaulejac N., Provost C., Viras N.: Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. J. Agric. Food Chem., 1999, **47** (2), 425-431.
- [13] Stewart D., Oparka J., Johnstone C., Iannetta P.P.M., Davies H.V.: Effect of modified packaging (MAP) on soft fruit quality. In: Ann. Rep. Scottish Res. Institute for 1999. Scottish Crop Research Institute Invergowrie, Dundee, Scotland, 1999, s. 119-124.
- [14] Zheng Y., Wang C.Y., Wang S.Y., Zheng W.: Effect of high-oxygen atmospheres on blueberry phenolics, anthocyanins and antioxidant capacity. J. Agric. Food Chem., 2003, **51**, 7162-7169.

**EFFECTS OF STORAGE CONDITION ON ANTHOCYANIN CONTENT AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY IN Highbush BLUEBERRIES FRUIT****S u m m a r y**

Mature 'Bluecrop' berries, with no visible damage on the fruit surface, were picked by hand and placed in CA consisting of 8 different CO<sub>2</sub>:O<sub>2</sub> concentrations (12:1.5, 12:3, 12:6, 12:12 and 18:1.5, 18:3, 18:6, 18:12) and in common cold storage for 8 weeks at 0°C. HPLC was used to separate and determine individual anthocyanins compounds in blueberry fruit. Bluecrop blueberries contained 14 anthocyanins: delphinidin-3-glucoside, delphinidin-3-galactoside, delphinidin-3-arabinoside, cyaniding-3-glucoside, cyanidin-3-galactoside, cyanidin-3-arabinoside, peonidin-3-glucoside, peonidin-3-galactoside, petunidin-3-glucoside, petunidin-3-galactoside, petunidin-3-arabinoside, malvidin-3-glucoside, malvidin-3-galactoside, malvidin-3-arabinoside. Higher contents of those pigments were observed in fruits stored in CA, especially in atmospheres of lower oxygen contents than in common cold storage. During successive dates of analysis the contents of those components decreased. Changes in the antioxidative activity of berries showed a high similarity with the total anthocyanin content.

**Key words:** high bush blueberries, anthocyanins, HPLC, antioxidant activity 

MACIEJ KULIGOWSKI, JACEK NOWAK

## AKTYWNOŚĆ ANTYBAKTERYJNA IZOLATÓW Z PODŁOŻY POHODOWLANYCH PLEŚNI *RHIZOPUS OLIGOSPORUS*

### Streszczenie

W pracy podjęto próbę oceny właściwości antybakteryjnych tempeh wytworzonego z poddanych fermentacji przy użyciu szczepu *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 nasion fasoli odmiany Igołomska i monitorowano kształtowanie się aktywności czynnika antybakteryjnego w czasie 48-godzinnej fermentacji. Jako mikroorganizmu wskaźnikowego użyto szczepu bakterii *Bacillus subtilis* DSM 347. Do oceny inhibicji wzrostu bakterii zastosowano metody: studzienkową, krążkową, nefelometryczną oraz pomiar zmian impedancji. Obecność czynnika antybakteryjnego w tempeh z fasoli stwierdzono za pomocą metod: nefelometrycznej i pomiaru zmian impedancji. Największą aktywnością hamującą wzrost testowanych bakterii charakteryzowały się izolaty z tempeh otrzymane po 40 h fermentacji. Sposób obróbki hydrotermicznej nasion fasoli miał wpływ na aktywność antybakteryjną izolatów z tempeh.

**Słowa kluczowe:** tempeh z fasoli, aktywność antybakteryjna, *Rhizopus oligosporus*, *Bacillus subtilis*

### Wprowadzenie

Grzyby strzępkowe, oprócz tego, że są potencjalnym źródłem pozyskiwania białek i enzymów [6], szczególne zastosowanie znalazły na wyspach Indonezyjskich, gdzie od lat służą do wytwarzania fermentowanej żywności typu tempeh [13]. Obłuszczone, moczona i gotowana soja jest poddawana fermentacji grzybowej w zakresie temp. 25-37°C przez 24-72 h. Najczęściej do tego typu fermentacji stosowane są szczepy z rodzaju *Rhizopus* [9, 13]. W badaniach do wytwarzania tempeh stosowano również inne nasiona roślin strączkowych oraz zbóż, m.in. łubin [2], groch [10], fasolę [7], orzechy ziemne [1], ciecierzycę [12], owies [13], sorgo [8]. Tempeh zdobywa uznanie konsumentów ze względu na wysokie wartości smakowe i odżywcze [9]. Od wielu lat szczególne zainteresowanie budzą właściwości funkcjonalne tempeh, zwłaszcza zdolność do powstrzymywania biegunki u ludzi i zwierząt [3, 4]. Wykazano, że *R.*

---

Mgr inż. M. Kuligowski, prof. dr hab. J. Nowak, Zakład Fermentacji i Biosyntezy, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego, ul. Wojska Polskiego 31, 60 - 624 Poznań

*oligosporus* syntetyzuje czynnik antybakteryjny, aktywny wobec niektórych mikroorganizmów. W 2005 r. pojawiło się doniesienie [14] o możliwościach przeszczepienia genu z *R. oligosporus* odpowiedzialnego za syntezę polipeptydu o aktywności inhibującej wzrost *B. subtilis*. Jednak do tej pory nie ma jednoznacznych doniesień na temat spektrum działania czynnika antybakteryjnego oraz zmian jego ilości w trakcie wzrostu *R. oligosporus*. Oprócz oceny wpływu ekstraktów z tempeh, wytworzonego z grochu, na aktywność *Clostridium perfringens* [10], nie ma w literaturze doniesień dotyczących aktywności antybakteryjnej tempeh wytworzonego z innych niż soja nasion roślin strączkowych.

Celem przeprowadzonych badań było określenie potencjalnych zdolności antybakteryjnych izolatów z tempeh, wytworzonego z nasion fasoli, wobec *B. subtilis* oraz monitorowanie zmian ich aktywności w trakcie 48-godzinnej hodowli.

### Material i metody badań

Material do badań stanowił tempeh wytworzony z nasion fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris*) odmiany Igołomska – otrzymanej z Przedsiębiorstwa Nasiennictwa Ogrodniczego i Szkółkarstwa „CNOS” Poznań. Do fermentacji tempeh stosowano szczep *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 otrzymany z National Regional Research Center, Peoria, Illinois, USA. Szczepem testowym do pomiaru aktywności antybakteryjnej był *Bacillus subtilis* DSM 347 pochodzący z Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Niemcy.

Do obróbki hydrotermicznej nasion fasoli zastosowano dwie metody, opracowane na podstawie metodyki stosowanej przez Egounletiego [1] (metoda A) oraz Kiersa (metoda B) [4] do nasion soi. Zmodyfikowano czas poszczególnych operacji odpowiednio do stosowanego surowca.

#### Metoda A

Nasiona fasoli gotowano przez 20 min, obłuszczano i ponownie gotowano przez 5 min.

#### Metoda B

Nasiona fasoli moczo przez 14 h, obłuszczano i gotowano przez 5 min.

Do każdej operacji hydrotermicznej stosowano wodę wodociągową zakwaszoną do pH 5,0 kwasem mlekowym. Po zakończeniu obróbki hydrotermicznej nasiona pozostawiano do obsuszenia w temp. pokojowej ( $22 \pm 3^\circ\text{C}$ ) przez 15 min. Tak przygotowane nasiona zaszczipiano inokulum zarodników *R. oligosporus*. Następnie nasiona fasoli umieszczano w płytkach Petriego i inkubowano przez 48 h w temp.  $37^\circ\text{C}$ , pobierając próbki do analiz co 4 h. Z przygotowanych próbek odważano 10 g, dodawano 20 ml destylowanej wody i poddawano homogenizacji w homogenizatorze H500 (Pol-

Eko-Aparatura, Polska) przy 15 tys. obrotów przez 4 min. Zawiesinę filtrowano, a przygotowane izolaty z tempeh mrożono i przechowywano do dalszych analiz.

Oznaczanie aktywności antybakteryjnej prowadzono za pomocą metod: studzienkowej, krążkowej, nefelometrycznej oraz pomiaru zmian impedancji.

W każdej metodzie inokulum stanowiła zawiesina komórek *Bacillus subtilis* DSM 347 przygotowana poprzez 24 h hodowlę na wstrząsarce w temp. 30°C przy 120 obr./min. Podłoże do hodowli stanowił bulion odżywczy wg DSM o składzie: 3 g ekstraktu mięsnego, 5 g peptonu, 1000 ml wody; pH ustalano na poziomie 6,5.

#### *Metoda studzienkowa*

Bulion odżywczy wg DSM w ilości 90 ml z 2% dodatkiem agaru zaszczipiano 10 ml inokulum i rozlewano na płytki Petriego. Po zestaleniu agaru dokonywano korkoborem wycięcia studzienki o średnicy 10 mm, do której wkraplano 0,1 ml izolatu z tempeh. Próbę odniesienia stanowiły płytki Petriego, w których izolaty zastąpiono wodą destylowaną. Płytki inkubowano w temp. 30°C przez 24 h.

#### *Metoda krążkowa*

Na płytce przygotowane jak w przypadku zastosowania metody studzienkowej nakładano krążki bibułowe o średnicy 8 mm, nasączone izolatem z tempeh. Próbę odniesienia stanowiły krążki bibułowe nasączone wodą destylowaną. Płytki inkubowano w temp. 30°C przez 24 h.

#### *Metoda nefelometryczna*

Do 8,5 ml bulionu odżywczego wg DSM dodawano 1 ml inokulum komórek *B. subtilis* i 0,5 ml izolatu z tempeh. Hodowlę prowadzono w temp. 30°C na wstrząsarce przy 120 obr./min przez 3 h. Następnie dokonywano pomiaru absorbancji przy długości fali 650 nm. Próbę odniesienia stanowiła hodowla *B. subtilis*, w której izolaty z tempeh zastąpiono wodą destylowaną.

#### *Pomiar impedancji*

Pomiaru impedancji dokonywano w urządzeniu BacTrac 4100 (Sy-Lab, Austria) monitorującym zmiany impedancji podłoża w czasie. Warunki hodowli były identyczne, jak w przypadku stosowania metody nefelometrycznej, z pominięciem wstrząsania.

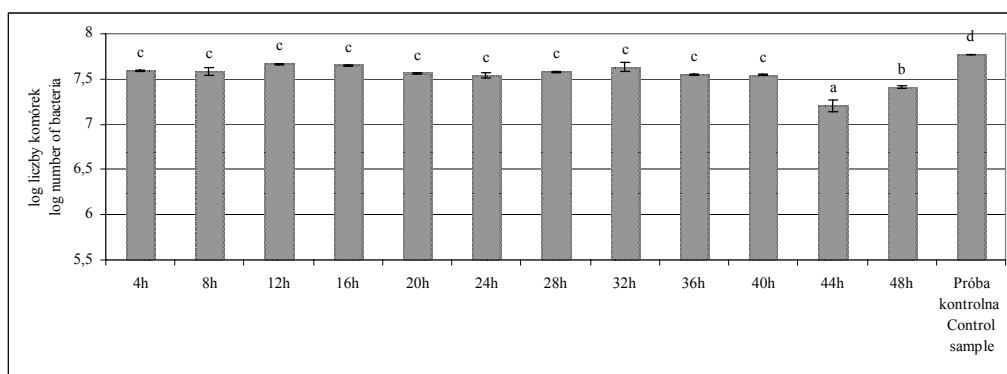
Oznaczenia przeprowadzono w 5 powtórzeniach. Do oceny statystycznej wyników zastosowano analizę wariancji i ocenę najmniejszej istotnej różnicy (NIR) przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .



## Wyniki i dyskusja

Przy zastosowaniu metody krążkowej i studzienkowej nie stwierdzono w izolatach z tempoh aktywności antybakteryjnej wobec testowanego szczepu bakterii. Otrzymane rezultaty w odniesieniu do metody krążkowej są zgodne z wynikami uzyskanymi przez Kiersa i wsp. w odniesieniu do soi [4].

Wyniki uzyskane metodą oceny wzrostu z użyciem pomiaru absorbancji wskazują na występowanie niewielkiego hamowania wzrostu testowego szczepu bakterii przy zastosowaniu izolatów z tempoh fasolowego. Po dokonaniu pomiaru absorbancji obliczono liczbę komórek na podstawie sporządzonej krzywej wzorcowej. Wyniki podano jako logarytm liczby komórek bakterii, wykorzystując sporządzoną krzywą wzorcową. Aktywność antybakteryjna izolatów z tempoh była uzależniona od czasu fermentacji. Izolaty powodowały hamowanie wzrostu maksymalnie o 0,72 wartości logarytmicznej liczby komórek w stosunku do próby odniesienia. Za pomocą testu NIR uszeregowano wartości logarytmu z liczby komórek, co pozwoliło zróżnicować otrzymane wyniki. Wartości oznaczone na wykresie różnymi literami (rys. 1 i 2) różnią się statystycznie istotnie. W przypadku zastosowania metody A do obróbki hydrotermicznej nasion, najwyższą zdolnością inhibicji wzrostu charakteryzował się izolat otrzymany z 48. h fermentacji tempoh, natomiast brak zdolności do hamowania wzrostu wykazywały izolaty z tempoh z 4., 8., i 40. h fermentacji (rys. 1). Po zastosowaniu metody B do obróbki hydrotermicznej nasion, największą zdolnością inhibicji wzrostu szczepu charakteryzowały się izolaty z 44. i 48. h fermentacji tempoh (rys. 2).

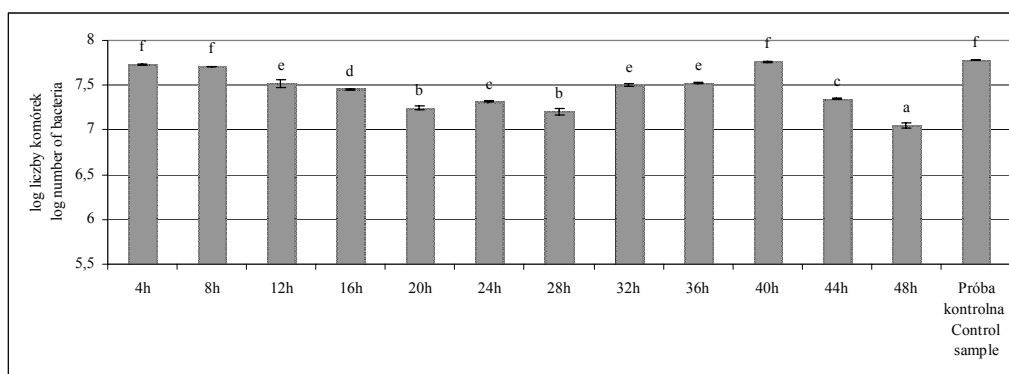


Rys. 1. Wpływ dodatku izolatów z tempoh wytworzonego za pomocą metody A na liczbę komórek *B. subtilis* po 3 h hodowli w temp. 37°C.

Fig. 1. The effect of isolates from tempeh made by method A on the *B. subtilis* cells number after 3 h culture at 37°C.

Uzyskane wyniki wskazują na wyższą aktywność czynnika antybakteryjnego po 40 h wzrostu *R. oligosporus* na podłożu fasolowym. Najwyższą aktywność czynnika

antybakteryjnego stwierdzono w izolacie z 48. h fermentacji tempeh otrzymanego za pomocą obróbki hydrotermicznej metodą A. Do tej pory nie przeprowadzono badań nad dynamiką tworzenia czynnika antybakteryjnego w trakcie fermentacji. Nowak i wsp. [10] do oznaczania aktywności antybakteryjnej zastosowali izolaty z 24 h fermentacji, Kobayasi i wsp. stosowali ekstrakty z tempeh po 48 h fermentacji [5], natomiast Kiers i wsp. wykorzystali izolaty z 48. i 96. h fermentacji tempeh [4].



Rys. 2. Wpływ dodatku izolatów z tempeh wytworzonego za pomocą metody B na liczbę komórek *B. subtilis* po 3 h hodowli w temp. 37°C.

Fig. 2. The effect of isolates from tempeh made by method B on the *B. subtilis* cells number after 3 h culture at 37°C.

Poszukując metod pozwalających na bardziej precyzyjną ocenę aktywności antybakteryjnej fermentowanego produktu z fasoli, zastosowano metodę pomiaru zmian impedancji hodowli bakterii *B. subtilis*. W tym przypadku obserwowano zmiany w hodowli testowej przez 36 h wzrostu bakterii *B. subtilis*. Podobnie, jak w poprzednich metodach, do hodowli dodano izolaty tempeh z fasoli pochodzące z różnych etapów fermentacji. W przypadku izolatów z tempeh, do których wytworzenia zastosowano metodę obróbki hydrotermicznej A, dodano do hodowli izolaty z 16., 20., 24., 44. i 48. h fermentacji tempeh, które przy oznaczaniu nefelometrycznym należały do grup istotnie się różniących (z wyjątkiem izolatów z 22. i 44. h, które nie różniły się statystycznie istotnie). Zrezygnowano z dodatku do hodowli testowej izolatów, które przy oznaczaniu absorbancji nie wykazywały inhibicji wzrostu bakterii *B. subtilis*. Do oceny aktywności antybakteryjnej tempeh, do których wytworzenia zastosowano metodę B, zastosowano izolaty z identycznych etapów fermentacji jak w przypadku metody A. Krzywe wzrostu hodowli bakterii testowych z dodatkiem izolatów z tempeh wykreślono na podstawie zmian wartości impedancji w czasie hodowli (rys. 3 i 4).

Czas trwania lag fazy stanowił wskaźnik aktywności czynnika hamującego wzrost bakterii *B. subtilis*, obecnego w dodanych izolatach z tempeh. Najdłuższy czas lag fazy

obserwowano w przypadku użycia izolatów z tempeh, do których wytworzenia zastosowano metodę obróbki A, najwyższą zdolność hamowania wzrostu hodowli testowej wykazywał izolat z tempeh po 44 h fermentacji. W przypadku stosowania do obróbki metody B, najwyższą aktywnością (wydłużenie czasu lag fazy) wykazywał izolat tempeh z 48 h fermentacji. Czas lag fazy hodowli *B. subtilis* wahał się od 4 do 14 h.

Przeprowadzone badania potwierdzają występowanie, w produkcie typu tempeh wytworzonego z fasoli, czynnika opóźniającego wzrost bakterii, opisanego przez Kiersa i wsp. [4], a wytwarzanego z soi tempeh. Izolaty z podłoża pochodzących *R. oligosporus* wykazywały aktywność antybakteryjną wobec *Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus* [5], a także *Clostridium perfringes* [10]. Kiers i wsp. wykazali aktywność antybakteryjną izolatów z tempeh wobec *Bacillus stearothermophilus*, nie potwierdzając jednocześnie wcześniejszych doniesień o zdolności do inhibicji wzrostu *B. subtilis* [4]. Oprócz nielicznych doniesień o hamowaniu aktywności jelitowych bakterii *C. perfringenes* przez izolaty z tempeh wytworzonego z nasion grochu [10], brak jest w literaturze informacji o występowaniu czynnika antybakteryjnego w tempeh uzyskanym z innych niż soja surowców.

Najpowszechniej stosowaną metodą do oznaczania aktywności czynnika antybakteryjnego w tempeh była metoda krążkowa. Większość badaczy zastosowała również inne metody do oceny aktywności tego czynnika. Kobayasi i wsp. [5] zastosowali pomiar turbidymetryczny, Nowak i wsp. [10] pomiar objętości gazu wytwarzanego przez mikroorganizmy. Kiers i wsp. [4] stosując metodę krążkową nie uzyskali wyników tożsamyh z wynikami Kobayasiego i wsp., którzy jako najbardziej podatne na działanie czynnika antybakteryjnego zawartego w izolatach z tempeh określili szczepy *B. subtilis*. Niniejsze badania potwierdziły, że metody krążkowa i studzienkowa, polegające na dyfuzji czynników w głąb pożywki agarowej, nie są wystarczająco czułe do określania aktywności antybakteryjnej izolatów z tempeh. Co prawda Kiers i wsp. [4] wykazali, stosując metodę krążkową, aktywność antybakteryjną izolatów z tempeh wobec *B. stearothermophilus*, jednak niektóre mikroorganizmy wydają się szczególnie podatne na działanie czynnika antybakteryjnego z tempeh.

Wobec coraz większej popularności produktów fermentowanych typu tempeh i coraz powszechniejszego poszukiwania nowych surowców do jego wytwarzania, ocena nowych produktów, również pod względem występowania ewentualnej aktywności hamującej wzrost drobnoustrojów (zwłaszcza jelitowych), ma znaczenie dla bezpieczeństwa żywieniowego. Wydaje się, że badania nad czynnikiem antybakteryjnym produktów typu tempeh oraz spektrum jego oddziaływania może przyczynić się do lepszego poznania możliwości korzystnego wpływu tego typu produktów na równowagę mikroflory jelitowej konsumentów.

## Wnioski

1. Wykazano, że izolaty uzyskane z tempeh fasolowego miały zdolności inhibicji wzrostu bakterii *B. subtilis*.
2. Największą zdolnością do hamowania wzrostu bakterii *B. subtilis* charakteryzowały się izolaty uzyskane po 40 h fermentacji surowca fasolowego.
3. Sposób obróbki hydrotermicznej nasion fasoli miał wpływ na aktywność antybakteryjną izolatów z tempeh.

*Mgr inż. M. Kuligowski jest stypendystą w ramach Działania 2.6 Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego finansowanym z Europejskiego Funduszu Społecznego Unii Europejskiej i z budżetu państwa*

## Literatura

- [1] Egounlety M., Aworh O.C.: Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max Merr.*), cowpea (*Vigna unguiculata L. Walp*) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa Harms*). J. Food Eng. 2003, **56**, 249–254.
- [2] Fudiyansyah N., Petterson D.S., Bell R.R., Fairbrother A.H.: Anutritional, chemical and sensory evaluation of lupin (*L. angustifolius*) tempe. Int. J. Food Sci. Tech., 1995, **30**, 297–305.
- [3] Kiers J.L., Meijer J. C., Nout M.J.R., Rombouts F.M., Nabuurs M.J.A., van der Meulen J.: Effect of fermented soya beans on diarrhea and feed efficiency in weaned piglets. J. Appl. Microbiol., 2003, **95**, 545–552.
- [4] Kiers J.L., Nout M.J.R., Rombouts F.M., Nabuurs M.J.A., van der Meulen J.: Inhibition of adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 by soya bean tempe. Lett. Appl. Microbiol., 2002, **35**, 311–315.
- [5] Kobayasi S., Okazaki N., Koseki T.: Purification and characterization of an antibiotic substance produced from *Rhizopus oligosporus* IFO 8631. Biosci. Biotech. Biochem., 1992, **56** (1), 94–98.
- [6] Kumar S., Sharma N.S., Saharan M.R., Singh R.: Extracellular acid protease from *Rhizopus oryzae*: purification and characterization. Proc. Biochem., 2005, **40**, 1701–1705.
- [7] Miszkiewicz H: Zmiany właściwości prozdrowotnych nasion roślin strączkowych w procesie fermentacji przy udziale *Rhizopus oligosporus*. W: Enzymatyczne modyfikacje składników żywności – pod red. E. Kołakowskiego, W. Bednarskiego, S. Bieleckiego. Wyd. AR w Szczecinie. Szczecin 2005, s. 479–492.
- [8] Mugula J.K. Lyimo M.: Evaluation of the nutritional quality and acceptability of sorghum based tempe as potential weaning foods in Tanzania. Int. J. Food Sci. Nutr., 2000, **51**, 269–277.
- [9] Nout M.J.R., Kiers J.L.: Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millennium. J. Appl. Microbiol., 2005, **98**, 789–805.
- [10] Nowak J., Steinkraus K.H., Effect of tempeh fermentation of peas on their potential flatulence productivity as measured by gas production and growth of *Clostridium perfringens*. Nutr. Rep. Int., 1988, **38**, 1163.
- [11] Nowak J.: Oats Tempeh. *Acta Biotechnol.*, 1992, **12**, 345–348.

- [12] Reyes-Moreno C., Romero-Urias C.A., Milan-Carrillo J., Gomes-Garza R.M.: Chemical composition and nutritional quality of fresh and hardened chickpea (*Cicer arietinum* L) after the solid state fermentation (SSF). *Food Sci. Technol. Inter.*, 2000, **6**, 251-258.
- [13] Steinkraus K.H.: Handbook of indigenous fermented foods. Microbiology series. Marcel Dekker, New York 1995.
- [14] Yamada O., Sakamoto K., Tominaga M., Nakayama T., Koseki T., Fujita A., Akita O.: Cloning and heterologous expression of the antibiotic peptide (ABP) genes from *Rhizopus oligosporus* NBRC 8631. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 2005, **69** (3), 477-482.

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ISOLATES FROM AFTER GROWTH MOULDS  
*RHIZOPUS OLIGOSPORUS***

S u m m a r y

The antibacterial activities of isolates obtain from tempeh made from beans Igołomska variety fermented by *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 was assessed in this study. The antibacterial factor was estimated during 48 h fermentation. *Bacillus subtilis* DSM 347 was used as a test microorganism. The assessment of bacteria growth inhibition was performed by using several method: paper disk, agar slab well, nephelometric and measurement of impedance changes. Isolates obtain after 40h fermentation showed the highest inhibition of growth of test bacteria. The kind of hydrothermal treatment of bean seeds had an influence on the antibacterial activity.

**Key words:** tempeh from beans, antibacterial activity, *Rhizopus oligosporus*, *Bacillus subtilis* ☒

EWA MAJEWSKA, EWA BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK, KINGA SUŁOWSKA

## DROŻDŻE PIEKARSKIE JAKO BIAKATALIZATOR REAKCJI HYDROLIZY ESTRÓW

### Streszczenie

Jedną z metod modyfikacji tłuszczów jest reakcja enzymatycznego przeestryfikowania, wykorzystująca enzymy lipolityczne. Z uwagi na złożony proces izolacji enzymy te są reagentami kosztownymi i trudnodostępnymi. Alternatywnym rozwiązaniem może być użycie mikroorganizmów produkujących enzymy, bez konieczności wydzielenia ich w czystej postaci. Rolę tę mogą spełniać drożdże piekarskie (*Saccharomyces cerevisiae*), które są źródłem różnych enzymów, wykazujących katalityczny wpływ na przebieg wielu reakcji chemicznych.

Celem pracy było wstępne rozpoznanie możliwości wykorzystania drożdży piekarskich do modyfikacji triacylogliceroli. Jako modelową reakcję wybrano hydrolizę dioctanu heksano-1,2-diolu – estru zawierającego grupy acetylowe o różnej rzędowości. Proces hydrolizy prowadzono w obecności drożdży liofilizowanych, drożdży prasowanych lub biomasy szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 102, jako biokatalizatorów, w roztworze wodnym, w temp. 30°C przy stałym mieszaniu. Postęp reakcji kontrolowano metodą chromatografii gazowej. Stwierdzono, że hydrolazy wydzielane przez drożdże wykazywały regioselektywność w stosunku do grup acetylowych o różnej rzędowości, powodując dwukrotnie szybszą hydrolizę grupy pierwszorzędowej, co stwarza praktyczne perspektywy wykorzystania drożdży piekarskich w przemianach acylogliceroli. Rodzaj użytych drożdży piekarskich nie miał znaczącego wpływu na szybkość reakcji.

**Słowa kluczowe:** drożdże piekarskie, triacyloglicerole, lipazy, hydroliza

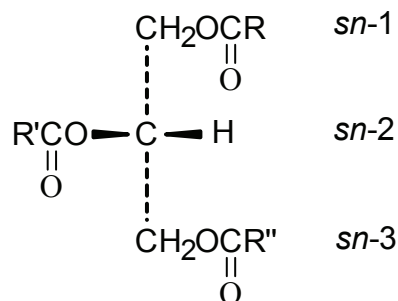
### Wprowadzenie

Tłuszcze – estry glicerolu i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych – stanowią jeden z podstawowych składników pożywienia człowieka, pełniąc w organizmie funkcje energetyczne i metaboliczne. Są one strukturalną częścią błon komórkowych oraz bogatym źródłem wielu substancji biologicznie czynnych, takich jak witaminy A, D, E, K czy niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT).

Właściwości funkcjonalne i żywieniowe, takie jak: plastyczność, konsystencja, temperatura topnienia czy stabilność oksydacyjna, różnych produktów spożywczych kształtowane są głównie przez tłuszcze i zależą nie tylko od rodzaju kwasów tłuszczowych estryfikowanych w triacyloglicerolach, ale również od rozkładu tych kwasów w cząsteczkach triacylogliceroli. Procesem pozwalającym na zmianę tych właściwości, w celu uzyskania produktu o pożądanym parametrach, jest modyfikacja tłuszczów, a jednym z jej sposobów jest reakcja enzymatycznego przeestryfikowania z użyciem enzymów lipolitycznych zwanych lipazami. Lipazy zdefiniowano jako hydrolazy estrów glicerolowych; enzymy hydrolizujące estry innych alkoholi niż glicerol zaliczono do esteraz [3].

W procesie modyfikacji tłuszczów lipazy katalizują wiele reakcji m.in.: hydrolizę, estryfikację, interestryfikację, alkoholizę czy acydolizę. Mechanizm działania katalitycznego większości znanych lipaz zależy od właściwości substratu i warunków procesu. Reakcje hydrolizy i resyntezy, zachodzące podczas enzymatycznego przeestryfikowania, są odwracalne. W roztworze wodnym przebiega hydroliza, natomiast reakcja resyntezy przeważa w środowiskach o ograniczonej zawartości wody [5].

Wiele lipaz wykazuje regioselektywność, polegającą na rozróżnianiu w cząsteczce triacyloglicerolu pozycji zewnętrznych (pierwszorzędowe wiązania estrowe) od pozycji wewnętrznej (drugorzędowe wiązania estrowe). W czasie lipolizy lipaza *sn*-1,3 regio-specyficzna preferuje hydrolizę wiązań estrowych w pozycjach *sn*-1 i *sn*-3 triacyloglicerolu (rys.1).



Rys. 1. Pozycje *sn*-1, *sn*-2, *sn*-3 w cząsteczkach triacylogliceroli.

Fig. 1. Representation of *sn*-nomenclature of triacylglycerols.

Prowadzi to do powstania równomolowej mieszaniny *sn*-1,2 diacylogliceroli i *sn*-2,3 diacylogliceroli, która następnie może hydrolizować dalej do *sn*-2 monoacylogliceroli.

Enzymy lipolityczne otrzymywane są z grzybów, bakterii oraz tkanek zwierzęcych i roślinnych. W skali przemysłowej stosowane są lipazy pochodzenia zwierzęcego oraz mikrobiologicznego, uzyskiwane głównie z grzybów strzępkowych oraz drożdży.

dży, takich jak *Candida rugosa* i *Candida antartica* [11]. Z uwagi na skomplikowany proces izolacji i oczyszczania enzymów oraz mały rynek zbytu, lipazy są reagentami kosztownymi. Wygodniejszym rozwiązaniem byłoby zastosowanie mikroorganizmów, a zwłaszcza drożdży piekarskich (*Saccharomyces cerevisiae*), które w przeciwieństwie do enzymów są surowcem tanim, dostępnym i łatwym w użyciu (nie wymagają sterylnych warunków hodowli). Komórki drożdży są w stanie syntetyzować kilkaset enzymów [10], (takich jak oksydoreduktazy i hydrolazy), a także koenzymy niezbędne do przebiegu wielu procesów utleniania i redukcji. Drożdże piekarskie są z powodzeniem wykorzystywane od lat w syntezie chemicznej [2, 9], głównie w reakcjach redukcji związków karbonylowych. Stwierdzono, że mają one również wpływ na przebieg innych reakcji chemicznych np. reakcję hydrolizy. Można je stosować w postaci prasowanej, suchej, liofilizowanej czy immobilizowanej, a reakcje z ich udziałem zachodzą zarówno w wodzie, jak i w rozpuszczalnikach organicznych.

Obecność enzymów lipolitycznych w drożdżach piekarskich udowodniono już dawno [6], a nawet wydzielono i scharakteryzowano lipazę z frakcji mitochondrialnej drożdży piekarskich i potwierdzono jej aktywność w stosunku do triacylogliceroli [8]. Ostatnio wzrosło zainteresowanie tym zagadnieniem w kontekście inżynierii genetycznej [1, 7], np. poprzez ekspresję genu *lipA* kodującego lipazę A z *Bacillus subtilis* m.in. w drożdżach piekarskich zwiększono ilość wytwarzanej przez nie lipazy. Dotychczas jednak nie podjęto próby zastosowania komórek drożdży w przemianach acylogliceroli.

Celem pracy było wstępne rozpoznanie możliwości wykorzystania drożdży piekarskich do modyfikacji triacylogliceroli. Ponieważ cechą decydującą o przydatności lipaz w tej reakcji jest ich regioselektywność, pierwszym etapem badań było porównanie katalitycznego efektu drożdży w reakcji hydrolizy estrów alkoholi pierwszo- i drugorzędowych. Jako modelową reakcję wybrano hydrolizę dioctanu heksano-1,2-diolu – estru zawierającego grupy acetylowe o różnej rzędowości.

### **Material i metody badań**

Proces hydrolizy prowadzono w obecności drożdży liofilizowanych (S. I. Lesaffre), drożdży prasowanych (Józefów) lub biomasy szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 102 (wyhodowanego w Zakładzie Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności WTŻ SGGW), jako biokatalizatorów, w roztworze wodnym, w temp. 30°C przy stałym mieszanin.

Do hodowli wglębnej szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 102 zastosowano płynne podłoże YPD o następującym składzie: 2% glukozy, 2% peptonu i 1% ekstraktu drożdżowego. Do przechowywania drożdży na skosach stosowano podłoże YPD z 2% agarrem. Wszystkie podłoża wyjałowiono w autoklawie w temp. 121°C przez 20 min, a ich pH ustalono na poziomie 5,0. Do przygotowania podłoży używano wody dejonizowanej.



Biomasę szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 102 namnażano w podłożu YPD posiewanym materiałem komórkowym z hodowli na skosie (YPD z 2% agarem). Hodowle prowadzono w kolbach o poj. 500 cm<sup>3</sup>, zawierających 80 cm<sup>3</sup> podłoża, na wytrząsarce posuwisto-zwrotnej SM-30 Control (Edmund Bühler, Niemcy) o częstotliwości drgań 250 cykli na min, w temp. 28°C przez 48 godz. Zawartość kolb przenoszono do uprzednio zważonych gilz i wirowano przez 10 min przy 3500 obr./min (Centrifuge type MPW – 365, Polska). Supernatant zlewano z osadu, a odwirowane drożdże, po oznaczeniu suchej masy, używano do reakcji.

Diocjan heksano-1,2-diolu otrzymano w reakcji heksano-1,2-diolu (6,0 g, 0,05 moli) z nadmiarem bezwodnika octowego (15,5 g, 0,15 moli). Produkt z mieszaniny poreakcyjnej ekstrahowano chloroformem (3 x 50 cm<sup>3</sup>) i destylowano (temp. wrzenia 85°C, 2 mm Hg).

Reakcja hydrolizy: w kolbie okrągłodennej umieszczano 3,0 g drożdży (w przeliczeniu na suchą masę), 3,0 g sacharozy oraz 60 cm<sup>3</sup> wody. Zawiesinę mieszano mieszadłem magnetycznym przez 30 min w temp. 20 ± 2°C. Następnie dodawano 0,3 g (1,5 mmola) diocjanu heksano-1,2-diolu rozpuszczonego w niewielkiej ilości etanolu (0,5 cm<sup>3</sup>). Reakcję kontynuowano przez 9 godz., pobierając próbki do kontroli przebiegu reakcji w ciągu tego czasu. Z pobranych próbek diocjanu heksano-1,2-diolu i produkty jego hydrolizy ekstrahowano chloroformem (2 x 5 cm<sup>3</sup>). Reakcję prowadzono w dwóch wariantach: bez stabilizacji pH (wówczas pH mieszaniny reakcyjnej wynosiło około 4,5) i w buforze o pH 7. Próby wykonywano w dwukrotnym powtórzeniu, uzyskując porównywalne wyniki.

Próbki mieszaniny reakcyjnej analizowano przy użyciu chromatografu gazowego Shimadzu GG-171, wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny. Zastosowano kolumnę kapilarną BPX 70. Rozdział chromatograficzny rejestrowano z użyciem programu CHROMAX 2005 w następujących warunkach: temp. 60°C przez 1 min, przyrost 10°/min do 200°C, 5 min w 200°C.

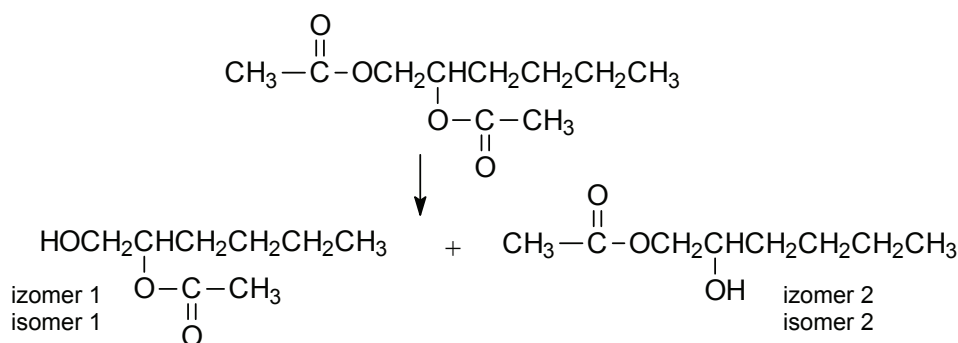
Produkty rozpadu estru analizowano metodą spektrometrii masowej, po uprzednim rozdziale w kolumnie chromatograficznej BPX 70, w warunkach 55°C przez 1 min, przyrost 4°/min do 220°C, 3 min w 220°C, w aparacie Shimadzu GCMS 2010. Na widmie masowym izomeru 1 zaobserwowano pik molekularny M=159 oraz następujące piki jonów fragmentacyjnych: m/z = 129, m/z = 117, m/z = 87, m/z = 74, m/z = 69. W przypadku izomeru 2 zaobserwowano: M = 159, m/z = 103, m/z = 87, m/z = 74, m/z = 69, a na widmie substratu zaobserwowano: M = 202, m/z = 129, m/z = 117, m/z = 100, m/z = 86, m/z = 82.

## Wyniki i dyskusja

Hydroliza dioctanu heksano-1,2-diolu w obecności drożdży piekarskich prowadziła do powstania dwóch monoocetanów, w zależności od tego czy hydrolizie uległa pierwszorzędowa (izomer 1) czy drugorzędowa grupa acetylowa (izomer 2) (rys. 2).

Postęp reakcji hydrolizy śledzono za pomocą chromatografii gazowej. Oznaczano jedynie względną zawartość dioctanu i monoocetanów, które w przeciwieństwie do stosunkowo dobrze rozpuszczalnego w wodzie heksano-1,2-diolu, ulegały całkowitej ekstrakcji chloroformem. Przykładowy chromatogram mieszaniny reakcyjnej przedstawiono na rys. 3. Poszczególne piki zidentyfikowano na podstawie ich widm masowych.

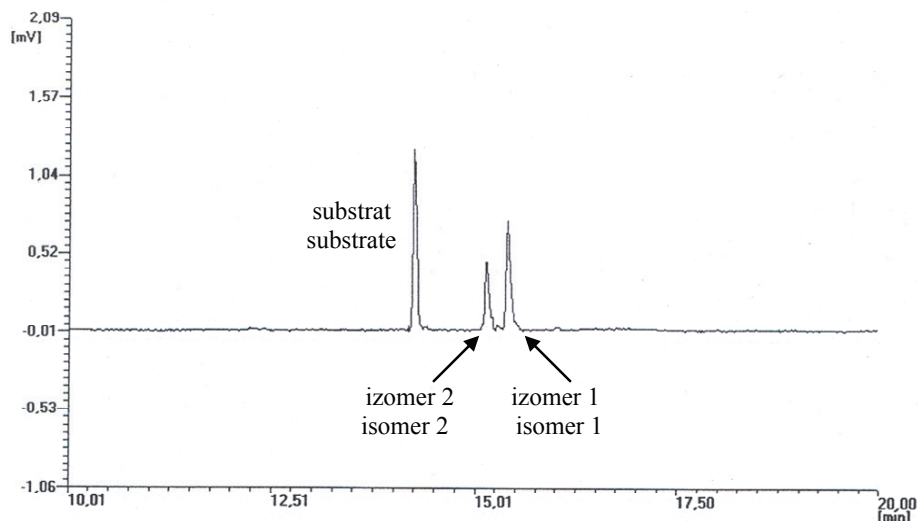
Wyniki kolejnych prób przedstawiono w tab. 1.



Rys. 2. Schemat hydrolizy dioctanu heksano-1,2-diolu.

Fig. 2. The scheme of hexane-1,2-diol diacetate hydrolysis.

We wszystkich przypadkach stwierdzono regioselektywny przebieg reakcji – hydroliza pierwszorzędowej grupy acetylowej zachodziła w przybliżeniu około dwukrotnie szybciej. Prawidłowość tę zaobserwowano także w przypadku reakcji prowadzonej w roztworze buforowym o pH = 7, przy czym stabilizacja pH w niewielkim stopniu zwiększała zarówno wydajność, jak i regioselektywność reakcji hydrolizy. Taki wpływ pH na przebieg reakcji hydrolizy enzymatycznej jest zgodny z ogólnym mechanizmem działania hydrolaz [4]. Nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu rodzaju drożdży piekarskich ani na wydajność, ani na regioselektywność reakcji. Zatem w dalszych etapach pracy celowe będzie zastosowanie drożdży liofilizowanych, które w przeciwieństwie do pozostałych cechuje większa trwałość, co pozwala na osiągnięcie powtarzalnych i porównywalnych wyników.



Rys. 3. Chromatogram mieszaniny poreakcyjnej 1a po 4 godz.

Fig. 3. GC profile of the reaction mixture 1a after 4 hours.

Tabela 1

Zawartość izomerycznych monoacetyloheksanodioli w mieszaninie poreakcyjnej [%].  
The percentage of isomeric monoacetylhexanediols content in the reaction mixture.

1a	Drożdże liofilizowane Liofilized baker's yeast			
	Bez buforu Without buffer		Bufor pH 7 Buffer pH 7	
Czas reakcji [godz] Reaction time [h]	Izomer 1 Isomer 1	Izomer 2 Isomer 2	Izomer 1 Isomer 1	Izomer 2 Isomer 2
0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
1	10,5	0,0	15,0	4,0
2	11,0	5,0	24,0	12,0
3	25,6	11,4	34,0	12,0
4	34,0	16,0	34,0	14,0
7	36,0	17,0	45,0	15,0
9	38,0	19,0	46,0	18,0

c.d. tab. 1

1b	Drożdże prasowane Fresh baker's yeast			
	Bez buforu Without buffer		Bufor pH 7 Buffer pH 7	
	Izomer 1 Isomer 1	Izomer 2 Isomer 2	Izomer 1 Isomer 1	Izomer 2 Isomer 2
0,5	2,0	3,0	0,0	0,0
1	10,0	8,0	4,0	3,0
2	15,0	12,0	13,0	7,0
3	16,0	17,0	27,0	13,0
4	26,0	18,0	28,0	20,0
7	41,0	19,0	35,0	25,0
9	44,0	21,0	43,0	26,0

1c	Szczep <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 102 The breeding strain <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 102			
	Bez buforu Without buffer		Bufor pH 7 Buffer pH 7	
	Izomer 1 Isomer 1	Izomer 2 Isomer 2	Izomer 1 Isomer 1	Izomer 2 Isomer 2
0,5	3,0	5,0	0,0	0,0
1	7,0	8,0	6,0	8,0
2	13,0	14,0	12,0	12,0
3	22,0	18,0	24,0	17,0
4	24,0	20,0	31,0	17,0
7	42,0	21,0	50,0	30,0
9	45,0	23,0	50,0	30,0

### Wnioski

1. Enzymy produkowane przez drożdże wykazują regioselektywność w stosunku do grup acetylowych o różnej rzędowości: estry alkoholi pierwszorzędowych są hydrolizowane w przybliżeniu dwukrotnie szybciej niż drugorzędowych.
2. Rodzaj użytych drożdży piekarskich nie ma znaczącego wpływu na szybkość hydrolizy estru.
3. Uzyskane wyniki stanowią podstawę do podjęcia badań nad wykorzystaniem enzymów hydrolitycznych wydzielanych przez drożdże w przemianach acylogliceroli.

### Literatura

- [1] Athenstaedt K., Daum G.: Tg14p and Tg15p, two triacylglycerol lipases of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* are localized to lipid particles. *J. Biol. Chem.*, 2005, **280**, 37301-37309.

- [2] Csuk R., Glanzer B.I.: Baker's yeast mediated transformations in organic chemistry. Chem. Rev., 1991, 49-97.
- [3] Enzyme nomenclature. Academic Press, INC, ed. Webb. E. C. London 1984.
- [4] Faber K.: Biotransformations in organic chemistry, Springer Verlag, Berlin 2000.
- [5] Jaeger K.E., Dijkstra B.W., Reetz M.T.: Bacterial biocatalists: molecular biology, three-dimensional structures, and biotechnological applications of lipases. Ann. Rev. Microbiol., 1999, **53**, 315-351.
- [6] Nurminen T., Suomalainen H.: The lipolytic activities of the isolated cell envelope fractions of baker's yeast. Biochem. J., 1970, **118**, 759-763.
- [7] Sanchez M., Prim N., Randez-Gil F., Pastor J., Diaz P.: Engineering of baker's yeast, *E. coli* and *Bacillus* host for the production of *Bacillus subtilis* lipase A. Biotechnol. Bioeng., 2002, **78 (3)**, 339-345.
- [8] Schousboe I.: Properties of triacylglycerol lipase in mitochondrial fraction from baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). Biochim. Biophys. Acta., 1976, **450 (2)**, 165-74.
- [9] Servi S.: Enzymatic reactions in organic chemistry. Synthesis, 1990, pp. 1-25.
- [10] Walker G.M.: Yeast-physiology and biotechnology, ed. J. Wiley, Chichester, 1998,
- [11] Vakhlu J., Kour A.: Yeast lipases: enzyme purification, biochemical properties and gene cloning. Elect. J. Biotechnol., 2006, **19**.

*Praca stanowi fragment badań wykonanych w ramach grantu uczelnianego nr 504 0927 0011 pt. „Biotransformacje z udziałem drożdży piekarskich”.*

#### BAKER'S YEAST AS BIOCATALYST OF ESTERS HYDROLYSIS

##### Summary

One of the methods of fats modifications is enzymatic interesterification, which uses lipolytic enzymes. Taking their complex isolation process into account, these enzymes are quite expensive and difficult to obtain. The employment of microorganisms, which release enzymes, may be the alternative solution to this problem, for example baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) could be possibly used. Baker's yeast are a great source of various enzymes, which may catalyze many chemical reactions.

The objective of this study was to carry out initial investigations, aiming at employing baker's yeast in triacylglycerols modifications. As a model reaction a hydrolysis of hexane-1,2-diol diacetate (an ester containing esters groups of different order) was chosen. The experiments were carried out in the presence of lyophilized and fresh baker's yeast as well as the breeding strain. The progress of the reactions was monitored by gas chromatography. It was proved that hydrolases released by baker's yeast showed positional specificity towards acetyl groups of different order – hydrolysis of primary group proceeded twice as fast. It may create practical opportunities for utilizing baker's yeast in triacylglycerols modifications. The variety of used yeast had not influenced on the speed of reaction.

**Key words:** baker's yeast, triacylglycerols, lipases, hydrolysis ☒

KATARZYNA MAKSIMOWICZ, KINGA GRODZKA, KRZYSZTOF KRYGIER

## OCENA WPŁYWU DODATKU CELULOZY MIKROKRystalicznej JAKO STABILIZATORA DO OWOCOWYCH LODÓW WODNYCH

### Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu dodatku celulozy mikrokrystalicznej na jakość owocowych lodów wodnych. Rolę stabilizatorów w lodach pełniła mieszanina hydrokolidów polisacharydowych, które mają właściwości stabilizujące, zagęszczające i żelujące.

Zakres pracy obejmował ustalenie receptury lodów poprzez określenie wpływu ilości dodawanych substancji stabilizujących na właściwości fizykochemiczne i cechy sensoryczne. Oceniono wpływ rodzaju celulozy mikrokrystalicznej na jakość lodów.

Najlepszymi właściwościami fizykochemicznymi i oceną sensoryczną charakteryzowały się lody, w których użyto jako stabilizatora mieszaninę gumy ksantanowej, mączkę chleba świętojańskiego i celulozę mikrokrystaliczną o stężeniu 0,35%. Dodatek celulozy mikrokrystalicznej przyczynił się do zwiększenia odporności lodów na topnienie oraz zmniejszenie wielkości powstających kryształków lodu. Rodzaj zastosowanego preparatu celulozy mikrokrystalicznej wpłynął istotnie na lepkość pozorną i gęstość mieszanki lodziarskiej oraz na puszystość lodów.

**Słowa kluczowe:** celuloza mikrokrystaliczna, puszystość, odporność na topnienie, jakość lodów

### Wprowadzenie

Pośród produktów żywnościowych znajdujących się na rynku coraz większą popularność zyskuje żywność o obniżonej kaloryczności. Wzrost zainteresowania tego typu artykułami jest spowodowany większą świadomością konsumentów o konsekwencjach nadmiernego dostarczania energii pochodzącej z żywności [10].

Lody są mrożonym deserem, spożywanym chętnie przez konsumentów niezależnie od ich wieku. Coraz większe zainteresowanie wśród konsumentów znajdują lody wodne, sorbety, z powodu ich mniejszej kaloryczności w porównaniu z wyrobem tradycyjnym. Sorbety są to mrożone desery na bazie wody, soku owocowego lub koncentratu owocowego, charakteryzujące się dużą kwasowością (pH 2,5 – 4,0), o intensywnym

---

*Mgr inż. K. Maksimowicz, mgr inż. K. Grodzka, prof. dr hab. K. Krygier, Zakład Technologii Tłuszczów i Koncentratów Spożywczych, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C 02-776 Warszawa*

nie uwypuklonym smaku i zapachu, gdyż nie są one tłumione przez inne składniki, takie jak mleko czy śmietana w lodach mlecznych [4]. Podczas produkcji lodów wodnych należy zastosować substancje o działaniu stabilizującym, aby otrzymać wyrób o konsystencji zbliżonej do tradycyjnej. Konsumenci chętniej wybierają produkty, które są opracowane na bazie naturalnych składników, dlatego właściwe wydaje się zastosowanie hydrokoloidów pochodzenia naturalnego jako stabilizatorów do lodów.

Głównym składnikiem sorbetów jest woda, dlatego ważne jest odpowiednie dobranie stabilizatorów, aby zmniejszyć lub nawet całkowicie zlikwidować tworzenie się wyczuwalnych kryształków lodu w gotowym produkcie. Celuloza mikrokrystaliczna E 460(i) pod wpływem sił ścinających tworzy w wodzie trójwymiarową trwałą strukturę składającą się z milionów nierozpuszczalnych mikrokryształów. Powstały tiksotropowy żel charakteryzuje się dużą stabilnością na działanie temperatury, chroniąc strukturę żywności poddawanej zamrażaniu lub odmrażaniu. Wielkość powstałych „kryształków” jest rzędu 0,2  $\mu\text{m}$ , a taki rozmiar daje pozytywne kremowe odczucia w jamie ustnej. Celuloza mikrokrystaliczna wykazuje również synergizm w działaniu z innymi hydrokoloidami [7, 9, 10].

Celem pracy była ocena wpływu dodatku celulozy mikrokrystalicznej na jakość lodów owocowych. Rolę stabilizatorów w lodach pełniła mieszanina hydrokoloidów polisacharydowych, które mają właściwości stabilizujące, zagęszczające i żelujące.

### **Material i metody badań**

Material do badań stanowiło pięć preparatów celulozy mikrokrystalicznej koloidalnej, różniła je zawartość karboksymetylocelulozy lub soli sodowej karboksymetylocelulozy (CMC i Na CMC) dodawanych jako środek dyspergujący: Vivapur MCG 591(9-15% Na CMC), Vivapur MCG 611 (11,3-18,8% Na CMC) firmy J. Rettenmaier & Söhne, Avicel CL 611F (15% CMC), Avicel RC 591F (12% CMC), Avicel CG 200 (16% CMC) firmy FMC Biopolymer.

Wszystkie suche składniki były poddawane rozdrobieniu w młynku laboratoryjnym WŻ-1 przez 5 s. Koncentraty lodów, wg receptur zamieszczonych w tab. 1, rozpuszczano w wodzie i ogrzewano w łaźni wodnej w temp. 80°C przez 30 min. Ochłodzoną do temp. 15°C mieszanę lodziarską zamrażano w domowej maszynce do lodów typu IC 5000 firmy DeLonghi, do temp. -6°C. Otrzymane lody pakowano w plastikowe pojemniki i przetrzymywano w zamrażarce 24 godz. w temp. -25°C. Po tym czasie lody były poddawane ocenie sensorycznej i badaniom fizykochemicznym.

Prace badawcze wykonano w trzech seriach, a otrzymane wyniki porównywano z wykonaną próbą kontrolną z zastosowaniem żelatyny jako stabilizatora w ilości 0,5%. Żelatyna jest substancją najczęściej stosowaną do zagęszczania oraz stabilizacji lodów wodnych. W pierwszej i drugiej serii dążono do ustalenia optymalnej zawartości substancji stabilizujących (guma ksantanowa, mączka chleba świętojańskiego, celuloza

mikrokryształiczna, karagen) poprzez określenie ich wpływu na właściwości fizykochemiczne i cechy sensoryczne otrzymanych produktów. Ostatnia część badań została zrealizowana, aby określić wpływ rodzaju (typu) celulozy mikrokryształicznej na jakość owocowych lodów wodnych (tab. 1).

Tabela 1

Receptury lodów owocowych.  
Fruit ice-cream recipes.

Nr serii Number of series	Dodatek celulozy mikrokryształicznej (MCC) Microcrystalline cellulose added (MCC) [%]	Rodzaj celulozy mikrokryształicznej The kind of applied microcrystalline cellulose	Pozostałe stabilizatory [%] + baza* Other stabilizing substances [%] + basis*	Woda Water [%]
I	0,125	MCG 611 VIVAPUR	0,50: GK, MchŚ	69,38
	0,100			69,40
	0,125		0,30: GK, MchŚ	69,58
	0,100			69,60
	0,100		0,25: GK, MchŚ	69,65
II	0,125	MCG 611 VIVAPUR	0,50: K, MchŚ	69,38
	0,100			69,40
	0,125		0,30: K, MchŚ	69,58
	0,100			69,60
	0,100		0,25: K, MchŚ	69,65
III	0,100	MCG 591 VIVAPUR	0,25: GK, MchŚ	69,65
		RC 591F AVICEL		
		CL 611F AVICEL		
		CG 200 AVICEL		

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\*baza: proszek truskawkowy - 12%, cukier - 18% / \*basis: strawberry powder – 12%, sugar – 18%

GK – guma ksantanowa / xanthan gum, K –  $\kappa$ -karagen / kappa carrageenan, MchŚ – mączka chleba świętojańskiego / locust bean gum.

Zakres badań wytworzonych lodów owocowych obejmował oznaczenia: lepkości pozornej, gęstości, puszystości, czasu topnienia lodów, odporności lodów na topnienie oraz ocenę sensoryczną.

Lepkość pozorną oznaczano za pomocą reowiskozymetru Rheotest, typ RV2, według instrukcji aparatu. Oznaczenie gęstości mieszanki lodziarskiej wykonywano przy użyciu piknometru próżniowego po rozmrożeniu próbki i doprowadzeniu jej do temp. 20°C [6]. Oznaczenie puszystości, czasu topnienia oraz odporności lodów na topnienie przeprowadzano według Dłużewskiej i wsp. [5]. Analizę sensoryczną przeprowadził



dziesięcioosobowy zespół metodą analizy profilowej według Baryłko-Pikielnej [2]. Lody poddano ocenie po przetrzymaniu ich w zamrażarce minimum 1 dobę.

Analizą statystyczną wyników przeprowadzano przy użyciu programu Statgraphics Plus, stosując jednoczynnikową analizę wariancji. Szczegółowe testowanie wyników oznaczeń wykonano za pomocą testu Turkey`a.

Wyniki oznaczeń fizykochemicznych serii I i II oraz próby kontrolnej zamieszczono w tab. 2. Do prób z serii I i II użyto preparatu celulozy mikrokrystalicznej MCG 611 Vivapur.

### **Wyniki i dyskusja**

Odpowiednia lepkość i gęstość mieszanki lodziarskiej umożliwia otrzymanie lodów o gładkiej konsystencji. Zbyt duża lub zbyt mała lepkość i gęstość może powodować małe napowietrzenie lodów. Zazwyczaj stosuje się dodatek stabilizatorów od 0,3 do 0,5% [8]. Najlepsze powiązanie między tymi właściwościami uzyskano w przypadku zastosowania jako stabilizatora mieszaniny składającej się z gumy ksantanowej, 0,25% mączki chleba świętojańskiego i 0,1% celulozy mikrokrystalicznej. Zastąpienie gumy ksantanowej karagenem w mieszance lodziarskiej spowodowało zmniejszenie lepkości i duży wzrost gęstości. Lepkość pozorną próby kontrolnej z żelatyną była na porównywalnym poziomie jak w próbach z serii II, zawierających dodatek mieszaniny stabilizującej w ilości, odpowiednio 0,625 i 0,6%.

Gęstość próby kontrolnej była znacznie większa od gęstości uzyskanych w obu seriach. Zamiana gumy ksantanowej karagenem w składzie mieszanki stabilizującej przyczyniła się do uzyskania zbliżonych wyników gęstości mieszanki lodziarskiej w serii.

Porównując obie serie badań stwierdzono, że mieszanka stabilizująca, w której użyto karagen odznaczała się lepszą puszystością od tej z dodatkiem gumy ksantanowej. Porównując dawki użytych stabilizatorów i zmiany parametru napowietrzenia uznano, że najkorzystniejszym rozwiązaniem jest zastosowanie stabilizatorów w ilości 0,35%.

Czas topnienia ulega skróceniu wraz z ilością użytych stabilizatorów. Zamiana w mieszance stabilizującej gumy ksantanowej na karagen spowodowała skrócenie czasu oczekiwania na pojawienie się pierwszej kropli przy wyższych stężeniach stabilizatorów. W porównaniu z danymi literaturowymi [3] wszystkie próbki odznaczały się wysoką odpornością na topnienie. Stwierdzono, że wpłynął na to dodatek celulozy mikrokrystalicznej. Próbka kontrolna z żelatyną charakteryzowała się niską odpornością na topnienie, pierwsza kropla pojawiła się po 15 min. Objętość wycieku we wszystkich próbach była duża i jej wartość wzrastała ze zmniejszaniem dawki zastosowanych hydrokolidów. Objętość wycieku lodów kontrolnych była duża, wynosiła ona 37 cm<sup>3</sup>, podobny wynik uzyskano w próbie zawierającej o 0,1% niższą dawkę substancji stabilizujących.

Tabela 2

Parametry fizykochemiczne lodów owocowych.  
Physical and chemical parameters of fruit ice cream.

Nr serii Number of series	Zastosowane hydrokoloidy Used hydrocolloid		Właściwości fizykochemiczne Physical and chemical properties				
	Rodzaj stabilizatora The kind of stabiliser	Dodatek Addition [%]	Lepkość pozorna Apparent viscosity [Pa·s]	Gęstość względna Relative density	Puszy- stość Overrun [%]	Czas topnienia Time on melting [min]	Wyciek Effluent [cm <sup>3</sup> ]
Próba kontrolna Control sample	Żelatyna Gelatine	0,500	0,543	1,1130	27,70	15	37
I	GK, MchŚ	0,500	0,981a	1,0660a	33,28a	54a	47ab
	MCC	0,125					
	GK, MchŚ	0,500	0,812b	1,0508a	33,88a	45b	45a
	MCC	0,100					
	GK, MchŚ	0,30	0,677c	0,9862b	27,51b	40c	45a
	MCC	0,125					
	GK, MchŚ	0,300	0,661d	1,0031c	28,58b	37d	47b
	MCC	0,100					
GK, MchŚ	0,250	0,856e	0,8189d	33,37a	31e	50c	
MCC	0,100						
II	K, MchŚ	0,500	0,563a	1,0311b	32,53a	36c	23b
	MCC	0,125					
	K, MchŚ	0,500	0,535a	1,0428a	37,34d	34a	30c
	MCC	0,100					
	K, MchŚ	0,300	0,408b	1,0432a	36,04cd	34a	35a
	MCC	0,125					
	K, MchŚ	0,300	0,392b	1,0435a	33,39ab	33ab	36a
	MCC	0,100					
K, MchŚ	0,250	0,298c	1,0444a	35,22bc	32b	39a	
MCC	0,100						

Objaśnienia symboli jak w tab. 1 / Explanatory notes of the symbols as in Tab. 1;

a, b, c, d, e – wartości średnie oznaczone w kolumnach, w obrębie tego samego wyróżnika i serii, tą samą literą nie różniły się statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha=0,05$  / mean values as denoted in the columns by the same letter, and included in the same characteristics and series, do not statistically significantly at  $\alpha=0.05$  level.

Wyniki oznaczeń fizykochemicznych z serii III zamieszczono w tab. 3. Jako mieszanekę stabilizującą zastosowano: gumę ksantanową i mączkę chleba świętojańskiego w ilości 0,25% oraz 0,1% celulozy mikrokrystalicznej. Recepturę tę uznano za najodpowiedniejszą ze względu na otrzymane dobre wyniki lepkości i dużą odporność lodów na topnienie.

Tabela 3

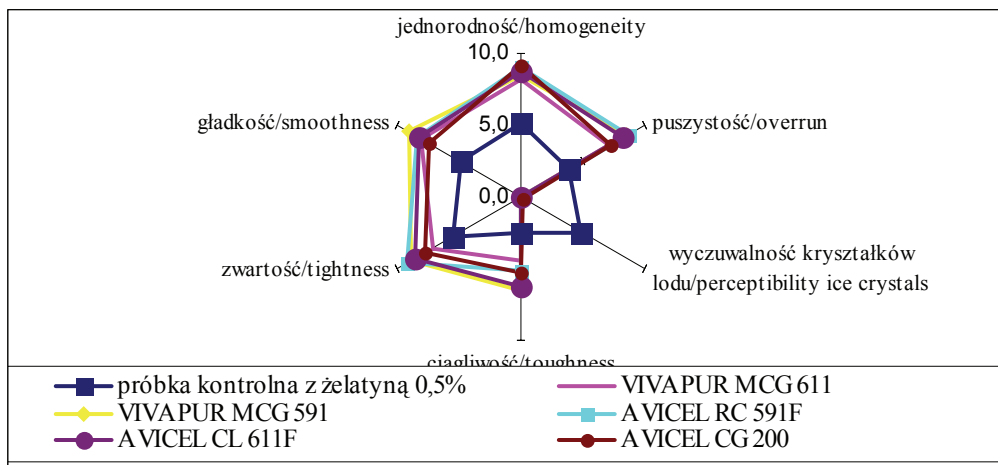
Parametry fizykochemiczne lodów owocowych z zastosowaniem różnych typów celulozy mikrokrystalicznej.

Physical and chemical parameters of fruit ice cream with different types of preparation of microcrystalline cellulose applied.

Nr serii Number of series	Zastosowane hydrokoloidy Used hydrokoloid		Właściwości fizykochemiczne Physical and chemical properties				
	Rodzaj stabilizatora The kind of stabiliser	Dodatek Addition [%]	Lepkość pozorna Apparent viscosity [Pa·s]	Gęstość względna Relative density	Puszy- stość Overrun [%]	Czas topnie- nia Time on melting, [min]	Wyciek Effluent [cm <sup>3</sup> ]
III	GK, MchŚ	0,250	0,925a	0,9185ab	36,73a	30a	50a
	MCC (MCG591 VIVAPUR)	0,100					
	GK, MchŚ	0,250	0,942a	0,9135ab	33,88b	30a	50a
	MCC (RC 591F AVICEL)	0,100					
	GK, MchŚ	0,250	0,884b	0,9286a	37,16a	30a	50a
	MCC (CL 611F AVICEL)	0,100					
	GK, MchŚ	0,250	0,880b	0,9248a	35,83a	31ab	50a
	MCC (CG 200 AVICEL)	0,100					

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

Analizując wyniki można stwierdzić, że rodzaj preparatu celulozy mikrokrystalicznej wpłynął istotnie na lepkość pozorną mieszanki lodziarskiej. Najlepszy efekt uzyskano stosując preparat celulozy mikrokrystalicznej ze średnią, 12-procentową zawartością karboksymetylocelulozy (CMC). CMC w lodach wodnych spełnia rolę środka spieniającego [1]. Duża zawartość CMC w preparacie celulozy mikrokrystalicznej może prowadzić do obniżenia gęstości mieszanki lodziarskiej. Stopień napowietrzenia próbek jest dość zróżnicowany. Rodzaj celulozy mikrokrystalicznej wpływa znacząco na powyższy parametr. Najlepszy efekt napowietrzenia otrzymano przy zastosowaniu preparatu celulozy mikrokrystalicznej, w której dodatek CMC wynosił 15%. Czas pojawienia się pierwszej kropli oraz ilość wycieku była podobna we wszystkich próbach (30-32 min; 50 cm<sup>3</sup>). Odporność na topnienie uzyskana w próbie kontrolnej była dwukrotnie niższa niż prób zawierających dodatek celulozy mikrokrystalicznej. Niezależnie od składu preparatu celulozy mikrokrystalicznej, jej dodatek w ilości 0,1% wpłynął pozytywnie na odporność lodów na topnienie.



Rys. 1. Wyniki oceny sensorycznej konsystencji lodów z udziałem różnych preparatów celulozy mikrokrystalicznej oraz lodów kontrolnych.

Fig. 1. Results of the sensory assessment of consistence of sherbet with the different types of preparation of microcrystalline cellulose and control samples.

Wyczuwalność w ustach kryształków wymrożonej wody jest jedną z wad lodów. W sorbetach udział procentowy wody jest na poziomie 65 – 70%, dlatego bardzo ważne jest odpowiednie dobranie stabilizatorów. Wszystkie badane preparaty celulozy mikrokrystalicznej wpływały na poprawę konsystencji lodów (rys. 1). W próbie kontrolnej, w której zastosowano żelatynę jako stabilizator, kryształki lodu były mocno wyczuwalne na podniebieniu w porównaniu z próbkami zawierającymi celulozę mikrokrystaliczną, a konsystencja tych lodów została oceniona najniżej.

Podsumowując ocenę wyróżników smakowo-zapachowych można stwierdzić, że najkorzystniej oceniono lody z zastosowaniem, jako stabilizatorów, gumy ksantanowej, mączki chleba świętojańskiego i celulozy mikrokrystalicznej w ilości 0,35%, ponieważ charakteryzowały się umiarkowanym poziomem słodczy i najbardziej intensywnym smakiem kwaśnym. Zamiana w recepturze gumy ksantanowej na karagen spowodowała zwiększenie odczucia smaku słodkiego.

## Wnioski

1. Zastosowanie celulozy mikrokrystalicznej w ilości 0,1% w stosunku do masy lodów przyczynia się istotnie do zwiększenia odporności lodów na topnienie oraz uzyskuje się najniższą sensoryczną wyczuwalność kryształków lodu w stosunku do lodów z żelatyną.
2. Preparaty celulozy mikrokrystalicznej wpływają na lepkość pozorną i gęstość mieszanki lodziarskiej oraz na stopień napowietrzenia lodów. Preparaty te przyczyniają się także do zwiększenia odporności lodów na topnienie w porównaniu z próbą

- kontrolną oraz zmniejszenia wielkości powstających kryształków lodu, powodując brak ich wyczuwalności na podniebieniu.
3. W zakresie dodatku hydrokolidów od 0,35% do 0,625% najlepsze wyniki otrzymano w lodach, w których stężenie tych preparatów wynosiło 0,35%, a mieszanka stabilizatorów składała się z gumy ksantanowej, mączki chleba świętojańskiego i celulozy mikrokrystalicznej.

### Literatura

- [1] Barba W.: Produkcja lodów w zakładzie rzemieślniczym, lekcja 5. Przegl. Piek. i Cuk., 1995, **7 (43)**, 39-44.
- [2] Baryłko-Pikielna N.: Zastosowanie analizy składowych głównych do interpretacji sensorycznej analizy opisowej produktów żywnościowych. Przem. Spoż., 1986, **7 (40)**, 153-157.
- [3] Bergamn-Szczepanik D., Kałuziak H.: Metody oceny stabilizatorów do lodów. Chłodnictwo, 1988, **2 (23)**, 18-21.
- [4] Christensen E. S.: Summer sorbets: the texture factor. Dairy Industries International, 1997, **6 (62)**, 39-41.
- [5] Dłużewska E., Gazda B., Leszczyński K.: Wpływ wybranych hydrokolidów polisacharydowych na jakość koncentratów lodów owocowych. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 2003, **1 (2)**, 97-107.
- [6] Drzazga B.: Analiza techniczna w przemyśle spożywczym. WSiP. Warszawa 1995, s. 201-202.
- [7] FMC Corporation: FMC Microcrystalline Cellulose/Cellulose Gel General Technology., 2001.
- [8] Polak E.: Produkcja lodów. Przegl. Piek. Cuk., 2003, **8 (51)**, 79-82.
- [9] Pszczola D.: High technology: taking ingredients to a new level. Food Technol., 1997, **6 (51)**, 79-81.
- [10] Sandrou D. K., Arvanitoyannis I. S.: Low – fat/calorie foods: current state and perspectives. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 2000, **5 (40)**, 427-447.

### THE ESTIMATION OF INFLUENCE OF MICROCRYSTALLINE CELLULOSE SUPPLEMENT AS A STABILISER TO FRUIT WATER ICE-CREAM

#### Summary

The aim of this study was to examine addition of microcrystalline cellulose as a stabilizer in fruit water ice-cream. The part of stabilizers in ice cream fulfilled the mixture of polysaccharide hydrocolloids which have stabilising, incrassative and gelatin proprieties.

Scope of this study included obtaining ice cream recipes through characterization of addition stabilizing substances on physicochemical and sensory evaluation. The influence of type of microcrystalline cellulose was evaluated on quality of ice-cream.

The best physical and chemical properties as well as sensory analysis had ice cream with addition of xantan gum, locust bean gum and microcrystalline cellulose in total dosage of 0.35%. The addition of microcrystalline cellulose contributes to enlargement of resistance on melting and decreasing of ice crystals growth. Type of applied preparation of microcrystalline cellulose influences apparent on viscosity and density of ice mixture as well as overrun.

**Key words:** microcrystalline cellulose, overrun, resistance on melting, the quality of ice-cream ☒

KATARZYNA MARCINIAK-ŁUKASIAK, ANNA ŻBIKOWSKA,  
KRZYSZTOF KRYGIER

## WPŁYW STOSOWANIA AZOTU NA STABILNOŚĆ OKSYDACYJNĄ MIESZANIN OLEJU RZEPAKOWEGO Z OLEJEM LNIANYM

### Streszczenie

Przeprowadzone badania miały na celu: określenie stabilności oksydacyjnej mieszanin olejów przy użyciu testu Rancimat (czas indukcji mierzono w temp. 120°C) i testu termostatowego (w temp. 63°C), zbadanie stopnia utlenienia mieszanin olejów podczas 12-tygodniowego testu przechowalniczego, porównanie zmian oksydacyjnych w mieszaninach olejów bez ingerencji gazowej i azotowanych, porównanie zmian oksydacyjnych w mieszaninach olejów z poduszką azotową i przepłukiwanych azotem oraz ocenę sensoryczną mieszanin olejów.

Stwierdzono, że olej lniany jest około 6 razy bardziej podatny na utlenianie niż olej rzepakowy. Dlatego olej lniany bogaty w kwasy n-3 i mieszanki z jego udziałem muszą być dodatkowo chronione np. za pomocą gazów inertnych.

Zastosowanie azotu do ochrony olejów, szczególnie lnianego, okazało się bardzo efektywne w ograniczeniu utleniania tego oleju: stwierdzono prawie 2–3-krotne zwiększenie trwałości (w zakresie wartości liczby nadtlenkowej do 5).

Tworzenie poduszki gazu inertnego nad olejem jest tak samo efektywne w zapobieganiu oksydacji, jak przepłukanie oleju tym gazem. Oznacza to również, że tlen rozpuszczony w oleju nie jest tak znaczącym czynnikiem utleniającym, jak tlen zawarty w opakowaniu nad jego powierzchnią.

Na podstawie przeprowadzonych badań chemicznych i oceny sensorycznej można stwierdzić, że bez ingerencji gazowej najlepszymi właściwościami charakteryzowały się mieszaniny oleju rzepakowego z dodatkiem oleju lnianego na poziomie 25 i 50%.

**Słowa kluczowe:** stabilność oksydacyjna, olej lniany, olej rzepakowy

### Wprowadzenie

Oleje roślinne są bardzo ważnymi produktami żywnościowymi ze względu na ich wysoką wartość energetyczną, dobrą rozpuszczalność witamin A, D, E, K oraz obecność niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych. Spośród wszystkich tłuszcz-

---

*Dr inż. K. Marciniak-Lukasiak, dr inż. A. Żbikowska, prof. dr hab. K. Krygier, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

czów jadalnych oleje roślinne zawierają najmniej kwasów nasyconych, a najwięcej kwasów nienasyconych, w tym NNKT [3]. NNKT są to niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe, które warunkują prawidłowe funkcjonowanie m.in. układu nerwowego, mięśnia sercowego, siatkówki oka. Istnieją dwie rodziny wielonienasyconych kwasów tłuszczowych: kwasy pochodzące od kwasu linolowego (rodzina omega 6 (n-6)), występujące w olejach roślinnych, takich jak oliwa i olej słonecznikowy oraz pochodzące od kwasu linolenowego (rodzina omega 3 (n-3)), wchodzące w skład niektórych olejów roślinnych (lniany, rzepakowy, sojowy) i ryb. Niedobór NNKT powoduje zahamowanie wzrostu, zmiany skórne i infekcje. Organizm ludzki nie jest w stanie ich wytwarzać, dlatego muszą być dostarczane z pożywieniem [3]. Są to kwasy z rodziny n-3 (należy do nich m.in. kwas  $\alpha$ -linolenowy  $\alpha$ LNA, C<sub>18:3</sub>) i n-6 (np. kwas linolowy LA, C<sub>18:2</sub>; kwas gamma-linolenowy GLA, C<sub>18:3</sub>; kwas arachidonowy AA, C<sub>20:4</sub>).

Olej lniany bogaty w kwas  $\alpha$ -linolenowy, zalecany jest w dietetycznym żywieniu chorych na zaburzenia przemiany tłuszczów, a także w miażdżycy tętnic. Należy podkreślić, że w celach leczniczych i spożywczych używa się oleju wyłaczanego wyłącznie na zimno [2]. Niestety olej lniany należy do produktów stosunkowo nietrwałych i łatwo psujących się.

Azot spełnia funkcje obojętnego wypełnienia oraz zabezpiecza przed „zapadnięciem się” opakowania, powodowanym rozpuszczalnością CO<sub>2</sub> w produkcie pakowanym. Azot nie działa inhibująco na rozwój mikroorganizmów i nie ma bezpośrednio wpływu na trwałość zapakowanego produktu [9]. Nie można też pominąć czynnika ekonomicznego, związanego z niższą jego ceną w porównaniu z innymi stosowanymi gazami [1, 4, 10].

Celem pracy było określenie wpływu gazu inertnego (azotu) na stabilność oksydacyjną mieszanin oleju rzepakowego z olejem lnianym oraz ocena stabilności sensorycznej tych mieszanin podczas przechowywania i termostatowania. Uzyskanie większej stabilności czystego oleju lnianego lub mieszanin olejów z jego zawartością pozwoliłoby na szersze zastosowanie oleju lnianego jako potencjalnego źródła kwasów omega 3.

### **Material i metody badań**

Material do badań stanowiły:

- rafinowany olej rzepakowy pochodzący z Zakładów Przemysłu Tłuszczowego w Warszawie,
- olej lniany tłoczony na zimno, pochodzący z Instytutu Włókien Naturalnych, z Zakładu Badań i Przetwórstwa Lnu w Poznaniu,
- mieszaniny oleju rzepakowego z olejem lnianym o proporcjach (v/v): 1:0, 3:1, 1:1, 1:3, 0:1. Mieszaniny dodatkowo przepłukiwano azotem lub stosowano poduszkę azotową.

Test termostatowy prowadzono przez dziewiętnaście dni w temp. 63°C. Badaniom poddano pięć partii mieszanin olejów, każda w wariantach: z poduszką azotową, przepłukana azotem oraz bez ingerencji gazowej.

Test przechowalniczy trwał 12 tygodni, podczas których oleje poddawano oznaczeniom fizykochemicznym i ocenie sensorycznej. Analizy wykonywano w świeżych olejach, a także po 2, 4, 6, 9 i 12 tygodniach.

Wykonywano następujące oznaczenia: test Rancimat [7], w którym czas indukcji mierzono w temp. 120°C, liczba nadtlenkowa (LOO) [5], liczba anizydynowa (LA) [6], analiza sensoryczna [8]. Ocenę sensoryczną smakowości, klarowności i barwy metodą punktową wykonał 4-osobowy zespół, przeszkolony w wykonywaniu ocen olejów.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, za pomocą pakietu statystycznego Statgraphics Plus. Badano istotność różnic między wartościami średnimi. Każdorazowo badaniom poddawano cztery próby.

## Wyniki i dyskusja

Najdłuższy czas indukcji mieszanin olejów, oznaczony w aparacie Rancimat, stwierdzono w przypadku czystego oleju rzepakowego (3,94 h). W miarę zwiększania zawartości oleju lnianego w badanych mieszaninach czas indukcji się zmniejszał i ukształtował się następująco:

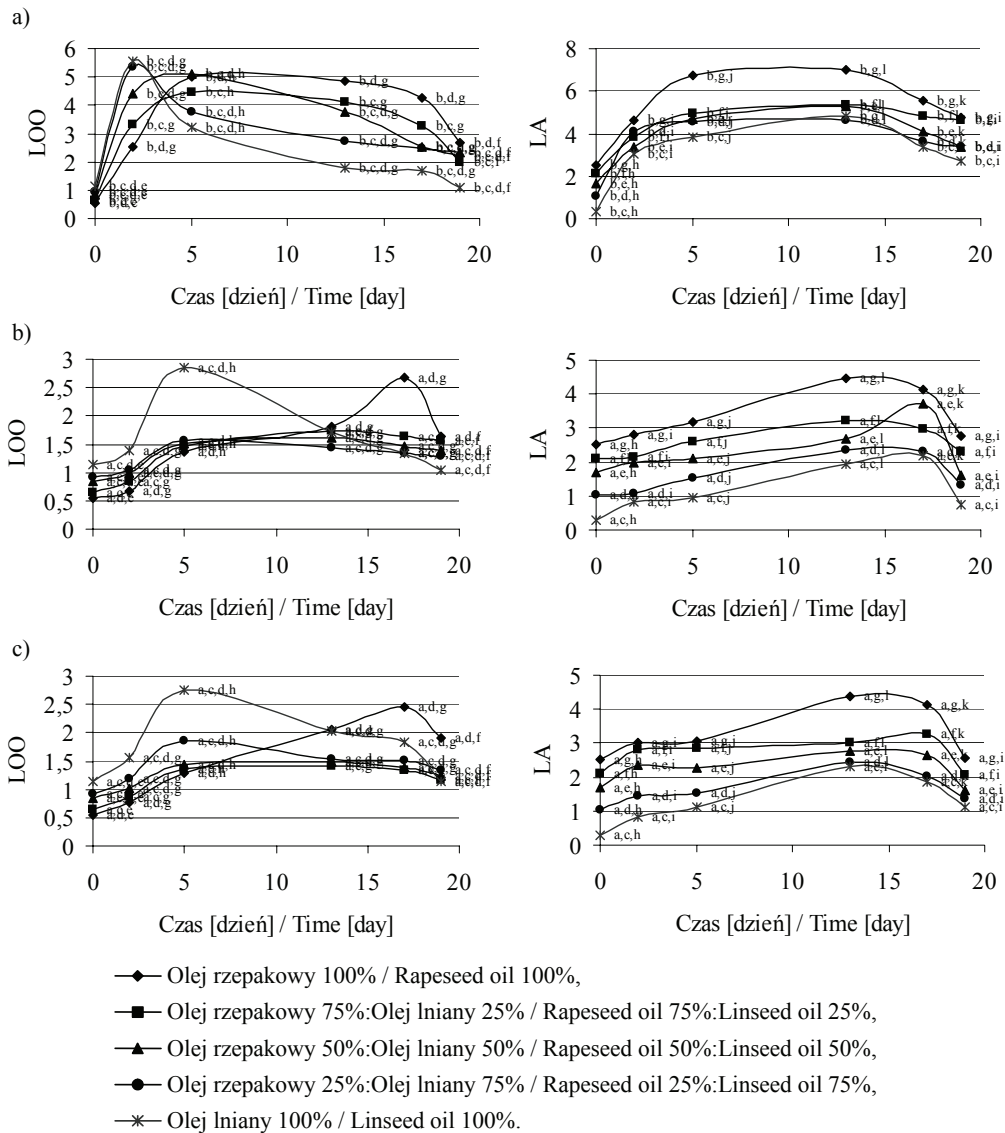
- próby z 25% zawartością oleju lnianego – 2,43 h,
- próby z 50% zawartością oleju lnianego – 1,70 h,
- próby z 75% zawartością oleju lnianego – 1,35 h,
- czysty olej lniany – 0,65 h.

Wyniki uzyskane za pomocą testu Rancimat dowiodły, że im większa była zawartość oleju rzepakowego w badanej mieszaninie, tym wyższa była jej stabilność. Czysty olej lniany okazał się ponad 6-krotnie mniej stabilny niż rzepakowy.

Podczas testu termostatowego zaobserwowano, że ze względu na zmiany LOO (rys. 1a), najbardziej przydatne do produkcji oleju bogatego w kwasy n-3 są mieszaniny z 25 i 50% dodatkiem oleju lnianego. Analizując zmiany LA (rys. 1a), wykazano jej wzrost trwający do 13. dnia termostatowania. Następnie wartości te ulegały obniżeniu, utrzymując się jednak powyżej wartości wyjściowych.

Najlepsze efekty zastosowania poduszki azotowej (rys. 1b) uzyskano w przypadkach mieszanin z 25 i 50% udziałem oleju lnianego. Analizując zmiany LA we wszystkich mieszaninach z poduszką azotową, stwierdzono wzrost wartości tej liczby do 13. dnia testu, po czym, w odróżnieniu od poprzedniej próby, następowało gwałtowne jej obniżenie. Olej lniany tłoczony na zimno wykazywał niską wartość LA przez cały czas trwania testu termostatowego.

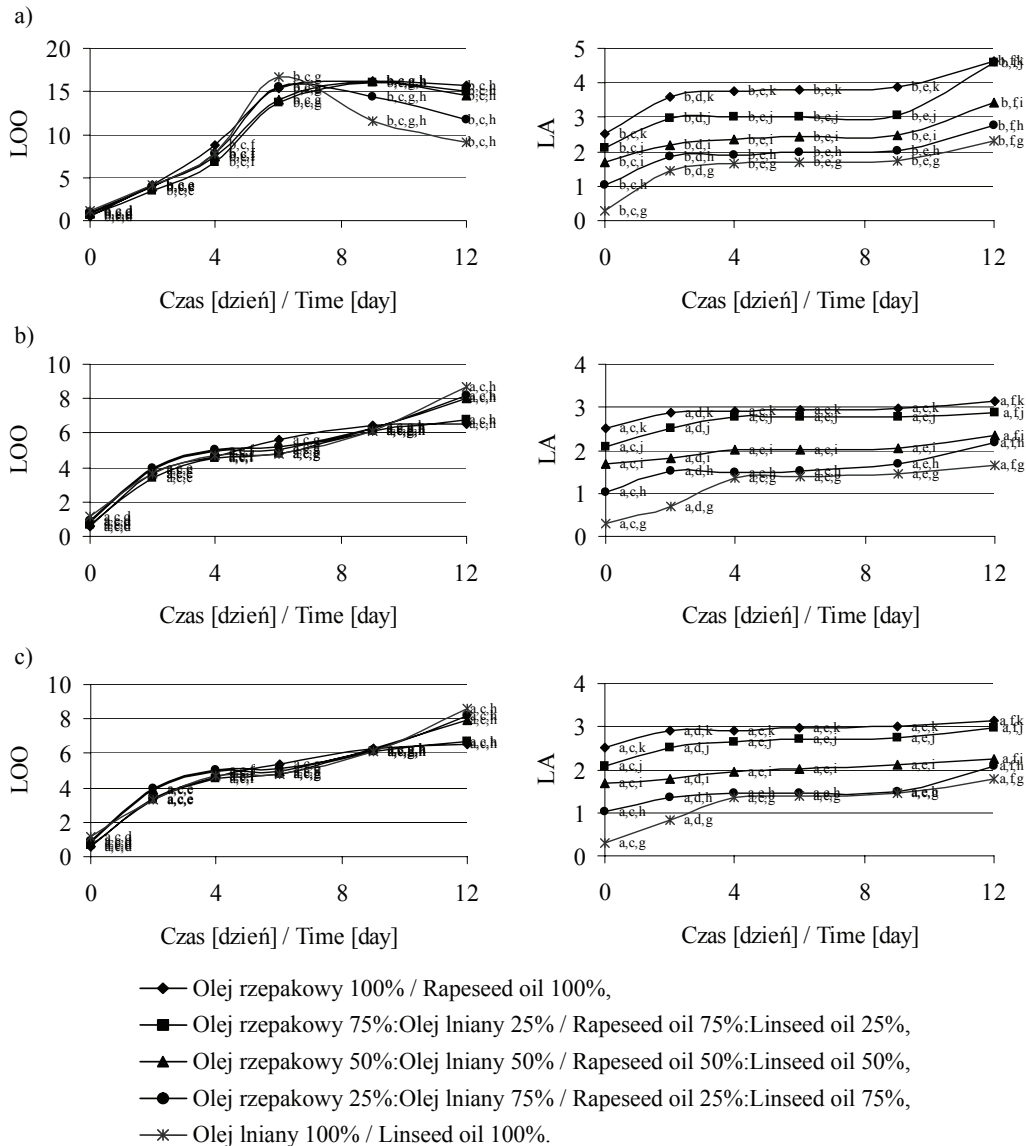




Rys. 1. Zmiany liczby nadtlenkowej (LOO [milirównoważnik O<sub>2</sub>/kg oleju]) i anizydynowej (LA) analizowanych mieszanin podczas testu termostatowego olejów bez dodatków (a), olejów z poduszką azotową (b) i olejów przepłukiwanych azotem (c). Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy  $\alpha = 0,05$ .

Fig. 1. Changes of peroxide (LOO) [milliequivalent O<sub>2</sub>/kg of oil] and anisidine (LA) value of analyzed mixtures during thermostat test for clear oils (a), oils with nitrogen pillow (b) and oils rinsed by nitrogen (c). Values indicates with the same letter don't differ with the confidence level  $\alpha = 0.05$ .

Przy zastosowaniu przepłukiwania analizowanych mieszanin azotem (rys. 1c), do 5. dnia testu najszybciej utleniał się olej lniany i mieszanina z 75% jego udziałem.



Rys. 2. Zmiany liczby nadtlenkowej (LOO [milirównoważnik  $O_2$ /kg oleju]) i anizydynowej (LA) analizowanych mieszanin podczas testu przechowalniczego olejów bez dodatków (a), olejów z poduszką azotową (b) i olejów przepłukiwanych azotem (c). Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy  $\alpha = 0,05$ .

Fig. 2. Changes of peroxide (LOO [milliequivalent  $O_2$ /kg of oil]) and anisidine (LA) value of analyzed mixtures during storing test for clear oils (a), oils with nitrogen pillow (b) and oils rinsed by nitrogen (c). Values indicates with the same letter don't differ with the confidence level  $\alpha = 0.05$ .

Tabela 1

Wyniki sensorycznej oceny smakowitości (5 - najlepsza, 1 - najgorsza) i barwy (1 - barwa słomkowa, 5 - barwa intensywnie żółta), podczas testu termostatowego, olejów bez dodatków (a), olejów z poduszką azotową (b) i olejów przepłukiwanych azotem (c), [pkt].

Results of the sensorial analysis of taste (5 - the best, 1 - the worst) and colour (1 - straw-coloured, 5 - intensive yellow colour) during thermostat test for clear oils (a), oils with nitrogen pillow (b) and oils rinsed by nitrogen (c), [scores].

Dzień testu Day of the test	Cecha sensoryczna Sensorial feature	Olej rzepakowy 100% Rapeseed oil 100%			Olej rzepakowy 75%, olej lniany 25% / Rapeseed oil 75%, linseed oil 25%			Olej rzepakowy 50%, olej lniany 50% / Rapeseed oil 50%, linseed oil 50%			Olej rzepakowy 25%, olej lniany 75% / Rapeseed oil 25%, linseed oil 75%			Olej lniany 100% Linseed oil 100%		
		a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
0	Smakowitość Flavour	5,0	5,0	5,0	4,75	5,0	5,0	4,75	5,0	5,0	4,5	4,75	4,75	4,25	4,5	4,5
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
2	Smakowitość Flavour	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,0	4,5	4,5	3,5	4,25	4,0	3,0	3,75	3,75
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
5	Smakowitość Flavour	4,5	4,5	4,5	4,0	4,0	4,0	3,0	3,5	3,5	2,0	3,0	3,0	2,0	2,0	2,0
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
13	Smakowitość Flavour	4,0	4,0	4,0	3,5	4,0	4,0	3,0	3,0	3,0	2,0	3,0	3,0	1,5	2,0	2,0
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
17	Smakowitość Flavour	3,0	3,5	3,5	3,0	3,5	3,5	2,75	3,0	3,0	1,75	2,75	2,75	1,0	1,75	1,5
	Barwa Flavour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
19	Smakowitość Flavour	2,75	3,25	3,25	2,75	3,25	3,25	2,5	3,0	3,0	1,5	2,5	2,5	1,0	1,25	1,25
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5

Tabela 2

Wyniki sensorycznej oceny smakowości (5 - najlepsza, 1 - najgorsza) i barwy (1 - barwa słomkowa, 5 - barwa intensywnie żółta), podczas testu przechowalniczego, olejów bez dodatków (a), olejów z poduszką azotową (b) i olejów przepłukiwanych azotem (c).

Results of the sensorial analysis of taste (5 - the best, 1 - the worst) and colour (1 - straw-coloured, 5 - intensive yellow colour) during storing test for clear oils (a), oils with nitrogen pillow (b) and oils rinsed by nitrogen (c).

Dzień testu Day of the test	Cecha sensoryczna Sensorial feature	Olej rzepakowy 100% Rapeseed oil 100%			Olej rzepakowy 75%, olej lniany 25% / Rape-seed oil 75%, linseed oil 25%			Olej rzepakowy 50%, olej lniany 50% / Rape-seed oil 50%, linseed oil 50%			Olej rzepakowy 25%, olej lniany 75% / Rape-seed oil 25%, linseed oil 75%			Olej lniany 100% Linseed oil 100%		
		a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
0	Smakowość Flavour	5,0	5,0	5,0	4,75	5,0	5,0	4,75	5,0	5,0	4,5	4,75	4,75	4,25	4,5	4,5
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
2	Smakowość Flavour	4,25	4,5	4,5	4,0	4,25	4,25	3,75	3,75	3,75	3,25	3,25	3,5	2,75	2,5	2,75
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
5	Smakowość Flavour	4,25	4,5	4,5	4,0	4,25	4,0	3,5	3,5	3,5	3,0	3,0	3,0	2,5	3,0	2,75
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
13	Smakowość Flavour	4,25	4,25	4,25	3,75	3,75	3,75	3,25	3,25	3,25	2,0	2,25	2,5	2,0	2,25	2,25
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
17	Smakowość Flavour	3,5	4,0	3,75	3,5	3,75	3,5	3,0	3,0	3,0	2,0	2,25	2,25	1,25	1,75	1,75
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5
19	Smakowość Flavour	3,0	3,5	3,75	2,5	2,75	3,0	2,5	2,5	2,75	1,5	1,75	2,0	1,0	1,25	1,5
	Barwa Colour	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5

Mieszanki olejów z ingerencją gazową (przeplukane azotem) utleniały się wolniej w porównaniu z ich odpowiednikami bez ingerencji gazowej. Mieszanki przeplukane azotem charakteryzowały się niższymi wartościami LA niż mieszanki bez azotu (rys. 1c). W obu wariantach próbek zaobserwowano, że zmiany miały podobny charakter. Początkowo rosły do wartości najwyższych, a potem obserwowano ich gwałtowny obniżenie.

Zastosowanie przeplukania azotem w przechowywaniu olejów: lnianego, rzepakowego i ich mieszanin obniżało tempo utleniania średnio 2,5 razy w przypadku wartości LOO i około 1,6–2 razy w przypadku LA. Oznacza to bardzo wysoką efektywność stosowania azotowania w przypadku oleju lnianego.

Większość mieszanin z ingerencją gazową była wyżej oceniana sensorycznie podczas trwania testu w porównaniu z mieszaninami bez ingerencji gazowej (tab. 1). Ma to duży związek z wolniejszym tempem utleniania się próbek. Odnotowano niskie oceny smakowitości badanych mieszanin, pomimo że ich LOO nie przekraczały granicznej wartości 5. Klarowność po 19 dniach termostatowania prób nie uległa zmianie, nie stwierdzono mętności ani osadu. Barwę uznano za słomkową jedynie w przypadku oleju rzepakowego. Barwa zmieniała się w bardziej intensywną w miarę zwiększania dodatku oleju lnianego, a w przypadku czystego oleju lnianego była żółta. Podczas testu przechowalniczego stwierdzono, że najbardziej przydatne, z punktu widzenia zmian LOO (rys. 2a), do produkcji oleju wzbogaconego w kwasy n-3 były mieszanki z 25 i 50% dodatkiem oleju lnianego. Zmiany LA (rys. 2a) wykazywały stabilny przebieg procesu utleniania. Obserwowany był ciągły wzrost wartości LA.

We wszystkich mieszaninach olejów z poduszką azotową występował ciągły wzrost LOO, osiągając najwyższą wartość w 12 tygodniu (rys. 2b). Zmiany LA mieszanin wykazywały stabilny przebieg procesu utleniania (rys. 2b). Obserwowany był ciągły wzrost wartości LA. Przy zastosowaniu poduszki azotowej w żadnym przypadku wartość LA nie przekroczyła 3,5.

We wszystkich mieszaninach olejów przeplukanych azotem notowano ciągły wzrost wartości LOO (rys. 2c). W 12. tygodniu wszystkie mieszanki osiągnęły najwyższe wartości tej liczby. Zmiany LA wykazywały stabilny przebieg procesu utleniania (rys. 2c). Obserwowany był ciągły wzrost wartości LA, osiągając najwyższy poziom w 12. tygodniu.

Mieszanki olejów przeplukane azotem charakteryzowały się znacznie niższymi wartościami LOO w porównaniu z odpowiednikami tych mieszanin bez ingerencji. W przypadku mieszanin bez ingerencji gazowej, wartości końcowe LA we wszystkich przypadkach były ok. 2 razy wyższe od początkowych.

Większość mieszanin przeplukiwanych azotem była wyżej oceniana pod względem cech sensorycznych podczas trwania testu w porównaniu z mieszaninami bez

ingerencji gazowej (tab. 2). Klarowność po 12 tygodniach przechowywania nie uległa zmianie, nie stwierdzono również mętności ani osadu.

### **Wnioski**

1. Podatność oleju lnianego na utlenianie powoduje, że mieszanki z jego udziałem muszą być dodatkowo chronione za pomocą przeciwutleniaczy.
2. Zastosowanie azotu jako przeciwutleniacza do ochrony oleju lnianego spowodowało 3-krotne zwiększenie jego stabilności oksydacyjnej.
3. Tworzenie poduszki gazu inertnego nad olejem jest mniej efektywne w zapobieganiu oksydacji niż przepłukanie oleju tym gazem – tlen rozpuszczony w oleju nie jest tak znaczącym czynnikiem utleniającym, jak tlen zawarty w opakowaniu nad jego powierzchnią.
4. Mieszaniny oleju rzepakowego z dodatkami oleju lnianego w ilości od 25 do 50%, z zastosowaniem azotu jako przeciwutleniacza (zarówno w postaci poduszki powietrznej, jak i poprzez przepłukiwanie) mogą być najbardziej obiecującym źródłem kwasów omega 3, znajdując zastosowanie w przemyśle ze względu na spełnianie wymogów zarówno norm stabilności oksydacyjnej, jak i sensorycznych.

### **Literatura**

- [1] Czerniawski B., Michniewicz J.: Pakowanie produktów spożywczych w atmosferze modyfikowanej. Dostawcy dla przemysłu mleczarskiego, 2003, **2**, 29-32.
- [2] Hojden B.: Lecznicze i użytkowe zalety lnu. Wiad. Ziel., 1994, **36 (09)**, 7-8.
- [3] Krygier K.: Współczesne roślinne tłuszcze jadalne. Przem. Spoż., 1997, **51 (4)**, 11.
- [4] Lisińska-Kuśnierz M., Ucherek M.: Postęp techniczny w opakowalnictwie. Wyd. AE. Kraków 2003, s. 83-85.
- [5] PN – ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej.
- [6] PN – EN ISO 6885:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [7] PN – ISO 6886:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie stabilności oksydacyjnej (Test przyspieszonego utleniania).
- [8] PN – A – 86935. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Ocena sensoryczna smakowitości i metodą punktową rafinowanych olejów i tłuszczów.
- [9] Pikul J.: Pakowanie i przechowywanie żywności w modyfikowanej atmosferze. Chłodnictwo. 2000, **35 (9)**, 67-68.
- [10] Ucherek M.: Nowoczesne rozwiązania w zakresie regulacji składu mieszaniny gazów w opakowaniach do żywności. Magazyn Przem. Spoż., 2001, **2 (12)**, 23-24.


**INFLUENCE OF USE OF NITROGEN INTO OXIDATIVE STABILITY OF MIXTURES OF  
RAPESEED AND LINSEED OILS****S u m m a r y**

Proceeded experiments included physico-chemical and sensoric analysis of mixtures of rapeseed and linseed oils without and with nitrogen pillow and being rinsed by nitrogen. Tests used during analysis were as follows: Rancimat test (120°C), thermostat test (63°C) and 12-weeks long storing test.

Based on the experiments one noticed that oxidative stability of linseed oil is 6 times lower than oxidative stability of rapeseed oil. Because of that there is strong need to protect linseed oil and mixtures with that oil enriched with n-3 fatty acids against oxidation by using additional protection as e.g. inert gas.

Use of nitrogen for protection against oxidation gave impressive results for linseed oil, obtained peroxide value was 2-3 times lower than in case of original linseed oil (among peroxide number up to 5 range). Effectiveness of use of nitrogen pillow is on the same level as in the case with nitrogen rinsing. It means that more important oxidation factor is oxygen under the surface of oil than oxygen in the oil.

Based on the proceeded experiments one can say that the most profitable combination of rapeseed and linseed oil is between 25 and 50% of linseed oil where the rest is filled by rapeseed oil.

**Key words:** oxidative stability, rapeseed oil, linseed oil 

LIDIA MARKIEWICZ, ELŻBIETA BIEDRZYCKA, MARIA BIELECKA

## RÓŻNICOWANIE MLECZARSKICH SZCZEPÓW *LACTOBACILLUS* METODĄ PFGE

### Streszczenie

Izolacja bakterii z danego środowiska może prowadzić do wielokrotnego pozyskania tego samego szczepu, co jest trudne do zweryfikowania tradycyjnymi metodami mikrobiologicznymi ze względu na ich niską siłę dyskryminacyjną. Dlatego do różnicowania szczepów *Lactobacillus* zastosowano metodę PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis; elektroforeza w polu pulsowym) i enzymy restrykcyjne Sma I, Apa I i Not I.

Zróżnicowano 12 izolatów *Lactobacillus* pochodzących z mleka acidofilnego, napojów probiotycznych, serów i kultur mleczarskich oraz 4 szczepy referencyjne należące do gatunków *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *L. helveticus*. Przy użyciu enzymów Sma I oraz Apa I uzyskano 14 różnych wzorów restrykcyjnych, a identycznymi genotypami charakteryzowały się szczepy *L. acidophilus* 145 i *L. acidophilus* A (wyzolowane z kultur mleczarskich) oraz *L. acidophilus* La5 i *L. acidophilus* DSM 20079 (odpowiednio z mleka acidofilnego i szczep referencyjny pochodzący od człowieka). Przy użyciu restryktazy Not I uzyskano jedynie 12 unikatowych wzorów restrykcyjnych, lecz nie udało się rozróżnić szczepów *L. acidophilus* DSM 20079, *L. acidophilus* La5, *L. acidophilus* Bs i *L. acidophilus* K1, pomimo, że ich profile PFGE po trawieniu Sma I i Apa I były odmienne.

W grupie 12 badanych izolatów stwierdzono 10 oryginalnych szczepów. Najwyższą siłą dyskryminacyjną charakteryzowały się enzymy Sma I i Apa I, a uzyskane przy ich użyciu wyniki świadczą o różnorodności szczepów stosowanych w produkcji mleczarskiej.

**Słowa kluczowe:** *Lactobacillus*, PFGE, różnicowanie

### Wprowadzenie

Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* zasiedlają przewód pokarmowy człowieka, a jako korzystnie wpływające na zdrowie i funkcje przewodu pokarmowego oraz ze względu na swoje cechy technologiczne znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle mleczarskim i w produkcji probiotycznych suplementów diety. Poszukując nowych szczepów o właściwościach probiotycznych uzyskuje się dużą liczbę izolatów. Ze względu na możliwość wielokrotnego wyizolowania tego samego szczepu, zwłaszcza



wtedy, gdy szczepy izolowane są z tego samego środowiska (fermentowane produkty mleczne i warzywne, przewód pokarmowy ludzi i zwierząt), istnieje potrzeba zastosowania rzetelnych metod potwierdzających lub wykluczających ich podobieństwo. Ponadto, identyfikacja bakterii na poziomie szczepu jest niezbędna w badaniach probiotyków do odróżniania wprowadzanych szczepów od naturalnie zasiedlających przewód pokarmowy, a także pod względem ich zastosowania w przemyśle np. do ochrony własności opatentowanych szczepów.

Molekularne metody stosowane do różnicowania szczepów wykorzystują: łańcuchową reakcję polimerazy, np. RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) [3]; analizę restrykcyjną zamplifikowanego rybosomalnego DNA, np. ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) [5] lub analizę restrykcyjną całego genomu, np. PFGE (pulsed-field gel electrophoresis – elektroforeza w polu pulsowym) [7]. W metodzie PFGE wykorzystywane są enzymy restrykcyjne, które tną bakteryjne DNA w ściśle określonym miejscu, charakterystycznym dla danego enzymu. Powstałe w ten sposób wielkocząsteczkowe fragmenty DNA są następnie rozdzielane w polu elektrycznym o zmiennej długości pulsu i tworzą charakterystyczny dla każdego szczepu wzór restrykcyjny.

Celem badań było określenie przydatności metody PFGE i wybranych enzymów restrykcyjnych do różnicowania szczepów *Lactobacillus* oraz określenie zróżnicowania izolatów mleczarskich.

## Material i metody badań

### *Szczepy i warunki hodowli*

Zbadano 4 szczepy referencyjne i 12 izolatów *Lactobacillus* należących do gatunków: *L. acidophilus* (6 szczepów), *L. casei* (5), *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (3) i *L. helveticus* (2). Wszystkie szczepy wraz z ich pochodzeniem zostały wyszczególnione w tab. 1. Przed izolacją DNA szczepy *Lactobacillus* uaktywniano przez dwukrotny pasaż w płynnym podłożu MRS [2] w warunkach tlenowych, stosując inkubację w temp. 37°C przez 18-20 h.

### *Przygotowanie bakteryjnego DNA*

Jeden mL całonocnej hodowli bakterii odwirowywano i osad komórek przemywano dwukrotnie 1 mL buforu SE (75 mM NaCl, 25 mM EDTA pH 7,4). Zawiesinę komórek bakteryjnych (60 µL) łączono z 2% agarozą o niskiej temperaturze topnienia (CleanCut™ Agarose, Bio-Rad) w proporcji 1:1 (v/v) i wprowadzano do studzienek o wymiarach 5 x 2 x 10 mm (Bio-Rad). Zestalone bloczki agarozowe inkubowano w buforze lizującym (0,5 mL), zawierającym 50 mM EDTA pH 8,5; 0,05% sarkozyl; 2 mg/mL lizozymu (Sigma) i 3 U/mL mutanolizyny (Sigma) w temp. 37°C przez 16 h. Następnie bloczki inkubowano w roztworze proteinazy K (0,5 mL) zawierającym

10 mM Tris-HCl, 0,05 M EDTA pH 8,5; 1% dodecylsulfate (Fluka) i 2 mg/mL proteinazy K w temp. 53°C przez 18 h. Po tym czasie bloczki płukano w buforze SE 4-krotnie po 1 h w temp. pokojowej (20-22°C) i przechowywano w temperaturze +4°C.

#### *Trawienie enzymami restrykcyjnymi*

Do różnicowania szczepów zastosowano endonukleazy Sma I (5' CCCGGG 3'), Apa I (5' GGGCCC 3') i Not I (5' GCGGCCGC 3') (Fermentas) mające unikalne miejsca restrykcji w genomie *Lactobacillus*. Bloczki agarozowe z unieruchomionym w nich bakteryjnym DNA przemywano 0,1x buforem SE w temp. pokojowej przez 1 h, a następnie 1x buforem odpowiednim do enzymu. Trawienie prowadzono w objętości 0,3 mL buforu zawierającego 10 U enzymu restrykcyjnego w temp. 37°C (Apa I, Not I) lub 30°C (Sma I) przez 16-18 h. Po trawieniu bloczki płukano w 0,5 mL 0,5 x buforu TBE (45 mM Tris, 45 mM H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 1 mM EDTA) stosowanego do elektroforezy.

#### *Warunki rozdziału i barwienie*

Bloczki agarozowe zawierające bakteryjne DNA trawione restryktazami umieszczano w studzienkach 1% żelu agarozowego (Pulsed Field Certified Agarose, Bio-Rad). Dwudziestogodzinny rozdzielanie elektroforetyczne prowadzono w 0,5x buforze TBE, przy stałym napięciu 5 V/cm i długości pulsu 1-15 s, w aparacie CHEF III (Bio-Rad). Jako markery masy molekularnej zastosowano: 5 kb Ladder (Bio-Rad) i Lambda Ladder (Bio-Rad). Po elektroforezie żele barwiono w roztworze bromku etydyny (5 µg/mL, Sigma) przez 40 min, po czym płukano w wodzie destylowanej przez 30 min. Żele wizualizowano w świetle UV i dokumentowano w systemie DigiDOC (Biogenet, Polska).

### **Wyniki i dyskusja**

Wzory restrykcyjne otrzymane po trawieniu DNA poszczególnych szczepów endonukleazami Sma I, Apa I i Not I poddano analizie porównawczej, a wyniki zestawiono w tab. 1.

Stosując enzym Sma I, w grupie 16 badanych szczepów otrzymano 14 unikatowych genotypów (S1 – S14) oraz identyczne profile PFGE szczepów *L. acidophilus* DSM 20079 i *L. acidophilus* La5 (genotyp S1) oraz *L. acidophilus* 145 i *L. acidophilus* A (S4). Podobne wyniki uzyskano po trawieniu enzymem Apa I, gdzie tym samym parom szczepów oznaczono identyczne genotypy – odpowiednio A1 i A4. Natomiast po trawieniu enzymem Not I wyróżniono 12 unikatowych genotypów (N1 – N12), a takie same profile PFGE miały szczepy: *L. acidophilus* DSM 20079, *L. acidophilus* La5, *L. acidophilus* BS i *L. acidophilus* K1 (genotyp N1) oraz *L. acidophilus* 145 i *L. acidophilus* A (N2). Wymienione szczepy o genotypie N1 charakteryzowały się odmiennymi genotypami przy zastosowaniu restryktaz Sma I i Apa I, odpowiednio:

Tabela 1

Zestawienie genotypów otrzymanych na podstawie analizy restrykcyjnej DNA mleczarskich szczepów *Lactobacillus* z zastosowaniem enzymów Sma I, Apa I i Not I.

Configuration of genotypes obtained by restriction analysis of DNA of dairy *Lactobacillus* strains using Sma I, Apa I and Not I enzymes.

Lp. No	Szczep / Strain	Pochodzenie / Origin	Genotyp Sma I Sma I genotype	Genotyp Apa I Apa I genotype	Genotyp Not I Not I genotype
1.	<i>L. acidophilus</i> DSM 20079	człowiek / human	S1	A1	N1
2.	<i>L. acidophilus</i> La5	mleko acydofilne acidophilic milk	S1	A1	N1
3.	<i>L. acidophilus</i> Bs	kultura mleczarska milk culture	S2	A2	N1
4.	<i>L. acidophilus</i> K1	napój probiotyczny probiotical drink	S3	A3	N1
5.	<i>L. acidophilus</i> 145	kultura mleczarska milk culture	S4	A4	N2
6.	<i>L. acidophilus</i> A	kultura mleczarska milk culture	S4	A4	N2
7.	<i>L. casei</i> DSM 20011	ser / cheese	S5	A5	N3
8.	<i>L. casei</i> LcY	napój probiotyczny probiotical drink	S6	A6	N4
9.	<i>L. casei</i> 906	bd <sup>1</sup> / nd	S7	A7	N5
10.	<i>L. casei</i> E1H3.3	ser / cheese	S8	A8	N6
11.	<i>L. casei</i> E1R6	ser / cheese	S9	A9	N7
12.	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> DSM 20081	jogurt / yoghurt	S10	A10	N8
13.	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 151	kultura mleczarska milk culture	S11	A11	N9
14.	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> E	napój probiotyczny probiotical drink	S12	A12	N10
15.	<i>L. helveticus</i> DSM 20075	ser emmentaler emmentaler	S13	A13	N11
16.	<i>L. helveticus</i> b9	kultura mleczarska milk culture	S14	A14	N12

<sup>1</sup> bd – brak danych / no data available

S1/A1 (dwa pierwsze szczepy), S2/A2 i S3/A3; natomiast szczepy o genotypie N2 charakteryzowały się genotypem S4/A4. Otrzymane genotypy Sma I, Apa I i Not I w większości składały się z ponad 10 prążków o wielkości ok. 2-145 tys. par zasad (pz), co pozwalało na dobre rozróżnienie otrzymanych wzorów restrykcyjnych. Jedynie nieliczne profile PFGE charakteryzowały się małą liczbą wysokocząsteczkowych fragmentów, tj. genotypy A7 i N1 (jeden prążek, ok. 240 tys. pz) oraz N2 (dwa prążki, ok. 240 i 190 tys. pz). Powstawanie takich wzorów restrykcyjnych może być wynikiem obecności zbyt małej liczby sekwencji rozpoznawanych przez restryktazy w genomie badanych izolatów, bądź wrażliwości restryktaz na metylację reszt cytozynowych w tych sekwencjach, która blokuje trawienie endonukleazami [8]. W zastosowanych warunkach elektroforezy duże fragmenty DNA (powyżej 200 tys. pz) nie rozdzieliły się, dlatego nie mogły być brane pod uwagę w różnicowaniu szczepów. Uzyskane wyniki skłaniają do wyboru endonukleazy Sma I do rutynowego zastosowania w różnicowaniu *Lactobacillus*. Pomimo, że enzym Apa I miał taką samą zdolność różnicującą, ale jako bardziej wrażliwy na metylację, może okazać się mniej przydatny do różnicowania innych szczepów *Lactobacillus*.

Szczepy o genotypie S1/A1 zostały wyizolowane od człowieka (*L. acidophilus* DSM 20079) i z jogurtu (*L. acidophilus* La5). Ze względu na to, że izolaty o identycznym wzorze restrykcyjnym uważa się za jeden szczep [6], zatem obecność tego samego szczepu w dwóch różnych środowiskach można interpretować w dwojaki sposób. Albo szczep wyizolowany od człowieka zastosowano do produkcji mleka fermentowanego, albo reizolowano go od człowieka spożywającego produkt mleczarski zawierający ten szczep. Ta druga hipoteza wydaje się prawdopodobna, zwłaszcza że zdolność wyselekcjonowanych bakterii fermentacji mlekowej do pasażu przez przewód pokarmowy została potwierdzona, np. metodą PFGE przez Orrhage i wsp. [4]. Szczepy *L. acidophilus* 145 i *L. acidophilus* A również charakteryzowały się identycznym genotypem (S4/A4/N2), jednak pochodziły z tego samego źródła tj. z kultur mleczarskich. Podobne obserwacje poczynili Coeuret i wsp. [1]. Autorzy, metodą PFGE z zastosowaniem trzech enzymów restrykcyjnych Nco I, Sal I i Mlu I wykazali, że szczepy *L. casei* o takim samym genotypie (w niektórych przypadkach identycznym do szczepu referencyjnego) obecne były w różnych produktach mleka fermentowanego.

## Wnioski

1. Uzyskane wyniki wskazują na przydatność metody PFGE do różnicowania szczepów *Lactobacillus* po uprzednim starannym doborze enzymów restrykcyjnych.
2. Wykazano, że endonukleazy Sma I i Apa I charakteryzują się taką samą zdolnością różnicującą, wyższą niż Not I.
3. Wśród 12 badanych izolatów stwierdzono 10 oryginalnych szczepów *Lactobacillus* i jeden identyczny do szczepu referencyjnego *L. acidophilus* DSM 20079, co

świadczy o różnorodności zbadanych szczepów stosowanych w produkcji mleczarskiej.

*Autorki pragną serdecznie podziękować Panom prof. Włodzimierzowi Bednarowskiemu i dr. Markowi Adamczakowi z Katedry Biotechnologii Żywności Wydziału Nauki o Żywności UWM w Olsztynie za udostępnienie do badań aparatu CHEF III firmy Bio-Rad.*

### Literatura

- [1] Coeuret V., Gueguen M., Vernoux J.P.: Numbers and strains of lactobacilli in some probiotics products. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **97**, 147-156.
- [2] De Man J.C., Rogosa M., Sharpe M.E.: A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.*, 1960, **23**, 130-135.
- [3] Hayford A., Petersen A., Vogesen F.K., Jakobsen M.: Use of conserved randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) fragments and RAPD pattern for characterization of *Lactobacillus fermentum* in Ghanaian fermented maize dough. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, **65** (7), 3213-3221.
- [4] Orrhage K., Sjöstedt S., Nord C.E.: Effect of supplements with lactic acid bacteria and oligofructose on the intestinal microflora during administration of cefpodoxime proxetil. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 2000, **46**, 603-612.
- [5] Roy D., Sirois S., Vincent D.: Molecular discrimination of lactobacilli used as starter and probiotic cultures by amplified ribosomal DNA restriction analysis. *Current Microbiol.*, 2001, **42**, 282-289.
- [6] Simpson P.J., Stanton C., Fitzgerald G.F., Ross R.P.: Genomic diversity within the genus *Pediococcus* as revealed by randomly amplified polymorphic DNA PCR and pulsed-field gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002, **68**, 765-771.
- [7] Tynkkynen S., Satokari R., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Saxelin M.: Comparison of ribotyping, randomly amplified polymorphic DNA analysis, and pulsed-field gel electrophoresis in typing of *Lactobacillus rhamnosus* and *L. casei* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999, **65**, 3908-3914.
- [8] <http://rebase.neb.com>, 2006.05.22.

### DIFFERENTIATION OF DAIRY *LACTOBACILLUS* STRAINS USING PFGE METHOD

#### S u m m a r y

Isolation of bacteria from a given environment may cause multiple isolation of the same strain. Verification of such strains is difficult using traditional microbiological methods due to their low discriminative power. Therefore, the PFGE method (Pulsed Field Gel Electrophoresis) as well as Sma I, Apa I and Not I endonucleases were used.

Twelve *Lactobacillus* isolates derived from dairy products and 4 reference strains belonging to species of *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. helveticus* were differentiated. Using Sma I and Apa I enzymes, 14 unique restriction patterns were obtained, and identical genotypes were observed for *L. acidophilus* 145 and *L. acidophilus* A isolates (derived from dairy cultures) and for *L. acidophilus* La5 and *L. acidophilus* DSM 20079 (from acidophilic milk and human, respectively). Using Not I enzyme, only 12 distinct restriction patterns were obtained. Four strains: *L. acidophilus* DSM 20079,

*L. acidophilus* La5, *L. acidophilus* Bs and *L. acidophilus* K1 were not able to be distinguished with Not I, although they demonstrated different patterns after Sma I and Apa I digestion.

In the group of 12 isolates examined, 10 original strains were affirmed. Sma I and Apa I enzymes were characterised by the highest discriminative power. The obtained results confirmed diversity of the strains used in dairy production.

**Key words:** *Lactobacillus*, PFGE, differentiation ☒

AGATA MARZEC, EWA GONDEK

## ZALEŻNOŚCI POMIĘDZY WYBRANYMI WYRÓŻNIKAMI TEKSTURY KRAKERSÓW OZNACZONYMI INSTRUMENTALNIE I SENSORYCZNIE

### Streszczenie

Celem pracy była analiza korelacji pomiędzy wybranymi wyróżnikami tekstury, oznaczonymi instrumentalnie i sensorycznie, krakersów o aktywności wody od 0,25 do 0,67. Sensoryczną ocenę ciastek wykonano metodą ilościowej analizy opisowej, zaś instrumentalne parametry tekstury określono na podstawie testu ściskania produktu w maszynie wytrzymałościowej Zwick 1445, z prędkością 20 mm/min. Podczas ściskania rejestrowano siłę niszczenia i emisję akustyczną (EA) metodą kontaktową za pomocą akcelerometru piezoelektrycznego typu 4381 firmy Brüel & Kjær. Krakery po przekroczeniu  $a_w = 0,49$  nie są akceptowane przez konsumentów, dlatego badano korelacje w zakresie  $a_w$  od 0,25 do 0,49. Energia dźwięku i liczba zdarzeń EA krakersów były silnie skorelowane z odczuciami sensorycznymi. Natomiast słabe zależności stwierdzono pomiędzy parametrami mechanicznymi a wyróżnikami kinestetycznymi tekstury. Wynika stąd wniosek, że do instrumentalnej oceny tekstury krakersów korzystniejsze jest zastosowanie metody akustycznej niż mechanicznej.

**Słowa kluczowe:** krakersy, analiza sensoryczna, właściwości mechaniczne, emisja akustyczna, aktywność wody ( $a_w$ )

### Wprowadzenie

Ogólna jakość sensoryczna produktów kruchych tworzona jest przede wszystkim przez ich smakowitość oraz teksturę, która istotnie zależy od zawartości i aktywności wody. Tekstura jest istotnym elementem jakości ciastek i może być badana instrumentalnie. Łączona jest z właściwościami mechanicznymi materiału, ale to nie wystarczy, aby ocenić produkt. Chociaż istnieje związek pomiędzy siłą niszczenia produktu a percepcją kruchości, pomiary siły powinny być łączone z analizą emitowanego dźwięku. Relacje pomiędzy siłą, dźwiękiem a kruchością należy potwierdzić analizą regresji [2]. Vickers [11] zestawiała akustyczne parametry i średnią wysokość pików

---

*Dr inż. A. Marzec, dr inż. E. Gondek, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa*

dźwięków z pikami siły w celu określenia kruchości chipsów ziemniaczanych. Autorka uzyskała silne korelacje pomiędzy kruchością a natężeniem dźwięku i wykonaną pracą niszczenia. Zależności między wyróżnikami sensorycznymi kruchych produktów a dźwiękiem badał również Vincent [12] i wykazał, że tonacje i głośność są silnie skorelowane z odczuciem twardości. Mohammed i wsp. [8] badali korelacje między wyróżnikami sensorycznymi: kruchością, twardością, intensywnością dźwięku a cechami mechanicznymi i akustycznymi zmierzonymi instrumentalnie. Zaproponowali równanie regresji do opisu zależności sensorycznych oraz instrumentalnych i stwierdzili wysokie korelacje rzędu 0,92.

Celem pracy było określenie korelacji pomiędzy wybranymi wyróżnikami tekstury krakersów oznaczonymi instrumentalnie i sensorycznie.

### **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły krakersy „Lajkonik”. Produkty przed badaniem były umieszczane w higrostatkach nad wodą destylowaną i przechowywane w nich w temp.  $25 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$  do osiągnięcia, założonej aktywności wody. Aktywność wody mierzono aparatem Hygroskop (Rotronic) DT z dokładnością  $\pm 0,001$ . Ze względu na charakter próbek, były one dostarczane do pracowni analiz sensorycznych w opakowaniu o wysokiej barierowości w stosunku do pary wodnej (laminat polietylen i aluminium) i niezwłocznie analizowane.

Sensoryczną ocenę krakersów o aktywności wody 0,25; 0,35; 0,49; 0,57 i 0,67 wykonano w Pracowni Analizy Sensorycznej metodą ilościowej analizy opisowej (Quantitative Descriptive Analysis – QDA) wg Stone’a i Sidela [10]. Mechaniczne (kinestetyczne - twardość, suchość, fragmentację) i akustyczne (głośność dźwięku, jego charakter oraz czas trwania) wyróżniki jednostkowe, składające się na sensoryczny profil tekstury, zostały wybrane przez zespół oceniający w trakcie sesji wstępnej, na przykładzie analogicznych produktów rynkowych. Listę wyróżników, ich definicje oraz odpowiednie określenia brzegowe skali liniowej do oceny przedstawiono w pracy Gondek i Marzec [3].

Instrumentalne wyróżniki tekstury określano na podstawie testu ściskania krakersów w maszynie wytrzymałościowej Zwick 1445, z prędkością 20 mm/min. Podczas niszczenia produktu rejestrowano siłę oraz emisję akustyczną (EA) metodą kontaktową za pomocą akcelerometru piezoelektrycznego typu 4381 firmy Brüel & Kjær. Sygnał emisji akustycznej wzmacniano o 40 dB i analizowano w zakresie częstotliwości od 0,01 Hz do 15 000 Hz. Badania wykonano w 10 powtórzeniach. Analizowano 2-sekundowe fragmenty zapisu akustycznego odpowiadające niskim odkształceniom próbki (maksymalnie do 16%).

Twardość krakersów określano na podstawie maksymalnej siły odczytanej z charakterystyki mechanicznej produktu w układzie siła – czas deformacji. Obliczano pracę



jego ściskania w ciągu 2-sekundowych zapisów charakterystyk mechanicznych [7]. Deskryptory emisji akustycznej, takie jak: energia akustyczna, współczynnik nachylenia charakterystyki widmowej, liczba zdarzeń EA wyznaczano za pomocą programu komputerowego Policz dla Windows XP. Współczynnik chrupkości obliczano jako iloraz liczby zdarzeń emisji akustycznej i pracy ściskania [6].

Odchylenia standardowe zmierzonych instrumentalnie parametrów i analizę statystyczną zależności pomiędzy sensorycznymi i instrumentalnymi wyróżnikami tekstury wykonano w programie Excel dla Windows XP.

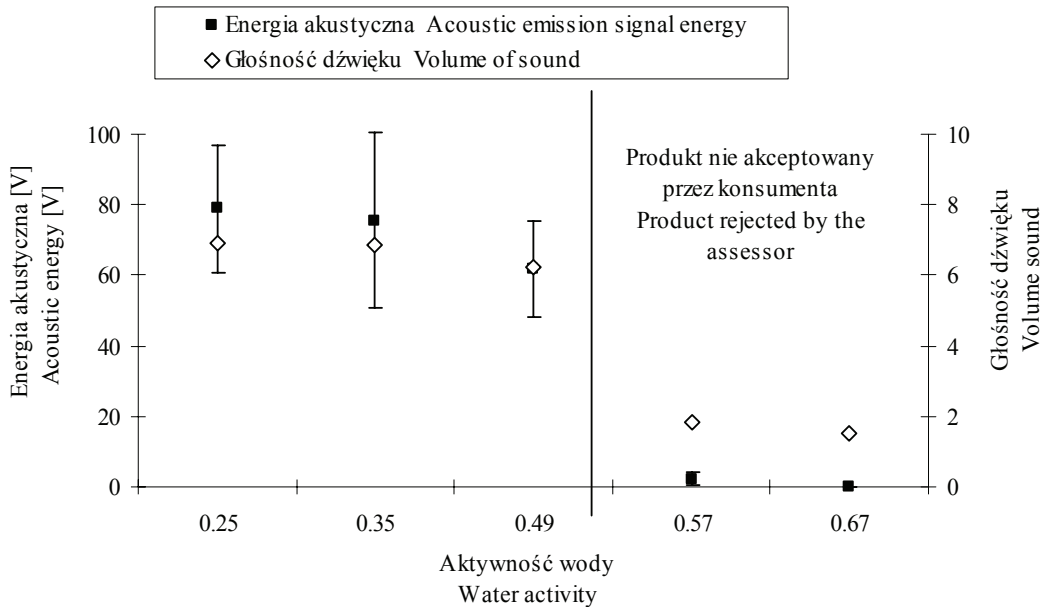
### **Wyniki i dyskusja**

Wszystkie próbki produktów należące do grupy o aktywności wody od 0,25 do 0,49 oceniono sensorycznie jako kruche i o dobrej jakości ogólnej. Cechy sensoryczne, takie jak: jakość ogólna produktu, twardość, ton i głośność dźwięku w powyższym przedziale  $a_w$  nie zmieniały się [3]. Energia sygnału akustycznego i praca ściskania wyznaczone instrumentalnie wykazały tendencje pozornie malejące w powyższym zakresie  $a_w$ , gdyż obserwowane różnice były statycznie nieistotne (rys. 1 i 2).

Krakersy o aktywności wody 0,57 i 0,67 charakteryzowały się niską energią dźwięku, co potwierdziła analiza sensoryczna. Świadczy to, że produkt do osiągnięcia  $a_w = 0,49$  był akceptowany przez konsumentów, zaś wzrost  $a_w$  powyżej tej wartości powodował utratę jego akceptacji. Wpływ aktywności wody na sensoryczne i instrumentalne wyróżniki tekstury ma charakter nieliniowy (rys. 1, 2). Zależności te opisano równaniami pochodzącymi od funkcji Fermiego, a krytyczna aktywność wody wyznaczona podczas sensorycznej oceny ogólnej krakersów wynosiła 0,52 [3] i była zbliżona do tej, przy której Lewicki i wsp. [4] odnotowali zmianę mechanizmu niszczenia krakersów. Marzec i wsp. [6] wykazali, że utrata kruchości krakersów wyraża się stopniowym zanikiem emisji akustycznej, a krytyczna aktywność wody wynosi 0,47 w przypadku analizy liczby zdarzeń i współczynnika kruchości.

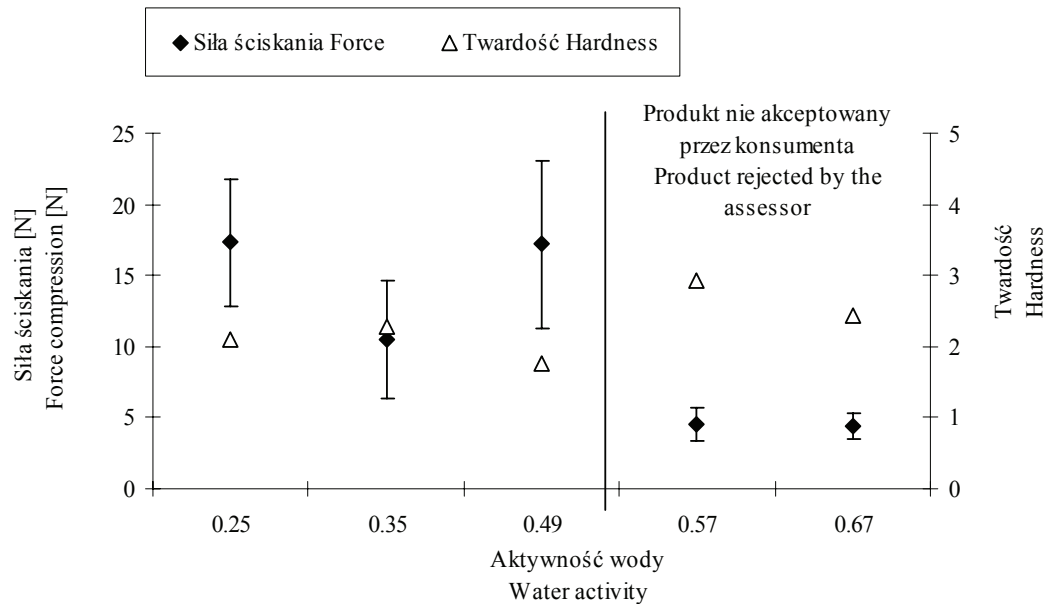
W związku z powyższym badano korelacje pomiędzy wyróżnikami sensorycznymi a instrumentalnymi w wąskim zakresie  $a_w$  od 0,25 do 0,49, w którym produkt jest sensorycznie akceptowany.

Na rys. 3. i 4. przedstawiono przykładowe zależności pomiędzy parametrami wyznaczonymi instrumentalnie (akustycznymi i mechanicznymi) a sensorycznymi wyróżnikami tekstury. Zależności opisano równaniami liniowymi, a współczynniki korelacji przedstawiono w tab. 1. i 2.



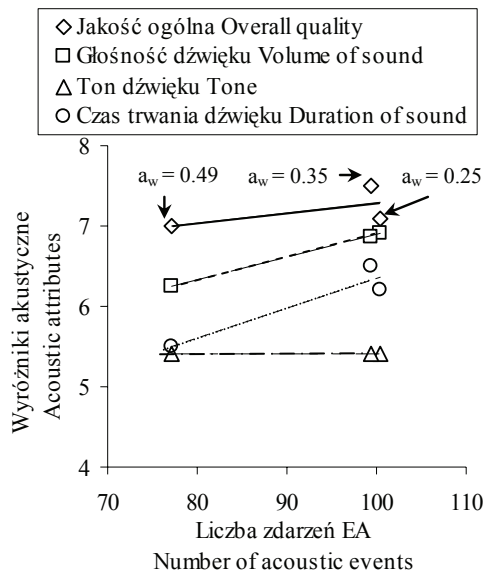
Rys. 1. Wpływ aktywności wody na energię akustyczną dźwięku, oznaczaną instrumentalnie, i głośność dźwięku, ocenianą sensorycznie, w analizie krakersów.

Fig. 1. Influence of water activity on acoustic energy of sound estimated instrumentally and volume of sound estimated by sensorial methods during crackers analysis.



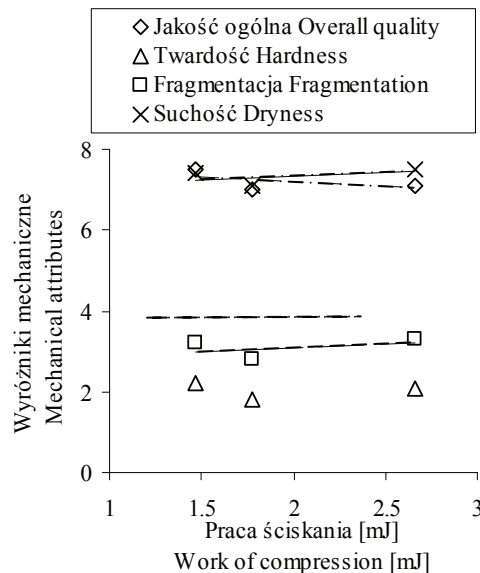
Rys. 2. Wpływ aktywności wody na siłę ściskania i twardość sensoryczną krakersów.

Fig. 2. Influence of water activity on compression force and sensory hardness of crackers.



Rys. 3. Zależności między liczbą zdarzeń i sensorycznymi wyróżnikami tekstury krakersów.

Fig. 3. Correlations between number of acoustic events and acoustic attributes of crackers texture.



Rys. 4. Zależności między siłą ściskania i sensorycznymi wyróżnikami tekstury krakersów.

Fig. 4. Correlations between work compression and mechanical attributes of crackers texture.

Energia akustyczna i liczba zdarzeń EA wykazują silne zależności z wyróżnikami akustycznymi określonymi sensorycznie, takimi jak: głośność, charakter i czas trwania dźwięku (tab.1). Współczynnik nachylenia charakterystyki widmowej wykazał wysokie ujemne korelacje tylko z tonem dźwięku. Informuje on o ilości dźwięku emitowanego w pasmach wysokich i niskich częstotliwości. Istnieją jednak różnice pomiędzy dźwiękiem emitowanym a postrzeganym, które wynikają ze struktury materiału i cech indywidualnych konsumenta i dotyczą szczególnie wysokich częstotliwości 10-20 kHz. Ciało ludzkie modyfikuje emitowany przez produkt dźwięk. Część dźwięku z łamania produktu jest przewodzona przez powietrze część przez kości i tkankę miękką ust. Dlatego zarejestrowane dźwięki za pomocą mikrofonu podczas testów mechanicznych są wyraźnie głośniejsze niż dźwięki postrzegane podczas jedzenia. Wykazano też, że częstotliwość dźwięku związana jest również z wielkością niszczonego produktu [5].

Spośród parametrów mechanicznych korelacje o największych wartościach wystąpiły pomiędzy siłą i twardością sensoryczną ( $r = -0,74$ ). Inne wyróżniki tekstury nie wykazały istotnych współzależności (tab. 2).

Chaunier i wsp. [1] przebadali płatki kukurydziane różnych producentów i stwierdzili słabe zależności między kruchością ocenianą sensorycznie a maksymalną

siłą niszczenia ( $r = 0,40$ ). Znacznie silniejsze korelacje otrzymano analizując kruchość i średnią amplitudę sygnału akustycznego ( $r = 0,63$ ). Autorzy zasugerowali, że zaproponowana przez nich metoda pomiaru emisji akustycznej może być stosowana do szacowania kruchości płatków.

Tabela 1

Współczynniki korelacji między wyróżnikami akustycznymi sensorycznymi i instrumentalnymi tekstury krakersów.

Correlations between sensory acoustic attributes and instrumental features of crackers.

Wyróżniki akustyczne sensoryczne Acoustics attributes sensory of texture	Instrumentalne wyróżniki akustyczne Acoustics features of crackers texture			
	Energia akustyczna [V] Acoustic emission signal energy [V]	Liczba zdarzeń EA Number of acoustic events	Współczynnik nachylenia charakterystyki widmowej Partition power spectrum slope	Współczynnik chrupkości Crispness index
Jakość ogólna Overall quality	0,665	0,773	0,469	0,837
Głośność dźwięku Volume of sound	0,993	0,999	-0,236	0,262
Ton dźwięku Tone	-0,224	-0,373	-0,836	-0,997
Czas trwania dźwięku Duration of sound	0,843	0,916	0,212	0,657
Charakter dźwięku Distinction of sound	0,867	0,934	0,165	0,620

W pracy analizowano także zależności pomiędzy współczynnikiem chrupkości, który uwzględnia zarówno akustyczne, jak i mechaniczne cechy produktu mierzone instrumentalnie a wyróżnikami sensorycznymi. Otrzymano wysokie korelacje tego współczynnika z oceną ogólną rozumianą jako kompleksowa charakterystyka produktu oraz z głośnością i czasem trwania dźwięku ( $r = 0,83$ ) jak również z wyróżnikami akustycznymi, takimi jak ton dźwięku ( $r = -0,99$ ). Z wyróżników mechanicznych tylko twardość korelowała z tym współczynnikiem ( $r = 0,62$ ). Analizowane akustyczne wyróżniki tekstury lepiej korelowały ze swoimi sensorycznymi odpowiednikami niż wyróżniki mechaniczne.

Wynika stąd wniosek, że do instrumentalnej oceny tekstury krakersów korzystniejsze jest zastosowanie metody akustycznej niż metody mechanicznej. Podobnie Gonddek i Marzec [3] wykazały, że kinestetyczne wyróżniki tekstury zmieniają się nie-

znacznie wraz z aktywnością wody produktu i z tego powodu nie mogą być uważane za dobre wskaźniki zmian tekstury krakersów. W literaturze opisano metody sensoryczne i instrumentalne badania kruchości i chrupkości kilku różnych rodzajów żywności. Stwierdzono, że cechy te są ze sobą wysoko skorelowane. Jednak kruchość i twardość, określona w teście mechanicznym jako maksymalna siła niezbędna do zniszczenia badanego materiału, wykazały ujemne korelacje [9]. Sugeruje to, że odczucia kruchości i chrupkości żywności o niskiej zawartości wody są w wyższym stopniu związane z wrażeniami akustycznymi niż z mechanicznymi.

Tabela 2

Współczynniki korelacji między wyróżnikami mechanicznymi sensorycznymi i instrumentalnymi tekstury krakersów.

Correlations between sensory mechanical attributes and instrumental features of crackers.

Sensoryczne wyróżniki mechaniczne Mechanical attributes sensory of texture	Instrumentalne wyróżniki mechaniczne Instrumental mechanical features		
	Siła [N] Force [N]	Praca ściskania [mJ] Work [mJ]	Współczynnik chrupkości Crispness index
Jakość ogólna Overall quality	-0,914	-0,369	0,837
Twardość Hardness	-0,745	-0,065	0,627
Fragmentacja Fragmentation	-0,180	0,561	0,018
Suchość Dryness	-0,290	0,464	0,131

## Wnioski

1. Zależności pomiędzy wyznaczonymi instrumentalnie parametrami akustycznymi i mechanicznymi a wyróżnikami sensorycznymi tekstury krakersów w zakresie aktywności wody od 0,25 do 0,49 mają charakter liniowy.
2. Energia dźwięku i liczba zdarzeń EA krakersów były silnie skorelowane z odczuciami sensorycznymi, słabsze zależności stwierdzono pomiędzy parametrami mechanicznymi a kinestetycznymi wyróżnikami tekstury. Wynika z tego, że w instrumentalnej ocenie tekstury tego typu za najważniejszą uznać należy analizę emisji akustycznej.

*Praca naukowa finansowana ze środków KBN w latach 2003-2006 (3 P06T 040 25)*

### Literatura

- [1] Chaunier L., Courcoux P., Della Valle G., Lourdin D.: Physical and sensory evaluation of cornflakes crispness. *J. Texture Studies*, 2005, **36**, 93-118.
- [2] Duizer L. M., Winger R. J.: Instrumental measures of bite forces associated with crisp products. *J. Texture Studies*, 2006, **37**, 1–15.
- [3] Gondek E., Marzec A.: Wpływ aktywności wody na sensoryczną ocenę tekstury i jakość ogólną krakersów. *Inżynieria Rolnicza*. Kraków 2006 (Praca przyjęta do druku)
- [4] Lewicki P.P., Jakubczyk E., Marzec A., Cabral M. C. C., Periera P. M.: Effect of water activity on mechanical properties of dry cereal products. *Acta Agrophysica*, 2004, **2** (4), 381-391.
- [5] Luyten H. Plijter J. J., van Vliet T.: Crispy/crunchy crusts of cellular solid foods, a literature review with discussion. *J. Texture Studies*, 2004, **35**, 445–492.
- [6] Marzec A., Lewicki P.P., Jakubczyk E.: Badanie jakości krakersów metodą emisji akustycznej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1**(46),
- [7] Marzec A., Lewicki P.P.: Antiplasticization of cereal-based products by water. *Patr I. Extruded flat bread. J. Food Eng.*, 2006, **73**, 1-8.
- [8] Mohammed A. A. A., Jowitt R., Brennan J. G.: Instrumental and sensory evaluation of crispness: I – in friable foods. *J. Food Eng.*, 1982, **1**, 55-75.
- [9] Seymour S. K., Hamann D.D.: Crispness and crunchiness of selected low moisture foods. *J. Texture Studies*, 1988, **19**, 79–95.
- [10] Stone H., Sidel J. L.: *Sensory evaluation practices*. Academic Press, Orlando 1985.
- [11] Vickers Z. M.: Sensory, acoustical and force-deformation measurements of potato chip crispness. *J. Food Sci.*, 1987, **52**, 138-140.
- [12] Vincent J. F. V.: Application of fracture mechanics to the texture of food. *Eng. Fail. Anal.*, 2004, **11**, 695–704.

### CORRELATIONS BETWEEN CHOSEN CRACKERS TEXTURE ATTRIBUTES ESTIMATED BY INSTRUMENTAL AND SENSORY METHODS

#### Summary

The aim of this study was to analyze correlations between instrumental: mechanical and acoustic features of crackers and they equivalent in sensory test. The panelists were focused on assessment of mechanical (kinesthetic) and acoustic attributes of the texture. Samples were compressed with a speed of 20 mm/min, using universal testing machine Zwick 1445. An accelerometer sensor, Brüel & Kjaer 4381V was mounted near the lower end of the upper head of the compressing machine to accomplish an acoustic contact with the crackers sample. The investigation revealed that in the  $a_w$  region from 0.25 to 0.49 crackers are acceptable by consumers and there are no significant changes of both investigated parameters in this region. Sensory acoustic attributes were significantly related to acoustic energy and number of acoustics event. A significant negative relationship was observed between the compression force and sensory hardness. As a result it can be stated, that for instrumental analyze of crackers texture the usage of acoustic method is more effective than mechanical.

**Key words:** crackers, sensory analyze, mechanical properties, acoustic emission, water activity ( $a_w$ ) ☒

MAGDALENA MICHALCZYK, KAMILA NOWACZEK

## JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA WARZYW MAŁO PRZETWORZONYCH OFEROWANYCH W SKLEPACH MAŁOPOLSKI

### Streszczenie

W pracy oceniono stopień zanieczyszczenia mikrobiologicznego warzyw mało przetworzonych przeznaczonych do sałatek, zakupionych w sklepach na terenie Małopolski. Badany asortyment stanowiło 16 produktów, w skład których wchodziły wyplukane i rozdrobnione warzywa liściowe, marchew i mieszanki różnych warzyw. Próby oceniane w wybranych dniach ich okresu przydatności do spożycia pochodziły od pięciu producentów. Oznaczono ogólną liczbę bakterii, liczbę drożdży i pleśni, bakterii z grupy coli oraz wykonano analizę na obecność *Salmonella* i *Listeria monocytogenes*. Ogólna liczba bakterii w próbach była na poziomie od  $10^6$  do  $10^8$  jtk/g, przy czym w 9 produktach, z 16 badanych, wynosiła  $10^8$  jtk/g. Liczba drożdży i pleśni mieściła się w zakresie od  $10^3$  do  $10^6$  jtk/g. Najbardziej prawdopodobną liczbę bakterii z grupy coli (NPL) oznaczono na poziomie od  $<3$  do  $>1100$ . Bakterii *Salmonella* i *Listeria monocytogenes* nie wykryto w żadnej z badanych prób.

**Słowa kluczowe:** warzywa mało przetworzone (RTU), jakość mikrobiologiczna, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*

### Wprowadzenie

Wzrastające zapotrzebowanie konsumentów na warzywa mało przetworzone do sałatek powoduje poszerzenie dostępnego w sklepach asortymentu tych wyrobów. W ich skład wchodzi umyte i pokrojone różne gatunki sałat, marchew, buraki, ogórki, cebula, kapusta i inne. Czasami do opakowania dołączona jest saszetka z sosem lub dodatki typu ser. Przygotowanie surowca może również ograniczyć się jedynie do jego umycia i obrania. Zalecany przez producentów czas przechowywania w warunkach chłodniczych wynosi zwykle od 5 (pokrojone mieszanki warzywne) do 10 dni (obrana, niekrojona marchew). Gotowy produkt pakowany jest często w atmosferze modyfikowanej lub próżniowo. Skład i ilość mikroflory surowca zależna jest od jego gatunku,

---

Dr inż. M. Michalczyk, mgr inż. K. Nowaczek, Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych, Akademia Rolnicza, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

kultury agrotechnicznej, sposobu zbioru oraz warunków transportu. W późniejszym procesie przetwórczym na zanieczyszczenie mikrobiologiczne wpływ ma jakość wody stosowanej do płukania, obecność w niej dodatków, takich jak: chlor, kwas cytrynowy lub askorbinowy, dokładność usunięcia wody oraz uwolnionych z warzyw soków tkankowych, metody i materiały opakowaniowe oraz temperatura przechowywania gotowego produktu [20].

Za dominującą mikroflorę gotowych do spożycia warzyw uważa się Gram ujemne pałeczki, głównie *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.*, *Erwinia spp.*, *Xanthomonas spp.*, *Janthinobacterium spp.*, bakterie fermentacji mlekowej i drożdże [7]. Z bakterii chorobotwórczych, które mogą znaleźć się w takich produktach, wymieniane są: *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus* [4, 7, 13]. W pracach poświęconych ograniczaniu ryzyka związanego z obecnością patogenów i poprawianiu jakości gotowych do spożycia warzyw mało przetworzonych zwraca się uwagę na dodatek środków dezynfekujących do mycia [14, 20], możliwość stosowania wybranych szczepów bakterii fermentacji mlekowej [19, 23], zakwaszenie środowiska [12] oraz pakowanie w atmosferze modyfikowanej [2, 9, 10, 23]. Wśród tych technik znalazła się także umiarkowana obróbka cieplna [11] oraz traktowanie surowców chloranem (I) otrzymanym w wyniku elektrolizy wodnego roztworu NaCl [5, 8].

Półprodukty do sałatek stanowią z jednej strony duże udogodnienie i szansę na wprowadzenie większej ilości warzyw do jadłospisu, z drugiej jednak, zarówno ich wartość odżywcza, jak i jakość mikrobiologiczna mogą zaprzeczać wizerunkowi żywności korzystnej dla zdrowia. Stąd celem pracy była ocena stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego warzyw mało przetworzonych, stanowiących półprodukty do sałatek, dostępnych w sklepach na terenie Małopolski.

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły produkty pochodzące od 5 producentów, analizowane w wybranych dniach ich okresu przydatności do spożycia, zakupione w sklepach na terenie Małopolski. Oceniono 16 partii wyrobów scharakteryzowanych w tab. 1, pobierając po 3 opakowania każdego z produktów. Składnikami mieszanek warzyw liściowych były różne gatunki sałaty, cykorii i endywia. Mieszanki warzyw zawierały kapustę, ogórki, marchew, paprykę i pory.

Ogólną liczbę bakterii oznaczano na podłożu PCA firmy Merck, inkubując próby w temp. 30°C przez 72 godz. [3]. Liczbę bakterii z grupy coli oznaczano metodą najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) poprzez posiewy rozcieńczonego materiału do trzech rzędów probówek zawierających podłoże z zielenią brylantową i żółcią (BGLB), prowadząc inkubację w temp. 30°C przez 24-48 godz. [15]. Drożdże i pleśnie izolowa-



no stosując posiewy na agar maltozowy (Oxoid) o pH 3,5 i 4-dniową inkubację w temp. pokojowej ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) [21]. *Listeria monocytogenes* izolowano zgodnie z metodą opracowaną przez firmę Merck [6]. Do analiz pobierano po 25 g produktu, stosując dwustopniowe namnażanie w bulionie selektywnym Frazera i przesiew na stałe podłoże różnicujące Oxford.

Dalsze postępowanie identyfikacyjne obejmowało oznaczanie charakterystycznego wzrostu na podłożu półpłynnym w słupku, wykonanie preparatu mikroskopowego barwionego metodą Grama oraz szeregu testów biochemicznych. Testy te obejmowały oznaczenie aktywności katalazy, ureazy, wykorzystanie cytrynianu, produkcję indolu, reakcję M-R i V-P, redukcję azotanów(V), produkcję beta-hemolazy oraz zdolność rozkładu eskuliny, glukozy, maltozy, ramnozy i mannitolu [6].

Bakterie z rodzaju *Salmonella* oznaczano zgodnie z Polską Normą [16] wstępnie namnażając 25 g próbki w wodzie peptonowej w temp.  $37^\circ\text{C}$  przez 20 godz. Następnie wykonywano przesiewy do podłoża SF z cystyną i BGA, z którego wybierano charakterystyczne kolonie i poddawano je podstawowym testom biochemicznym.

## Wyniki i dyskusja

Zgodnie z kryteriami rekomendowanymi w Niemczech [7], ogólna liczba bakterii w gotowych mieszankach warzyw sałatkowych nie powinna przekraczać  $5 \times 10^7$  jtk/g. Podobne kryteria przyjęto również we Francji [7]. W dziesięciu z szesnastu badanych prób liczba ta została przekroczona (tab. 1), przy czym w dziewięciu przypadkach była na poziomie  $10^8$  jtk/g. Podobnie wysokie wartości tego wyróżnika ( $10^6 - 10^8$  jtk/g) stwierdzili Pingulkar i wsp. [13] w gotowych do spożycia sałatkach pochodzących z indyjskich restauracji, a nieco niższe, Torriani i Massa [22] w próbach szatkowanej marchwi pochodzącej od 4 różnych producentów (do  $1,4 \times 10^7$  jtk/g).

Stwierdzono korzystny wpływ stosowania atmosfery modyfikowanej w porównaniu z powietrzem na zmniejszenie ogólnej liczby badanych drobnoustrojów (tab. 1). W dostępnej literaturze również przeważają wyniki potwierdzające celowość stosowania atmosfery modyfikowanej, chociaż uzyskiwane przez poszczególnych badaczy rezultaty nie zawsze są jednoznaczne i zależą nie tylko od składu stosowanych mieszanek, ale m.in. również od temperatury składowania wyrobów [2, 9, 10]. Zwraca się też uwagę na możliwość rozwoju w tak zapakowanych produktach *Listeria monocytogenes* i *Aeromonas hydrophila* oraz na minimalizowanie tych zagrożeń np. poprzez inokulację warzyw wybranymi szczepami bakterii kwasu mlekowego [23]. Również w przypadku drożdży i pleśni obecnych w analizowanych w tej pracy półproduktach najwyższą ich liczbę stwierdzono w warzywach przechowywanych w normalnej atmosferze, jednak ogólnie liczba tych drobnoustrojów w porównaniu z danymi literaturowymi nie była bardzo wysoka [13]. Podobnie w przypadku bakterii z grupy coli, które w dużej części

Tabela 1

Charakterystyka badanych warzyw mało przetworzonych do sałatek.  
Characteristic of analysed RTU salad vegetables.

Numer próby No. of sample	Skład produktu Product composition	Liczba dni do końca terminu przydatności Days to the end of product shelf-life	Sposób pakowania Type of package	Ogólna liczba bakterii Total bacteria plate count [jtk/g] [cfu/g]	Bakterie coli (NPL) Coli form bacteria (MPN)	Drożdże i pleśnie [jtk/g] Yeast and mould [cfu/g]
1	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	2	MA**	$3,5 \times 10^8 \pm 2,8 \times 10^7$ ***	>1100	$2,3 \times 10^4 \pm 1,5 \times 10^4$
2	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	2	MA	$1,2 \times 10^7 \pm 9,6 \times 10^6$	>1100	$2,4 \times 10^4 \pm 7,8 \times 10^3$
3	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	1	MA	$4,7 \times 10^7 \pm 4,6 \times 10^7$	965	$1,3 \times 10^4 \pm 1,4 \times 10^3$
4	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	2	MA	$4,0 \times 10^6 \pm 7,1 \times 10^5$	<3	$4,0 \times 10^4 \pm 4,5 \times 10^4$
5	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	2	MA	$9,5 \times 10^6 \pm 8,5 \times 10^5$	445	$1,7 \times 10^4 \pm 7,1 \times 10^3$
5**	Jw. As above	1	MA	$3,5 \times 10^8 \pm 2,2 \times 10^8$	>1100	$3,1 \times 10^4 \pm 1,7 \times 10^4$
6	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	2	MA	$1,9 \times 10^6 \pm 3,2 \times 10^5$	5,5	$4,0 \times 10^3 \pm 3,7 \times 10^3$
7	Mieszanka warzyw Vegetables mix	0	MA	$1,5 \times 10^8 \pm 2,8 \times 10^7$	>1100	$2,6 \times 10^4 \pm 2,3 \times 10^4$

8	Mieszanka warzyw Vegetables mix	1	Powietrze Air	$5,5 \times 10^8 \pm 6,4 \times 10^8$	>1100	$1,2 \times 10^6 \pm 8,6 \times 10^5$
8'	jw. As above	2	Powietrze Air	$3,5 \times 10^8 \pm 1,3 \times 10^8$	>1100	$3,3 \times 10^4 \pm 2,8 \times 10^4$
9	Szatkowana marchew Shredded carrot	4	Próżnia Vacuum	$2,5 \times 10^7 \pm 2,1 \times 10^7$	121	$3,0 \times 10^4 \pm 1,5 \times 10^4$
10	Szatkowana marchew, przyprawy Shredded carrot, spice	4	Powietrze Air	$2,7 \times 10^8 \pm 3,5 \times 10^7$	1100	$2,5 \times 10^5 \pm 1,4 \times 10^5$
11	Szatkowana marchew, rodzynki Shredded carrot, raisins	0	Powietrze Air	$1,3 \times 10^8 \pm 3,5 \times 10^7$	151	$1,0 \times 10^6 \pm 1,2 \times 10^5$
11'	jw. As above	0	Powietrze Air	$3,0 \times 10^8 \pm 2,8 \times 10^8$	36	$1,0 \times 10^6 \pm 1,0 \times 10^5$
12	Obrana marchew Peeled carrot	5	MA	$7,0 \times 10^7 \pm 1,4 \times 10^7$	>1100	$4,8 \times 10^3 \pm 2,6 \times 10^3$
12'	jw. As above	2	MA	$1,1 \times 10^8 \pm 7,6 \times 10^7$	>1100	$1,0 \times 10^6 \pm 2,2 \times 10^5$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\* inna partia tego samego sortymentu produktu / another batch of the same product assortment;

\*\* atmosfera modyfikowana / modified atmosphere;

\*\*\* odchylenie standardowe / standard deviation.

prób przekraczały dopuszczalną przez francuskie zalecenia liczbę  $10^3$  jtk/g [7], jednak nie odbiegały znacząco od wartości stwierdzanych w innych pracach [1]. W żadnym z produktów nie wykryto natomiast obecności *Salmonella spp.* czy *Listeria spp.* Sagoo i wsp. [17] podają, że w próbach gotowych do spożycia warzyw sprzedawanych na terenie Wielkiej Brytanii nie stwierdzono bakterii *Salmonella spp.*, ani *Listeria monocytogenes*, a w innym badaniu prowadzonym na terenie tego samego kraju wykryto *Salmonella* w 0,2% prób, a *L. monocytogenes* w 90 z 3852 próbek, przy czym jedynie w dwóch z nich w ilościach zagrażających zdrowiu konsumentów [18].

### Wnioski

1. W analizowanych warzywach mało przetworzonych nie wykryto obecności *Listeria monocytogenes* i *Salmonella spp.*.
2. Jakość mikrobiologiczna 2/3 ocenianych prób była na niskim poziomie i pod względem ogólnego zanieczyszczenia mikrobiologicznego przekraczała wartości standardów francuskich i niemieckich – polskich standardów dotychczas nie ustanowiono.
3. Uzyskane wyniki sugerują potrzebę zwrócenia większej uwagi na zachowanie wysokich kryteriów jakościowych surowca oraz wyrobu gotowego w trakcie jego produkcji i przechowywania.

### Literatura


- [1] Albrecht J.A., Hamouz F.L., Sumner S.S., Melch V.: Microbial evaluation of vegetable ingredients in salad bars. *J. Food Prot.*, 1995, **58** (6), 683-685.
- [2] Allende A., Jacxsens L., Devlieghere F., Debevere J., Artes F.: Effect of superatmospheric oxygen packaging on sensorial quality, spoilage, and *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas caviae* growth in fresh processed mixed salads. *J. Food Prot.*, 2002, **65** (10), 1565-1573.
- [3] Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: Mikrobiologia żywności. PZWL. Warszawa 1983.
- [4] Burnett S.L., Beuchat L.R.: Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2000, **25**, 281-287.
- [5] Deza M.A., Araujo M., Garrido M.J.: Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* on the surface of tomatoes by neutral electrolyzed water. *Let. Appl. Microbiol.*, 2003, **37**, 482-487.
- [6] Diagram of Procedure acc. To ISO/CD draft 11290 and Metode de Routine AFNOR V08-055 Detection of *Listeria monocytogenes*.
- [7] Francis G.A., Thomas C., O'Beirne D.: The microbiological safety of minimally processed vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1999, **34** (1), 1-22.
- [8] Izumi H.: Electrolyzed water as disinfectant for fresh-cut vegetables. *J. Food Sci.*, 1999, **64** (3), 536-539.
- [9] Kokkoni K., Tassou Ch., Nychas G-J.: Microbiological, physicochemical and organoleptic changes of shredded carrots stored under modified storage. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1996, **31**, 359-366.
- [10] Koseki S., Itoh K.: Effect of nitrogen gas packaging on the quality and microbial growth of fresh-cut vegetables under low temperatures. *J. Food Prot.*, 2002, **65** (2), 362-332.

- [11] Mayer-Miebach E., Gaertner U., Grossmann B., Wolf W., Spiess W.E.L.: Influence of low temperature blanching on the content of valuable substances and sensory properties in ready to use salads. *J. Food Eng.*, 2003, **56 (2/3)**, 215-217.
- [12] Nguyen-the Ch., Halna-du-Frétoy B., Abreu da Silva A.: The microbiology of mixed salad containing raw and cooked ingredients without dressing. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1996, **31**, 481-487.
- [13] Pingulkar K., Kamat A., Bongirwar D.: Microbiological quality of fresh leafy vegetables, salad components and ready-to-eat salads: an evidence of inhibition of *Listeria monocytogenes* in tomatoes. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2001, **52**, 15-23.
- [14] Pirovani M.E., Guemes D.R., Pentima J.H. di, Tessi M.A.: Survival of *Salmonella* hadar after washing disinfection of minimally processed spinach. *Let. Appl. Microbiol.*, 2000, **31(2)**, 143-148.
- [15] PN-93 A-86034/08:1993. Bakterie z grupy coli – wykrywanie obecności, oznaczanie najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) i oznaczanie liczby metodą płytkową.
- [16] PN-A-82055-8:1994. Badania mikrobiologiczne Wykrywanie obecności pałeczek z rodzaju *Salmonella*.
- [17] Sagoo S.K., Little C.L., Mitchell R.T.: The microbiological examination of ready-to-eat organic vegetables from retail establishments in the United Kingdom. *Let. Appl. Microbiol.*, 2001, **33**, 434-439.
- [18] Sagoo S.K., Little C.L., Ward L., Gillespie I.A., Mitchell R.T.: Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of Salmonellosis. *J. Food Prot.*, 2003, **66 (3)**, 403-409.
- [19] Scolari G., Vescovo M.: Microbial antagonism of *Lactobacillus casei* added to fresh vegetables. *Italian J. Food Sci.*, 2004, **16 (4)**, 465-475.
- [20] Sinigaglia M., Albenzio M., Corbo M.R.: Influence of process operations on shelf-life and microbial population of fresh-cut vegetables. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 1999, **23 (6)**, 484-488.
- [21] The oxoid manual of culture media, ingredients and other laboratory services. Third Edition. Published by Oxoid Limited, Hampshire 1976.
- [22] Torriani S., Massa S.: Bacteriological survey on ready-to-use sliced carrots. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1994, **27 (5)**, 487-490.
- [23] Vescovo M., Scolari G., Orsi C., Sinigaglia M., Torriani S.: Combined effects of *Lactobacillus casei* inoculum, modified atmosphere packaging and storage temperature in controlling *Aeromonas hydrophila* in ready to use vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1997, **32 (5)**, 411-419.

#### MICROBIAL QUALITY OF READY-TO-USE VEGETABLE SOLD IN MALOPOLSKA REGION

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

In this study the level of microbiological contamination of ready-to-use salad vegetables was evaluated. Sixteen products composed from rinsed and shredded lettuce, carrot and various mixed vegetables purchased in supermarkets from Malopolska region were investigated. Samples, coming from five producers, were examined at different times of their shelf-life. The following analysis were performed: total bacteria plate count, yeasts and moulds, coliforms as well as *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* presence. Total bacteria plate count of investigated samples ranged from  $10^6$  to  $10^8$  cfu/g and the last value was determined in 9 from 16 samples. Yeast and mould amount was between  $10^3$  and  $10^6$  cfu/g. Most probable number (MPN) of coliforms was at a level from  $<3$  to  $>1100$ . Neither *Salmonella* nor *Listeria monocytogenes* bacteria were detected in analysed material.

**Key words:** RTU salad vegetables, microbiological quality, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* 

JOANNA NIEWCZAS, MAŁGORZATA KAMIONOWSKA, MARTA MITEK

## ZAWARTOŚĆ AZOTANÓW (III) I (V) W OWOCACH NOWYCH ODMIAN DYNI OLBRZYMIEJ (*CUCURBITA MAXIMA*)

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zawartości azotanów (III) i (V) w owocach dyni olbrzymiej oraz zbadanie zmian zawartości tych związków, zachodzących podczas przechowywania.

Materiał doświadczalny stanowiły trzy nowe mieszanece dyni olbrzymiej (956, 957 i 958) oraz dwie zarejestrowane odmiany: Bambino i Karowita. Zbiór owoców przeprowadzono w dniu 21 września 2005 roku.

Badania przeprowadzono w czterech terminach: I - bezpośrednio po zbiorze, II, III, IV, odpowiednio – 4, 8 i 12 tygodni po zbiorze owoców. Dynie przechowywano początkowo w tunelu foliowym, a następnie w chłodni. Temperatura przechowywania wynosiła ok. 10°C, a wilgotność powietrza 75%.

Zawartość azotanów(V) w poszczególnych odmianach dyni olbrzymiej była bardzo zróżnicowana. Po zbiorze najmniejszą ilość tych związków zawierał mieszaniec 956 (20,7 mg/kg ś.m.). Najwięcej azotanów(V), ponad 10-krotnie więcej niż mieszaniec 956, zawierały owoce tradycyjnej odmiany Bambino (282,7 mg/kg ś.m.). Podczas przechowywania nastąpiło istotne zmniejszenie zawartości azotanów(V). Po 12 tygodniach składowania ubytek tego związku wyniósł nawet 62,2% początkowej zawartości.

Zawartość azotanów(III) w badanych odmianach dyni olbrzymiej była bardzo niska. Po zbiorze najmniej tych związków zawierały owoce odmiany Karowita 0,02 mg/kg ś.m., więcej - 0,05 mg/kg ś.m. Bambino i 958, a najwięcej 0,07-0,08 mg/kg ś.m. odmiana oznaczona jako 956 i 957. Zawartość azotanów(III) w czasie przechowywania nie zmieniała się w sposób statystycznie istotny.

**Słowa kluczowe:** dynia olbrzymia, przechowywanie, azotany (III) i (V)

### Wprowadzenie

Występowanie w roślinach pewnych ilości azotanów (III) i (V) jest zjawiskiem normalnym, ponieważ stanowi naturalną konsekwencję żywienia roślin azotem. Wysoka zawartość azotanów występują zazwyczaj w tych częściach rośliny, które biorą udział w transporcie substancji odżywczych. Dlatego też w warzywach liściowych jest więcej azotanów(V) niż w warzywach korzeniowych, które z kolei są zasobniejsze w

---

*Mgr inż. J. Niewczas, mgr inż. M. Kamionowska, prof. dr hab. M. Mitek, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Technologii Żywności SGGW, 02-787 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159C*

ten związek niż warzywa owocowo-nasienne [4, 15]. Ze względu na duże spożycie warzywa wnoszą do diety około 60-85% spożywanych azotanów [2, 14, 16]. Na stopień kumulacji azotanów(V) w warzywach może wpływać nadmierne nawożenie, typ gleby, jej pH, wilgotność, zawartość mikroelementów oraz nasłonecznienie [14]. Ważną rolę odgrywa molibden, którego niedobór powoduje wzrost zawartości azotanów(V) w warzywach [8].

Podczas przechowywania surowców roślinnych zachodzi w nich szereg procesów fizycznych, biochemicznych i mikrobiologicznych, które powodują zmiany składu chemicznego, w tym również zawartości azotanów. Zachowanie tych związków zależy od gatunku, odmiany oraz od warunków przechowywania [5].

Azotany(V) należą do mało toksycznych związków i nie zagrażają bezpośrednio zdrowiu ludzkiemu. Pobrane z żywnością są dość szybko wchłaniane z przewodu pokarmowego i w postaci niezmienionej wydalone z moczem. Część ich jednak może być zredukowana przez mikroflorę przewodu pokarmowego do azotanów(III). Powstające azotany(III) są 6-10-krotnie bardziej toksyczne [3, 16]. Redukcja azotanów(V) do azotanów(III) może zachodzić przed spożyciem warzyw lub też po ich spożyciu. Reakcje te zachodzą pod wpływem enzymów lub bakterii mających zdolność redukcji azotanów(V). Około 5% spożytych azotanów(V) ulega redukcji do azotanów(III) [2, 6].

Azotany(III) mogą reagować z mioglobina tworząc nitrozylomioglobinę lub też utleniać hemoglobinę krwi do methemoglobiny. Skutkiem tych reakcji mogą być zaburzenia w przeniesieniu tlenu i przekazywaniu go do tkanek [17]. Jest to szczególnie niebezpieczne dla niemowląt do 10 miesiąca życia, ponieważ w tym okresie krew dziecka zawiera hemoglobinę płodową, która znacznie łatwiej ulega utlenieniu [3]. Azotany(III) poza hemoglobina unieczynnają również substancje biologicznie czynne tj.: karoteny, witaminę A, witaminy z grupy B oraz białka poprzez utlenianie grupy -SH. Mogą również powodować nieodwracalne zmiany w mózgu, a także zaburzać funkcje tarczycy [6]. Ponadto azotany(III) bardzo łatwo wchodzi w reakcję z aminami drugo- i trzeciorzędowymi, w wyniku czego powstają nitrozoaminy, które wykazują właściwości kancero-, terato- i mutagenne [6, 17].

Występujące w literaturze [4] opracowania dotyczące zawartości azotanów(V) w owocach dyni olbrzymiej pochodzą sprzed kilkudziesięciu lat. Brak jest natomiast danych dotyczących zawartości azotanów w nowych odmianach i mieszańcach dyni, dlatego też celowym wydaje się podjęcie badań w tym zakresie.

Celem pracy było określenie zawartości azotanów (III) i (V) w dyni olbrzymiej oraz zbadanie zmian zawartości tych związków, zachodzących podczas przechowywania.

### **Materiał i metody badań**

Materiał doświadczalny stanowiły owoce trzech nowych mieszańców dyni olbrzymiej (956, 957 i 958), jednej tradycyjnej odmiany (Bambino) oraz jednej nowej odmiany, zarejestrowanej w 2004 roku (Karowita). Badane dynie pochodziły z pola doświadczalnego „Wolica”, należącego do Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu SGGW. Zastosowano nawożenie (kg/ha): 450 saletry amonowej, 430 superfosfatu potrójnego i 500 siarczanu potasu. Zbiór owoców przeprowadzono 21 września 2005 r.

Badania przeprowadzono w 4 terminach: I – bezpośrednio po zbiorze, II, III i IV, odpowiednio – 4, 8, 12 tygodni po zbiorze owoców. Mieszaniec 956 był analizowany tylko w 3 terminach ze względu na zmiany gnilne, które wystąpiły przy jego dłuższym przechowywaniu. Dynie przechowywano początkowo w tunelu foliowym w temp. 5-10°C, a od połowy listopada w chłodni w temp. 10°C i wilgotności powietrza 75%. Próbkę do badań pobierano z najbardziej nasłonecznionej części sześciu owoców każdej z badanych odmian dyni. Strona nasłoneczniona, to strona przeciwna do części spoczywającej na ziemi, mającej jaśniejszy kolor i spłaszczoną powierzchnię. Jednakowej wielkości kawałki owoców obierano, odpesteczano, rozdrabniano, po czym poddawano pasteryzacji w celu inaktywacji enzymów, a następnie zamrażano. Próbkę poddawano analizom po miesięcznym okresie przechowywania. Każdy z sześciu badanych owoców danej odmiany analizowano oddzielnie.

W badanych dyniach oznaczano zawartość azotanów (III) i (V) metodą Griessa [10], a także masę owoców i zawartość suchej substancji. Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu Statgraphics Plus, stosując wieloczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic między wartościami średnimi badano testem Duncana. Analizowano wpływ odmiany i czasu przechowywania na zawartość azotanów (III) i (V) w owocach dyni olbrzymiej.

### **Wyniki i dyskusja**

Dynia należy do warzyw o średniej zdolności gromadzenia azotanów(V), do 250 mg /kg świeżej masy [8]. Zawartość azotanów(V) w poszczególnych odmianach dyni olbrzymiej była bardzo zróżnicowana (tab. 1). Po zbiorze najmniejszą ilość tych związków zawierał mieszaniec 956 (20,7 mg/kg ś.m.). Najwięcej azotanów(V) zawierała tradycyjna odmiana Bambino (282,7 mg/kg ś.m.), ponad 10-krotnie więcej niż mieszaniec 956. Odmiana ta charakteryzuje się dużą skłonnością do kumulacji tych związków. Mazur [7], badając wpływ zróżnicowanego nawożenia na zawartość azotanów(V) w owocach dyni odmiany Bambino, uzyskała wartości od 97 do 407 mg/kg ś.m. Wyniki uzyskane w doświadczeniu zawierają się w tych granicach. Lisiewska i Kmiecik [4] podają bardzo szeroki zakres zawartości azotanów (III) i (V) w dyniach:



od 3 do 2314 mg/kg ś.m. Ponieważ dane te zostały opublikowane w latach 1967-1986 dotyczą one starszych odmian dyni olbrzymiej.

Tabela 1

Zawartość azotanów(V) w owocach dyni olbrzymiej podczas przechowywania.  
Nitrate content(V) in giant pumpkin fruits during storage.

Mieszaniec <sup>1)</sup> lub odmiana <sup>2)</sup> Hybrid <sup>1)</sup> or cultivar <sup>2)</sup>	Zawartość azotanów(V) [mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /kg ś.m.]			
	Nitrate(V) content [mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /kg f.w.]			
	I termin I period	II termin II period	III termin III period	IV termin IV period
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
956 <sup>1)</sup>	20,7 ± 8,7 <sup>aA</sup>	17,9 ± 8,5 <sup>aA</sup>	10,7 ± 1,89 <sup>aA</sup>	-
957 <sup>1)</sup>	29,9 ± 3,3 <sup>abA</sup>	31,6 ± 9,7 <sup>aA</sup>	22,6 ± 3,9 <sup>bA</sup>	11,3 ± 1,2 <sup>cA</sup>
958 <sup>1)</sup>	83,5 ± 11,8 <sup>aB</sup>	76,3 ± 15,6 <sup>abB</sup>	69,4 ± 11,9 <sup>bB</sup>	67,6 ± 17,3 <sup>bB</sup>
Karowita <sup>2)</sup>	84,6 ± 9,4 <sup>aB</sup>	78,7 ± 16,5 <sup>aB</sup>	84,0 ± 13,9 <sup>aB</sup>	33,1 ± 2,5 <sup>bA</sup>
Bambino <sup>2)</sup>	282,7 ± 18,7 <sup>aC</sup>	247,8 ± 34,0 <sup>abC</sup>	246,4 ± 34,5 <sup>bC</sup>	220,6 ± 28,9 <sup>bC</sup>

$\bar{x}$  - wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / standard deviation;

a, b, c - wartości średnie oznaczone w wierszach w obrębie tego samego wyróżnika tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha=0,05$ ;

a, b, c - mean values in the lines, which are denoted by the same letter do not statistically significantly differ at  $\alpha=0.05$  level;

A, B, C - wartości średnie oznaczone w kolumnach w obrębie tego samego wyróżnika tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha=0,05$ ;

A, B, C - mean values in the columns, which are denoted by the same letter do not statistically significantly differ at  $\alpha=0.05$  level.

Minister Zdrowia określił w rozporządzeniu [13] najwyższe dopuszczalne zawartości azotanów(V), które mogą się znajdować w roślinnych środkach spożywczych. Nie ma wśród nich dopuszczalnych wartości dotyczących owoców dyni. Jednakże, biorąc pod uwagę wyniki własne zawartości azotanów(V) w nowych odmian i mieszańcach dyni olbrzymiej, można zauważyć, że spełniają one rygorystyczne wymagania odnoszące się do 7. grupy produktów - do 200 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> mg/kg świeżego produktu. Grupą tą są warzywa i ziemniaki przeznaczone dla niemowląt i małych dzieci. Zatem nowe odmiany i mieszańce bardzo dobrze nadają się do produkcji wyrobów dla tej szczególnej grupy konsumentów.

Z badań Lisiewskiej i Kmiecika [4] wynika, że w warzywach należących do rodziny *Cucurbitaceae* zasobność w azotany zależy od wielkości części użytkowej. Wykazano, że wraz ze wzrostem długości owoców cukinii zwiększała się w nich ilość tych związków, lecz w ogórku wykazano reakcję odwrotną. Zależność tę stwierdzono także

w niniejszej pracy. Spośród badanych odmian i mieszańców dyni olbrzymiej najmniejszymi rozmiarami charakteryzowały się owoce odmiany 956 i 957 (1,5-2,5 kg), które zawierały najmniejsze ilości azotanów. Z kolei dynie odmiany Bambino, o masie kilkakrotnie większej (6-17 kg), odznaczały się największą zawartością tych związków.

Podczas kilkumiesięcznego przechowywania często obserwuje się zmniejszenie zawartości azotanów [2, 5]. Po 8 tygodniach badane owoce dyni olbrzymiej zawierały około 50% mniej tych związków w stosunku do ilości po zbiorze (mieszaniec 956). W odmianach, które udało się przetrzymać dłużej, zmniejszanie zawartości azotanów postępowało dalej. Największy ubytek zawartości tych związków (o ponad 60%) zaobserwowano w mieszańcu 957 po 12 tygodniach przechowywania.

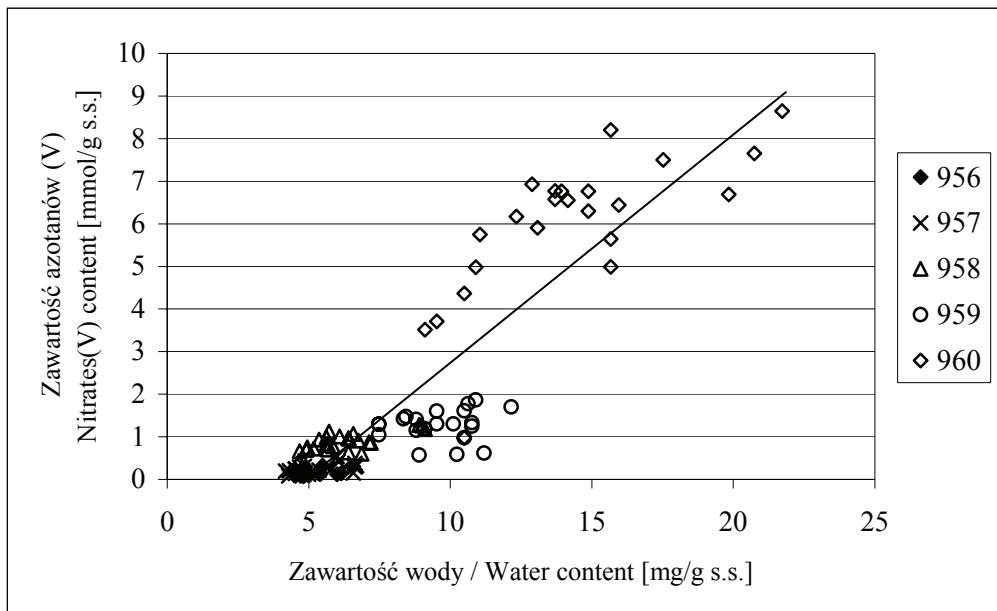
Zawartość azotanów w warzywach zależy od stadium rozwoju rośliny. We wczesnych stadiach rozwojowych zawierają one najwyższe stężenie azotanów. Związane jest to prawdopodobnie z niską zawartością w tym okresie węglowodanów, które stanowią główne źródło energii zarówno w procesach redukcji azotanów, jak i w dalszej kolejności do procesu wbudowywania azotu do aminokwasów. Dynia należy do warzyw, w których w miarę upływu sezonu wegetacyjnego maleje zawartość azotanów [4]. Rośliny w pełni dojrzałe zawierają mniej tych związków [15].

W celu ograniczenia negatywnych skutków spożywania azotanów (III) i (V) należy stosować urozmaiconą dietę, zwłaszcza wzbogaconą w przeciwutleniacze, z których najważniejsze to: witaminy C, E,  $\beta$ -karoten i selen oraz kobalt. Stwierdzono, że w obecności  $\beta$ -karotenu jon azotanowy(III) nie może reagować z drugorzędowymi aminami [16]. Nowe odmiany i mieszańce oprócz niższej zawartości azotanów(V) są również znacznie zasobniejsze w  $\beta$ -karoten niż odmiany tradycyjne [9]. Jest to kolejny czynnik przekonujący do uprawy i konsumpcji nowych odmian dyni.

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej można wywnioskować, że na zawartość azotanów wpływała nie tylko odmiana dyni olbrzymiej, ale również czas jej przechowywania. Biorąc pod uwagę obydwie te parametry można tak dobrać odmianę dyni i termin jej przerobu, aby uzyskany produkt zawierał jak najmniej niepożądanych związków, jakimi są azotany, zwłaszcza w formie zredukowanej.

Zawartość azotanów(V) jest dodatnio skorelowana z zawartością wody. W surowcach, w których występują, zależność taką zaobserwowano m.in. w: pomidorach i sałacie [1], szpinaku [11], a także bazylii, majeranku, tymianku i estragonie [12]. W tych samych warunkach uprawy (nasłonecznieniu, nawożeniu azotem), zawartość azotanów była związana z ilością wody w roślinach.

Podobną zależność stwierdzono w badanych owocach dyni olbrzymiej (rys. 1). Odmiany nowe, o zawartości azotanów poniżej  $2 \times 10^{-3}$  mol/g s.s. zawierały jednocześnie mniejsze ilości wody niż odmiana tradycyjna Bambino. Zawartość tych niepożądanych związków zależała istotnie ( $r = 0,9$ ) od zawartości wody.



Rys. 1. Zależność zawartości azotanów(V) od zawartości wody w owocach dyni olbrzymiej.

Fig. 1. Relation between nitrate(V) and water contents in fruits of giant pumpkin.

Tabela 2

Zawartość azotanów(III) w owocach dyni olbrzymiej podczas przechowywania.

Nitrate content (III) in giant pumpkin fruits during storage.

Mieszaniec <sup>1)</sup> lub odmiana <sup>2)</sup> Hybrid <sup>1)</sup> or cultivar <sup>2)</sup>	Zawartość azotanów(III) [mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /kg ś.m.]			
	Nitrate(III) content [mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /kg f.w.]			
	I termin	II termin	III termin	IV termin
	I period	II period	III period	IV period
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
956 <sup>1)</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,08 ± 0,02 <sup>aA</sup>	0,09 ± 0,02 <sup>aA</sup>	-
957 <sup>1)</sup>	0,07 ± 0,02 <sup>aAB</sup>	0,06 ± 0,03 <sup>aAB</sup>	0,07 ± 0,02 <sup>aA</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>aA</sup>
958 <sup>1)</sup>	0,05 ± 0,01 <sup>aB</sup>	0,05 ± 0,02 <sup>aBC</sup>	0,05 ± 0,02 <sup>aCD</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>aB</sup>
Karowita <sup>2)</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>aC</sup>	0,03 ± 0,00 <sup>aC</sup>	0,03 ± 0,02 <sup>aD</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>aC</sup>
Bambino <sup>2)</sup>	0,05 ± 0,03 <sup>aB</sup>	0,05 ± 0,02 <sup>aBC</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>aBC</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>aB</sup>

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

Warzywa zawierają niewielkie ilości azotanów(III) - poniżej 1 mg/kg [17]. Badane owoce dyni olbrzymiej zawierały bardzo mało azotanów(III) (tab. 2). Po zbiorze

najmniej tych związków zawierały dynie odmiany Karowita 0,02 mg/kg ś.m., nieco więcej - 0,05 mg /kg ś.m. odmiana Bambino i 958, a najwięcej 0,07-0,08 mg/kg ś.m. odmiana 956 i 957. Według Walkera [18] dynie zawierają ok. 0,8 mg azotanów(III)/kg ś.m.

Warzywa przydatne do długoterminowego przechowywania wykazują mniejszą wrażliwość na działanie czynników redukujących azotany(V) do azotanów(III), wskutek czego wzrost zawartości tych ostatnich jest niewielki [5]. W czasie przechowywania badanych owoców dyni zawartość azotanów(III) nie zmieniała się w nich w sposób statystycznie istotny.

Poznanie zmian zawartości składników, które mają istotny wpływ na zdrowotność uzyskanego produktu, m.in. azotanów (III) i (V) jest bardzo ważne. Spożycie lub przerób owoców dyni po kilkumiesięcznym przechowywaniu może zdecydowanie poprawić jakość uzyskanego produktu. Dlatego też istotnym wydaje się dalsze prowadzenie badań w tym zakresie.

### Wnioski

1. Zawartość azotanów(V) w poszczególnych odmianach dyni olbrzymiej wykazywała duże zróżnicowanie. Najmniejszą zawartość tych związków miały nowe mieszance 956 i 957, a największą tradycyjna odmiana Bambino. Podczas przechowywania nastąpiło istotne zmniejszenie zawartości azotanów(V). Po 12 tygodniach przechowywania ich ilość zmniejszyła się nawet o ponad 60%. Zawartość azotanów(V) była dodatnio skorelowana z zawartością wody w owocach dyni olbrzymiej.
2. Badane odmiany dyni zawierały niewielkie ilości azotanów(III) wynoszące od 0,03 do 0,08 mg/kg ś.m. Podczas przechowywania ich zawartość nie zmieniała się w sposób statystycznie istotny.

### Literatura

- [1] Cárdenas-Navarro R., Adamowicz S., Robin P.: Nitrate accumulation in plants: a role of water. *J. Exp. Bot.*, 1999, **50**, 334, 613-624.
- [2] Gangoli S.D., van den Brant P.A., Feron V.J., Janzowsky Ch., Koeman J.H., Speijers G.J.A., Spiegelhalder B., Walker R., Wishnok J.S.: Nitrate, nitrite and *N*-nitroso compounds. *Eur. J. Pharmacol. Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 1994, Section **292**, 1-38.
- [3] Gułajski M.: Jak unikać zatrucia organizmu żywnością. *Wiad. Ziel.*, 2002, **6**, 16-18.
- [4] Lisiewska Z., Kmieciak W.: Azotany i azotyny w warzywach. Cz. I. Wpływ różnych czynników na zawartość azotanów i azotynów w warzywach świeżych. *Post. Nauk Roln.*, 1991, **3**, 11-24.
- [5] Lisiewska Z., Kmieciak W.: Azotany i azotyny w warzywach. Cz. II. Zmiany zawartości azotanów i azotynów w warzywach podczas krótko i długoterminowego przechowywania. *Post. Nauk Roln.*, 1991, **3**, 25-31.
- [6] Majchrzak D.: Wpływ azotanów i azotynów na organizm ludzi i zwierząt. *Żyw. Człow. Met.*, 1985, **12 (4)**, 298-304.

- [7] Mazur Z.: Wpływ nawożenia azotowego na poziom zawartości azotanów i azotynów w warzywach. Biul. Warz., 1992, **38**, 123-139.
- [8] Michalik H., Szwoń E.: Uwaga na azotany. Zdrowa Żywność, 1994, **1 (23)**, 27-28.
- [9] Niewczas J., Szweca D., Mitek M.: Zawartość wybranych składników prozdrowotnych w owocach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*), Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **2 (43)** Supl., 147-155.
- [10] PN-92/A-75112. Owoce, warzywa i ich przetwory. Oznaczanie azotanów i azotynów.
- [11] Quinche J.P.: Fluctuations des teneurs en nitrates des légumes au de la journée. Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture, 1982, **14**, 85-87.
- [12] Quinche J.P., Dvorak V.: Le dosage des nitrates dans les légumes, les plantes condimentaires et les terres par ionométrie et par chromatographie gaz-liquide. Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture, 1980, **12**, 7-20.
- [13] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności, Dz. U. 2003, Nr 37, poz. 326 z późn. zm.
- [14] Rutkowska G.: Jeszcze o azotanach. Chłodnictwo, 1996, **31 (12)**, 38-40.
- [15] Sady W.: Czynniki ograniczające zawartość azotanów i metali ciężkich w warzywach. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2001, **5**, 21-23.
- [16] Szymczak J., Prescha A.: Zawartość azotanów i azotynów w warzywach rynkowych we Wrocławiu w latach 1996-1997. Roczn. PZH, 1999, **1**, 17-3.
- [17] Tyszkiewicz I.: Azotyny i azotany w żywności. Przem. Spoż., 1988, **10**, 288-290.
- [18] Walker R.: Nitrates, nitrites and *N*-nitroso compounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. Food Add. Contam., 1990, **5**, 717-768.

#### NITRATES (V) AND (III) CONTENT IN NEW VARIETY OF GIANT PUMPKIN (*CUCURBITA MAXIMA*)

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

The aim of the study was the determination of the nitrates content in the giant pumpkin and studying of changes in contents of these compounds during the storage.

Experimental material determined 3 new hybrids (956, 957, 958) and 2 registered varieties (Karowita and Bambino) of giant pumpkins.

Fruit harvest was conducted in 21 September 2005. Research passed became into 4 periods: I period directly after the harvest, II - 4 weeks after the harvest, III - 8 weeks and IV period - 12 of weeks after the harvest of fruit. Pumpkins were stored at first in the foliar tunnel and next in the cold storage room at 10°C and humidity was 75%.

The content of the nitrates(V) in investigated variations of giant pumpkin was very different. Directly after the harvest time the amount of nitrates was from 20.7 mg/kg of the fresh mass (956) to 282.7 mg/kg f.m. (Bambino). During the storage this content successively declined and for 12 weeks the nitrate content was lower even for 62.2%.

The content of the nitrates(III) in studied giant pumpkins varieties amounted from 0,02 mg/kg f.m. (Karowita) to 0.08 mg/kg f.m. (956) in the first period of research. For the all of varieties of giant pumpkin the inconsiderably increase of the content of nitrates (III) during the storage time was detected.

**Key words:** giant pumpkin, storage, nitrates (III) and (V) ☒

KATARZYNA OLBORSKA, PIOTR P. LEWICKI

## ORGANIZACJA PROCESU PAKOWANIA PRODUKTÓW MLECZARSKICH I JEJ WPŁYW NA STAN MIKROBIOLOGICZNY POWIETRZA W HALI PRODUKCYJNEJ

### Streszczenie

Celem badań było określenie stanu mikrobiologicznego powietrza w hali produkcyjnej mleczarni, ze szczególnym uwzględnieniem zależności poziomu zanieczyszczeń od organizacji procesu pakowania. Ogólną liczbę bakterii w powietrzu hal technologicznych oznaczono metodą sedymentacyjną.

W wielu wykonanych pomiarach liczebność drobnoustrojów przekraczała zakładowe limity systemu HACCP. Mikrobiologiczne zanieczyszczenie powietrza było wynikiem zmian intensywności procesu technologicznego i jego organizacji. Wzmożony ruch personelu i przepływ powietrza, wywołany operacjami mycia, transportu i przeciągami były najczęstszą przyczyną wzrostu zanieczyszczenia powietrza w hali produkcyjnej.

**Słowa kluczowe:** zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza, organizacja procesu pakowania, produkty mleczarskie

### Wprowadzenie

Badanie stanu mikrobiologicznego powietrza w zakładach przemysłu spożywczego uzasadnione jest wieloma względami, ale przede wszystkim chodzi o kontrolę i zapewnienie optymalnych warunków pracy (bioaerozole bakteryjne i grzybowe mają bowiem bardzo niekorzystny wpływ na samopoczucie człowieka, układ oddechowy, nerwowy i immunologiczny, a nawet powodują i wzmagają stany alergiczne) i higieny środowiska produkcyjnego. Badania jednoznacznie udowadniają, że stan mikrobiologiczny powietrza w hali produkcyjnej wpływa na jakość i trwałość produkowanej żywności [3, 5, 6].

Szczególnie podatne na ryzyko zanieczyszczenia są produkty w przemyśle mleczarskim. Duża wrażliwość na czynniki zewnętrzne i mały stopień przetworzenia oraz

---

*Mgr inż. K. Olborska, prof. dr hab. P. P. Lewicki, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159 C*

fakt, że po procesie pakowania nie następuje już żadna operacja technologiczna, mogąca wyeliminować niepożądane zanieczyszczenie, powodują, że szczególnie w trakcie pakowania dochodzi do licznych zakażeń wtórnych. W trakcie pakowania żywność ma bezpośredni kontakt nie tylko z opakowaniami, maszynami pakującymi i personelem, ale również z otaczającym powietrzem, które jest czynnikiem przenoszącym zanieczyszczenia mikrobiologiczne nawet ze znacznie oddalonych elementów budynku.

Na etapie pakowania produktów mleczarskich główne źródło zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza stanowią pracownicy, opakowania i materiały opakowaniowe oraz warunki pomieszczeń, stan sanitarno-higieniczny pomieszczeń, urządzeń produkcyjnych i pomocniczych. Istotne są także wykonywane czynności technologiczne, natężenie ruchu personelu i maszyn oraz sposób cyrkulacji powietrza. Wiele potencjalnych zagrożeń można zatem wyeliminować na etapie organizacji produkcji zarówno na poziomie danego wyrobu, jak i danego zakładu.

Celem pracy było przeanalizowanie stanu mikrobiologicznego powietrza w hali produkcyjnej zakładu mleczarskiego w zależności od czynności wykonywanych w trakcie procesu pakowania: jogurtów, serków termizowanych, sera twarogowego i mleka pasteryzowanego.

### **Material i metody badań**

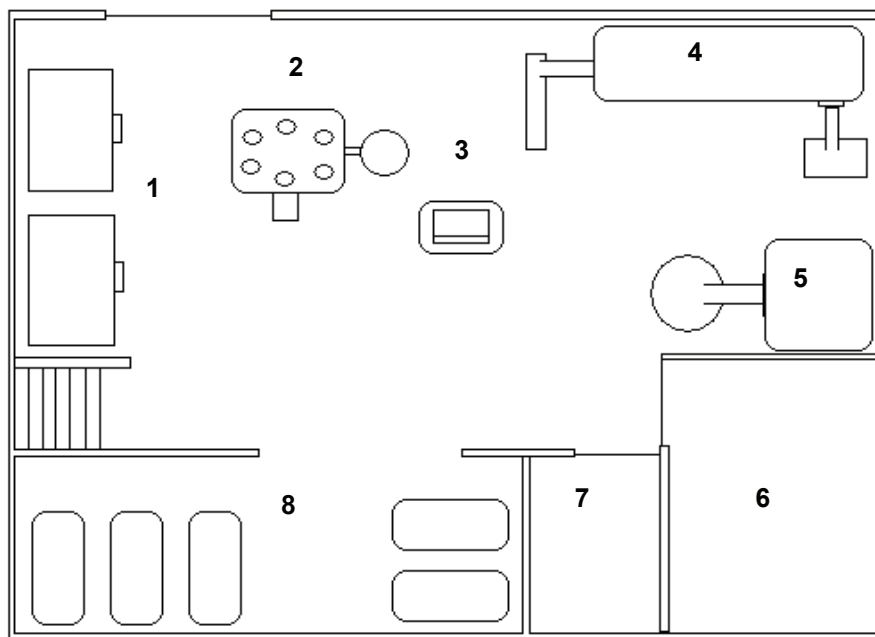
Ocenę stanu mikrobiologicznego powietrza przeprowadzono w zakładzie mleczarskim w trakcie szeroko pojętego procesu pakowania: jogurtów, serków homogenizowanych, sera twarogowego i mleka pasteryzowanego. Urządzenia do pakowania tych produktów zlokalizowane były w obrębie jednej wspólnej hali (rys. 1).

Zbadano powietrze hali technologicznej, ciągów komunikacyjnych, klatki schodowej w trakcie całego cyklu produkcji: pakowania, transportu opakowań do produkcji, wywozu wyrobów gotowych do magazynu, rotacji pracowników na stanowiskach, opuszczania stanowisk w związku z przerwą, mycia międzyprodukcyjnego, wstępnego (przedprodukcyjnego) i końcowego (poprodukcyjnego). Pomiarów wykonywano na wysokości 100 cm nad podłogą, umieszczając petryfilm firmy 3M na ruchomym stoliku do pakowaczki próżniowej, kolejno: w pobliżu pracujących linii pakujących oraz w ciągach komunikacyjnych. W wyznaczonych punktach badawczych wykonywano pomiary co godzinę przez cały okres pracy w hali (od momentu rozpoczęcia przygotowań do startu linii pakującej do jej umycia), przy różnych harmonogramach produkcji.

Ze względu na plan produkcyjny oraz sposób prowadzenia procesu rozróznilo produkcję:

- "ustabilizowaną"- minimalny ruch pracowników (wynikający z długich cykli produkcyjnych i nielicznych "przejsć smakowych", ograniczona rotacja załogi), przygotowanie opakowań i materiałów pomocniczych przed produkcją, wywóz wyrobu

- gotowego po zakończonej produkcji, mycie podłogi i linii po zakończonym procesie pakowania),
- „burzliwą”- znaczny ruch personelu produkcyjnego, częste dostarczanie różnych opakowań i materiałów opakowaniowych (zróżnicowany plan produkcyjny), wywóz wyrobów gotowych, awarie, przerwy w produkcji, liczne "przejścia smakowe", związane z myciem linii i podłogi.



- 1 - pakowanie mleka pasteryzowanego / pasteurized milk packaging,
- 2 - pakowanie twarogu / cottage cheese packaging,
- 3 - pakowanie próżniowe twarogu / cottage cheese vacuum packaging,
- 4 - pakowanie kefiru / kefir packaging,
- 5 - pakowanie jogurtu / yoghurt packaging,
- 6 - magazyn wyrobów gotowych / ready products storage,
- 7 - magazyn opakowań i materiałów opakowaniowych / packaging and packaging material storage,
- 8 - twaroźkarnia / cottage cheese production room.

Rys. 1. Schemat ustawienia linii pakujących w hali.

Fig. 2. Packaging lines location scheme.

W opisanych punktach badawczych oznaczano sedymentacyjną metodą Kocha [1, 2, 7] ogólną liczbę bakterii w powietrzu, stosując 15 min ekspozycji. Liczbę drobno-ustrojów w 1 m<sup>3</sup> powietrza podczas dobowego cyklu produkcji wyrażano w postaci jednostek tworzących kolonie (jtk).



W badaniach wykorzystano także:

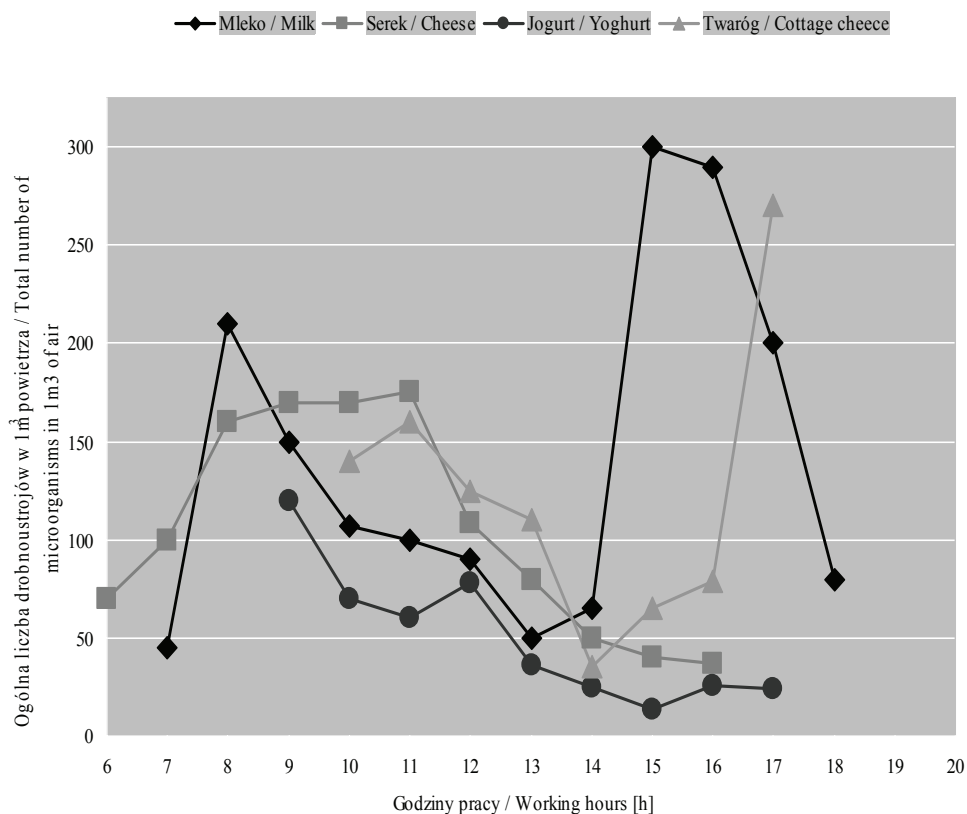
- raporty dotyczące prób przechowalniczych, ilości zwrotów, reklamacji i produktów wycofanych, zanieczyszczenia produktów,
- dokumenty systemu HACCP dotyczące limitów krytycznych,
- wyniki badań mikrobiologicznych dotyczących zanieczyszczenia: opakowań (metoda popłuczyn, met. luminometryczna), urządzeń pakujących (met. luminometryczna, met. tamponowa), rąk (metoda odciskowa).

Na podstawie wykonanych fotografii dnia przebiegu procesów w hali pakowania, prowadzonych wrywkowo w okresie od października 2005 do kwietnia 2006, określono: sposób wydzielenia obszaru pakowania, bliskość innych linii, ciągłość procesu, liczbę i przyczyny przerw technologicznych i pracowniczych, sposób ich realizacji, cyrkulację powietrza (lokalizacja ciągów komunikacyjnych, przeciągi), systemy oczyszczania powietrza, ogólny stan hali (maszyny, kratki ściekowe, ściany, rurociągi), przemieszczanie się załogi, systemy utrzymania higieny urządzeń pakujących.

### **Wyniki i dyskusja**

Oceniając powietrze w wybranych działach badanych zakładów mleczarskich stwierdzono, że największa liczba bakterii (średnio 680 jtk/m<sup>3</sup>) występowała podczas pakowania wyrobów w dziale galanterii, zaś najwięcej drożdży wykryto (średnio 230 jtk/m<sup>3</sup>) w strefie pakowania mleka w proszkowni, a pleśni (średnio 160 jtk/m<sup>3</sup>) w masłowni podczas pracy formiarki. Rozpatrując zanieczyszczenie mikrobiologiczne, jako główną przyczynę zanieczyszczeń produktów mleczarskich w badanych zakładach [3, 8, 10] zauważono, że największe zanieczyszczenie powietrza w hali wystąpiło w trakcie operacji pakowania mleka pasteryzowanego (rys. 2).

Organizacja czynności związanych z pakowaniem produktów mleczarskich ma znaczący wpływ na stan mikrobiologiczny powietrza w hali produkcyjnej [5, 12]. Ogólna liczba drobnoustrojów w badanych próbkach powietrza w trakcie różnych operacji technologicznych wahała się w przedziale od 20 nawet do 1200 jtk w 1m<sup>3</sup> powietrza. Chociaż średnio nie przekraczała wartości 425 jtk/m<sup>3</sup> powietrza, to jednak była to wartość znacznie wyższa od standardów przyjętych w zakładowym systemie HACCP. Zanieczyszczenie powietrza w hali w przypadku aż 32% dni produkcyjnych ponad dwukrotnie przekroczyło limity krytyczne, założone przez mleczarnię. Wg badań, pakowanie stanowiło krytyczny punkt kontrolny w 18% zakładów spożywczych i w przypadku aż 90% badanych linii w mleczarniach [11].



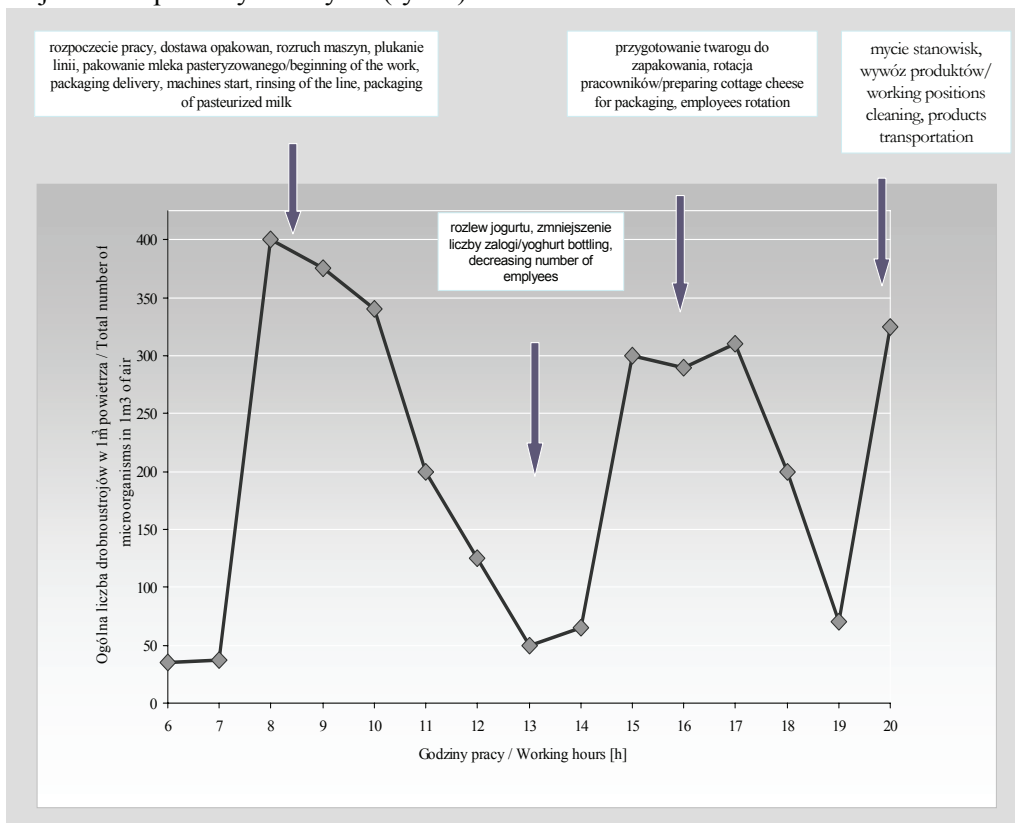
Rys. 2. Zanieczyszczenie powietrza w trakcie produkcji mleczarskiej.

Fig. 2. Air contamination while dairy production.

Porównując poziom zanieczyszczenia hali w trakcie produkcji różnego sortymentu stwierdzono, że największe występuje w przypadku pakowania mleka pasteryzowanego, co wynika z ilości mycia i ruchu pracowników w trakcie tego etapu produkcji wyrobu (rys. 2). Najniższe zapylenie odnotowano w trakcie pakowania jogurtów. Można to wytłumaczyć ograniczoną liczbą personelu i stopniem ich kontaktu, wydzielaniem obszaru pakowania (komora laminarna), oddaleniem maszyny pakującej od innych linii (rys. 1). Różne operacje charakteryzują się bowiem inną specyfiką [4]. Poziom zanieczyszczeń gwałtownie wzrasta przede wszystkim przy rotacji pracowników, w operacjach transportowych i w trakcie mycia linii (rys. 3).

Porównując poziom zanieczyszczenia hali w trakcie produkcji różnych sortymentów stwierdzono, że największe występuje w przypadku pakowania mleka pasteryzowanego, co wynika z częstotliwości mycia i ruchu pracowników w trakcie tego etapu produkcji (rys. 2). Najniższe zapylenie odnotowano w trakcie pakowania jogurtów.

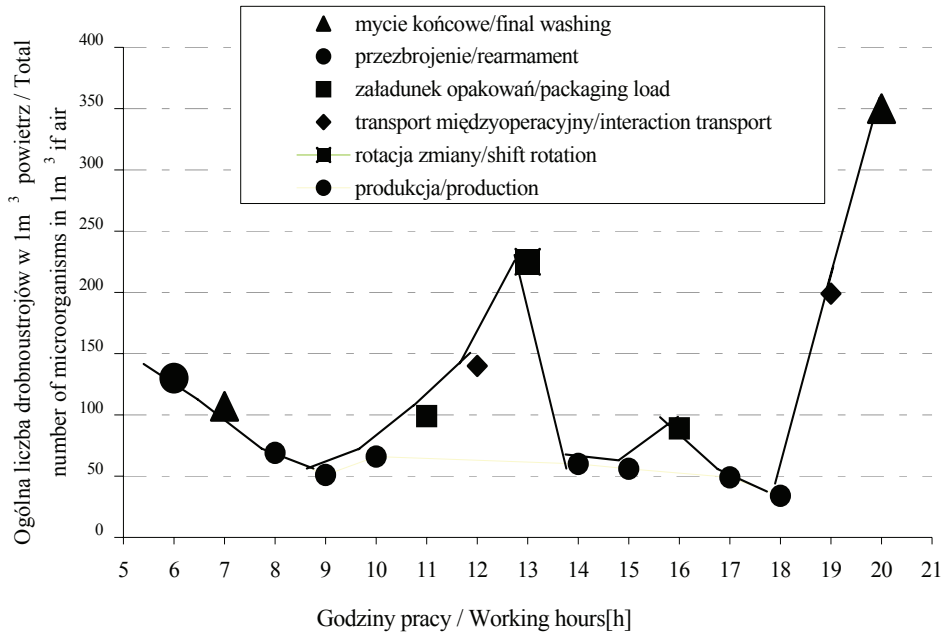
Można to wytłumaczyć ograniczoną liczbą personelu i stopniem ich kontaktu, wydzieleniem obszaru pakowania (komora laminarna), oddalenie maszyny pakującej od innych linii (rys. 1). Różne operacje charakteryzują się bowiem inną specyfiką. Poziom zanieczyszczeń drastycznie wzrasta przede wszystkim przy rotacji pracowników, operacjach transportowych i myciu (rys. 3).



Rys. 3. Zanieczyszczenie powietrza w zależności od czynności wykonywanych w hali.

Fig. 3. Air contamination depending on production process.

Rozgraniczenie kolejnych faz produkcji wyrobu gotowego na kolejne etapy ułatwia wyjaśnienie czynników wpływających na zmianę ogólnej liczby drobnoustrojów w powietrzu w miejscu produkcji (rys. 4). Jednocześnie okazuje się, że porównanie zanieczyszczenia hali produkcyjnej w chwili produkcji „ustabilizowanej” (ruch pracowników ograniczony do minimum, przygotowanie opakowań i materiałów pomocniczych przed produkcją, wywóz wyrobu gotowego po zakończonej produkcji, mycia podłogi i linii po zakończonym procesie pakowania) do produkcji „burzliwej” (rys. 5) pozwala stwierdzić, że wpływ organizacji procesów pomocniczych w trakcie pakowania na zanieczyszczenie mikrobiologiczne hali jest jednoznaczne i bezsprzeczne [9, 12].



Rys. 4. Zanieczyszczenie powietrza jako wynik operacji produkcyjnych.

Fig. 4. Air contamination as a result of production operations.



Produkcja: s - stabilna, ns - niestabilna mleka pasteryzowanego (zgodnie z analogicznym harmonogramem produkcji, ale inną organizacją pracy załogi) / Pasteurized milk production process: s - stable, ns - unstable (according to analogical production harmonogram, but with different work organization).

Rys. 5. Produkcja mleka w zależności od procesu produkcyjnego.

Fig. 5. Milk production depending on production process.

## Wnioski

1. Porównanie wielkości zanieczyszczenia powietrza w hali produkcyjnej w zależności od sposobu organizacji procesu pakowania wykazało, że stopień zanieczyszczenia hali produkcyjnej w trakcie pakowania zmienia się pod wpływem wielu czynników. Zależy on przede wszystkim od: charakterystyki systemu pakowania określonego produktu (stopień zautomatyzowania, zastosowanie filtracji powietrza, wydzielenie obszaru pakowania), ruchu personelu, higieny urządzeń pomocniczych, przeciągów w obrębie miejsca pakowania.
2. Średnio w 70% przyczyną zanieczyszczenia wyrobów mleczarskich były mikroorganizmy, z czego ponad 56% pochodziło od pracowników. Były one przenoszone przez powietrze. Operacje transportu, przygotowania produkcji, mycia i ruch załogi były powodem unoszenia się pyłów z powierzchni różnych elementów hali, stając się źródłem 28% zanieczyszczeń.
3. Zanieczyszczenie powietrza w hali kształtowało się różnie, w zależności od sposobu organizacji procesu pakowania. Czynności wykonywane w sposób przemysłowy i precyzyjny ograniczały zanieczyszczenie powietrza nawet do 20 jtk w 1 m<sup>3</sup>. Wzmoczona rotacja załogi i wielokrotne, nieskoordynowane prowadzenie procesu mycia, wywoływały burzliwy przepływ powietrza, przenosząc mikroorganizmy i bezpośrednio przekładając się na ilość zanieczyszczonych produktów. Ogólna liczba drobnoustrojów w 1 m<sup>3</sup> wzrastała przy pakowaniu analogicznego asortymentu nawet ponad 10-krotnie.

## Literatura

- [1] Cordier J. L.: Sampling and testing for pathogens essential in safe food manufacture, *New Food*, 2002, 2, 37-40.
- [2] Duszkiewicz-Reinhard W., Grzybowski R., Sobczak E.: Teoria i ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej i technicznej. Wyd. SGGW. Warszawa 1999, s.136.
- [3] Fraser E.: Environmental monitoring in the food industry. *New Food*, 2002, 5, 9-14.
- [4] Hamrol A., Mantura W.: Zarządzanie jakością - teoria i praktyka. Wyd. Nauk. PWN. Warszawa 1999.
- [5] Jakubczyk E.: Gospodarka powietrzem w mleczarniach. *Przem. Spoż.*, cz.1; 2003, 6, 56-59; cz. 2; 2003, 7, 64-68.
- [6] Kołożyn-Krajewska D., Sikora T.: HACCP. Koncepcja i system zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego żywności. Wyd. SITSpoż. Warszawa 1999.
- [7] Krzysztofik B.: Mikrobiologia powietrza. Wyd. Politechniki Warszawskiej. Warszawa 1992.
- [8] Lelieveld H.L.M., Mostert M.A., Holah J., White B.: Hygiene in food processing. Woodhead Publishing Limited. Cambridge 2003.
- [9] Lewicki P.P.: Technologia czystych pomieszczeń. *Przem. Spoż.*, 2001, 8, 60-64.
- [10] Olborska K., Lewicki P.P.: Wpływ warunków pakowania produktów mleczarskich na ich trwałość i jakość. *Mat. Konf. XXXVII Sesji Nauk. KNoŻ PAN nt. „Doskonalenie jakości żywności i żywienia w perspektywie potrzeb konsumenta XXI wieku”*. Gdynia 2006, s. 251.

- [11] Olborska K., Lewicki P.P.: Znaczenie procesu pakowania dla bezpieczeństwa żywności. *Przem. Spoż.*, 2005, **8**, 84-87, 103.
- [12] Olborska K., Lewicki P.P.: Zagrożenia w procesie pakowania produktów mleczarskich. *Mat. V Jubileuszowej Konf. Nauk. PTTŻ i SGGW z cyklu: Jakość i bezpieczeństwo żywności nt: „Jakość i bezpieczeństwo żywności - uwarunkowania surowcowe, technologiczno-produkcyjne i prawne”*. Warszawa – Białobrzegi, 2005, s. 44.

#### **ORGANIZATION OF DIARY PRODUCTS' PACKAGING PROCESS AND IT'S INFLUENCE FOR MICROBIOLOGICAL AIR CONTAMINATION IN PRODUCTION'S ROOMS**

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

The estimation of microbiological contamination of air in the dairy building was the aim of this survey, especially the influence of level of air contamination as a result of packaging process organization. The total counts of bacteria in the air of production rooms were marked by Koch's sedimentation method. The total number of bacteria of the most investigation points do not answered to microbial recommended level for air in factory's HACCP standards. Degree of air contamination depended on work activity and its organization. Increased employees movement and air flow, conducted by washing, transportation and draughts were the most often reason of air contamination increase in the production room.

**Key words:** microbiological air contamination, packaging process organization, dairy products ☒

ANTONI PLUTA, ANNA BERTHOLD, JAROSŁAW KIELAK

**ZMIANY WYBRANYCH CECH FIZYKOCHEMICZNYCH,  
REOLOGICZNYCH I SENSORYCZNYCH W CZASIE DOJRZEWANIA  
SERA TYPU HOLENDERSKIEGO O RÓŻNEJ ZAWARTOŚCI  
TŁUSZCZU**

Streszczenie

Celem badań było określenie zmian wybranych cech fizykochemicznych, reologicznych i sensorycznych zachodzących w czasie dojrzewania serów podpuszczkowych typu holenderskiego o obniżonej zawartości tłuszczu, w porównaniu z serami pełnotłustymi.

Materiał do badań stanowiły sery podpuszczkowe typu holenderskiego o obniżonej zawartości tłuszczu i pełnotłuste wyprodukowane w warunkach przemysłowych. Sery poddawano badaniom po 1, 2, 4, 6 i 8 tygodniach dojrzewania. W badanych serach oznaczono: zawartość wody, tłuszczu, substancji azotowych ogółem, azotu rozpuszczalnego, pH, aktywność wody oraz twardość i sprężystość. Sery po 8 tygodniach dojrzewania poddano także sensorycznej ocenie: smaku, zapachu, konsystencji i wyglądu. Stosowano skalę 5-punktową poszerzoną o noty połówkowe.

Zawartość wody w serach niskotłuszczowych, o zawartości tłuszczu ogółem około 15%, nie powinna przekraczać 48–49%, gdyż sery takie wykazywać mogą zbyt małą twardość w porównaniu z serami pełnotłustymi. Zmiany kwasowości czynnej serów niskotłuszczowych typu holenderskiego przebiegały podobnie, jak w serach pełnotłustych. Zawartość azotu rozpuszczalnego w czasie dojrzewania serów niskotłuszczowych i pełnotłustych były zbliżone, co świadczy o podobnym stopniu rozkładu białek, jednak ze względu na niższą ocenę sensoryczną serów o obniżonej zawartości tłuszczu (gorczyka) należy stosować odpowiednie zakwasy kultur mlekowych wykazujące się zdolnościami rozkładu gorzkich peptydów.

**Słowa kluczowe:** sery o obniżonej zawartości tłuszczu, dojrzewanie, cechy fizykochemiczne

## Wprowadzenie

Sery podpuszczkowe dojrzewające stanowią jeden z ważniejszych składników diety większości ludzi w strefie klimatu umiarkowanego i są jednym z najlepszych

źródeł wapnia w pożywieniu. W Polsce spożywa się około 4 kg sera podpuszczkowego i 6,5 kg serów twarogowych rocznie. Spożycie serów podpuszczkowych dojrzewających mogłoby być znacznie większe, gdyby nie zbyt duża zawartość tłuszczu, nieakceptowana przez niektórych konsumentów. Panująca obecnie tendencja do spożywania produktów niskokalorycznych i dietetycznych nie sprzyja popytowi na sery pełnotłuste. W celu zaspokojenia potrzeb konsumentów i otrzymania serów o obniżonej zawartości tłuszczu badano różne modyfikacje technologii produkcji pełnotłustych serów podpuszczkowych dojrzewających. Jednak sery o obniżonej zawartości tłuszczu często wykazują wady cech sensorycznych. Badania dotyczące zmian w technologii pełnotłustych serów w celu otrzymania ich niskotłuszczowych odpowiedników polegały najczęściej na dodatku proszku mlecznego, lecytyny do mleka serowarskiego czy też obniżeniu temperatury dogrzewania gęstwy serowej. Zastosowanie termicznie inaktywowanych zakwasów dotyczyło najczęściej niskotłuszczowych serów typu Mozzarella i Cheddar, które na rynku krajowym mają niewielkie znaczenie [6]. W literaturze z tego zakresu jest bardzo mało badań odnoszących się do serów o obniżonej zawartości tłuszczu typu holenderskiego, które stanowią zdecydowaną większość spożywanych serów podpuszczkowych w kraju [9].

Celem niniejszych badań było określenie zmian wybranych cech fizykochemicznych, reologicznych i sensorycznych zachodzących w czasie dojrzewania serów podpuszczkowych typu holenderskiego o obniżonej zawartości tłuszczu w porównaniu z serami pełnotłustymi.

### **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły sery podpuszczkowe typu holenderskiego o obniżonej zawartości tłuszczu (N) i pełnotłuste (P) wyprodukowane w warunkach przemysłowych według technologii sera „Gouda”. Modyfikacje technologii zastosowane w przypadku produkcji serów N polegały na obniżeniu zawartości tłuszczu w mleku serowarskim z około 2,8 do 1,5% i dodatku mleka w proszku do mleka serowarskiego w ilości 1,2%, zwiększeniu ilości odczerpywanej serwatki z 20 do 30%, zmniejszeniu temp. dogrzewania gęstwy serowej z 38 do 33°C oraz skróceniu czasu prasowania serów. Próbkę pobierano z 3 równoległych warów serów N i 3 równoległych warów serów P, a przedstawione wyniki są wartościami średnimi.

W próbkach serów pobranych po 1, 2, 4, 6 i 8 tygodniach dojrzewania oznaczano: zawartość wody metodą techniczną [7], tłuszczu metodą butyrometryczną [7], azotu ogółem metodą Kjeldahla [7], azotu rozpuszczalnego [7], pH [7], aktywność wody (Ro-tronic-Hygroskop DT zgodnie z instrukcją urządzenia). Dodatkowo oznaczano sprężystość i twardość przy użyciu aparatu Zwick 1120 zgodnie z instrukcją urządzenia. Próbkami do badań były walce sera o średnicy 20 mm i wysokości 30 mm. Próbkę poddawano ścisaniu pomiędzy dwiema równoległymi płytkami stosując głowicę po-



miarową o zakresie do 1 kN, prędkość przesuwu głowicy wynosiła 30 mm/min, a próbki ściskano 2-krotnie do 50% ich wysokości początkowej. Na podstawie tych pomiarów określano sprężystość badanych serów. Próbki do badań na penetrację poddawano działaniu głowicy z trzpieniem o średnicy 8 mm, trzpień zagłębiał się w próbce do głębokości 10 mm z prędkością przesuwu 50 mm/min. Tak oznaczona siła penetracji była wskaźnikiem twardości serów. Po 8 tygodniach dojrzewania próbki serów poddawano ocenie sensorycznej, przez co najmniej 5 osób, obejmującej wyróżniki: smak, zapach, konsystencja i wygląd, którym przyporządkowano współczynniki ważkości, odpowiednio 0,3; 0,2; 0,3; 0,2. Stosowano skalę 5-punktową poszerzoną o noty połówkowe.

### **Wyniki i dyskusja**

Otrzymane wyniki przedstawiono w tab. 1.

Zawartość wody w serach P po 7 dniach dojrzewania wynosiła 41,3%, a po 56 dniach dojrzewania uległa zmniejszeniu do 40,2%. Sery N po 7 dniach dojrzewania wykazywały zawartość wody - 48,1%, a po 8 tygodniach dojrzewania - 47,2%. Niewielkie zmiany zawartości wody w serach można wytłumaczyć faktem, że dojrzewały one zamknięte w opakowaniach foliowych, które silnie ograniczały ususzkę. Nieznaczne zmniejszenie zawartości wody o ok. 1% można wytłumaczyć niewielką przepuszczalnością folii lub zużyciem wody w przemianach biochemicznych białek i tłuszczów.

W kolejnych tygodniach dojrzewania notowano zmniejszanie zawartości tłuszczu w serach N z początkowej zawartości 15% do 14,8% po 14 dniach dojrzewania oraz do 13,8% pod koniec okresu dojrzewania. Podobną tendencję zaobserwowano w serach P. Zmniejszenie zawartości tłuszczu w przeliczeniu na suchą substancję szczególnie po 6 i 8 tygodniach mógł być spowodowany częściową lipolizą tłuszczu mlecznego. W butyrometrycznej metodzie oznaczenia zawartości tłuszczu krótko- i średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe mogły pozostawać w fazie wodnej i powodować „pozorne” obniżenie zawartości tłuszczu.

W produkcji serów niskotłuszczowych, których najczęstszą wadą jest zbyt duża twardość, wzrost zawartości wody pozwala na zachowanie ich miękkiej konsystencji podobnej do serów pełnotłustych. Zawartość wody w serach niskotłuszczowych, o zawartości tłuszczu około 15%, nie powinna jednak przekraczać 48–49%, gdyż sery takie wykazywać mogą z kolei zbyt małą twardość. W serach o obniżonej zawartości tłuszczu, zawartość wody zmieniała się w zakresie od 46,2% do 49,1%. Twardość tych serów była średnio o około 3 N mniejsza w porównaniu z ich pełnotłustymi odpowiednikami. Podwyższanie zawartości wody w serach o obniżonej zawartości tłuszczu ponad ten zakres mogłoby spowodować jeszcze większą miękkość tych serów. Zastąpienie tłuszczu wodą przy relatywnie niskim wzroście zawartości białka może także po-

prawiąc opłacalność produkcji. Średnia zawartość wody w serach N była większa o 7%, a średnia zawartość białka tylko o 3,2% w porównaniu z serami P, przy zmniejszeniu zawartości tłuszczu w serach N o około 11% w odniesieniu do ich pełnotłustych odpowiedników.

Tabela 1

Wyniki oznaczeń fizykochemicznych i oceny sensorycznej serów: o obniżonej zawartości tłuszczu i pełnotłustych w czasie dojrzewania.

The results of the examination of physical and chemical features and the sensorial evaluation of reduced fat and full fat cheeses during the ripening.

Cecha Parameter	Ser Cheese	Czas dojrzewania [dni] Ripening time [days]					
		7	14	21	28	42	56
Zawartość wody [%] Water content [%]	N	48,1	49,1	48,2	48,0	46,2	47,2
	P	41,3	40,2	40,3	40,1	39,5	40,2
Zawartość tłuszczu [%] Fat content [%]	N	15,0	14,8	14,7	14,5	14,0	13,8
	P	27,3	27,3	27,1	26,8	26,2	25,7
Zawartość tłuszczu w suchej masie [%] Fat content in dry matter [%]	N	28,9	29,0	28,4	27,9	26,0	26,1
	P	46,5	45,7	45,4	44,7	43,3	43,0
Zawartość substancji azoto- wych ogółem x 6,38 [%] Total nitrogen x 6,38 content [%]	N	30,2	30,2	30,2	30,4	30,2	30,2
	P	27,0	27,0	27,0	27,0	27,0	27,0
Zawartość azotu rozpuszczalnego, jako N rozp./N ogółem [%] Soluble N content as N soluble/N total [%]	N	5,14	8,40	10,83	15,10	19,11	21,56
	P	4,16	6,75	10,05	14,28	17,90	21,12
pH	N	5,26	5,36	5,37	5,44	5,47	5,44
	P	5,33	5,36	5,42	5,42	5,41	5,45
Twardość [N] Hardness [N]	N	44,59	38,25	38,98	36,81	36,25	35,92
	P	47,11	44,65	40,29	40,82	40,09	38,88
Sprężystość Springiness	N	0,810	0,800	0,790	0,793	0,790	0,787
	P	0,767	0,760	0,765	0,765	0,760	0,753
Aktywność wody Water activity	N	0,974	0,974	0,967	0,965	0,964	0,963
	P	0,988	0,980	0,976	0,972	0,965	0,958
Ocena sensoryczna [pkt] Sensory evaluation [scores]	N	-	-	-	-	-	3,3
	P	-	-	-	-	-	4,2

Po 7 dniach dojrzewania sery N wykazywały pH równe 5,26, natomiast sery P – pH = 5,33. W miarę postępowania procesu dojrzewania pH wzrastało w obu rodzajach

badanych serów do wartości 5,44 (ser N) i 5,42 (ser P) w 28. dniu dojrzewania. W serach N pH nie uległo już zmianom natomiast w serach P odnotowano jeszcze pewien niewielki jego wzrost do wartości pH = 5,45 w 56. dniu dojrzewania. Otrzymane wyniki są zbieżne z wynikami, jakie uzyskali Anderson i wsp. [1] oraz Ardö [2].

Pomijając niewielkie wahania można stwierdzić, że zawartość azotu ogółem pozostawała na tym samym poziomie w czasie dojrzewania w obu rodzajach badanych serów. W serach N zaobserwowano stopniowy wzrost zawartości azotu rozpuszczalnego z początkowej ilości 5,14% w 7. dniu dojrzewania do 21,56% po 8 tygodniach dojrzewania. Sery P, pomimo niższej początkowej zawartości azotu rozpuszczalnego ogółem – 4,16%, co wynikało z dużego udziału tłuszczu w masie sera, pod koniec składowania zawierały podobną zawartość azotu rozpuszczalnego, co sery N (21,12%). Lane i Fox [5] badając przebieg proteolizy w serze typu Cheddar stwierdzili wzrost udziału azotu rozpuszczalnego z 5%, bezpośrednio po wytworzeniu, do 16,5% po 25 tygodniach dojrzewania.

Twardość zmierzona po 7 dniach dojrzewania w serach N wynosiła 44,59 N i była o 2,52 N niższa niż serów P. Przez cały okres dojrzewania sery N były twardsze niż ich pełnotłuste odpowiedniki. Po 56 dniach dojrzewania twardość serów N wynosiła około 36 N, a serów P – około 39 N. Po 7 dniach dojrzewania sery N były wyraźnie bardziej sprężyste (współczynnik sprężystości 0,810) niż sery P (0,767). Natomiast po 56 dniach dojrzewania różnica w sprężystości uległa zmniejszeniu (sery N - 0,750, a sery P - 0,753). Zmiany tekstury były odwrotnie proporcjonalne do zawartości azotu rozpuszczalnego w serach.

Aktywność wody w badanych serach N do 14. dnia dojrzewania wynosiła 0,974. Od 3. tygodnia dojrzewania aktywność wody stopniowo malała aż do wartości 0,963 w ostatnim dniu dojrzewania. W serach P początkowa aktywność wody była wyższa niż w serach N i wynosiła po 7 dniach dojrzewania 0,988, ale w czasie kolejnych tygodni dojrzewania zaobserwowano gwałtowne zmniejszenie tej wielkości do 0,958 w 56. dniu dojrzewania. Zmniejszenie aktywności wody w trakcie dojrzewania serów stwierdzili także Cuesta i wsp. [3], Todorova i Kozev [10] oraz Schlessler i wsp. [8].

Analizując cechy sensoryczne badanych serów, wykazano, że wyższe oceny otrzymały sery P. Końcowy wynik oceny sensorycznej serów N wynosił 3,3 pkt, a serów P 4,2 pkt. Sery N w ocenie sensorycznej uzyskiwały niższe noty głównie za smak, czego przyczyną były najprawdopodobniej zbyt daleko posunięte procesy rozkładu białek po 8 tygodniach dojrzewania i tworzenie się gorzkich peptydów. Z tego względu sery N przy stosunkowo dużej zawartości wody (47 - 48%) powinny dojrzewać krócej, aby nie wystąpiło pogorszenie ich cech w ostatnich tygodniach dojrzewania. Badania niniejsze potwierdzają wyniki, jakie uzyskali Drake i wsp. [4].

## Wnioski

1. Zawartość wody w serach o zawartości tłuszczu ogółem około 15% nie powinna przekraczać 48–49%, gdyż sery takie wykazywać mogą zbyt małą twardość w porównaniu z serami pełnotłustymi.
2. Zmiany kwasowości czynnej serów o obniżonej zawartości tłuszczu przebiegały podobnie, jak w przypadku ich pełnotłustych odpowiedników.
3. Zawartość azotu rozpuszczalnego w czasie dojrzewania serów o obniżonej zawartości tłuszczu i serów pełnotłustych były zbliżone, co świadczy o podobnym stopniu rozkładu białek, jednak ze względu na niższą ocenę sensoryczną serów o obniżonej zawartości tłuszczu (goryczka) należy stosować odpowiednie zakwasy kultur mlekowych, wykazujące się zdolnościami rozkładu gorzkich peptydów.

## Literatura

- [1] Anderson, D.L., Mistry, V.V., Brandsma, R.L., Baldwin, K.A.: Reduced fat cheddar cheese from condensed milk. I. Manufacture, composition and ripening. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 2832-2844.
- [2] Ardö, Y.: Characterizing ripening in low – fat, semi – hard round – eyed cheese made with undefined mesophilic DL – starter. *Int. Dairy J.*, 1993, **3**, 343-357.
- [3] Cuesta, P., Fernández-García, E., González de Llano, D., Montilla, A., Rodríguez, A.: Evolution of the microbiological and biochemical characteristics of Afuega'l Pitu cheese during ripening. *J. Dairy Sci.*, 1996, **79**, 1693-1698.
- [4] Drake, M.A., Herrett, W., Boylston, T.D., Swanson, B.G.: Sensory evaluation of reduced fat cheeses. *J. Food Sci.*, 1995, **60** (5), 898-901.
- [5] Lane, C.N., Fox, P.F.: Contribution of starter and adjunct Lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese during ripening. *Int. Dairy J.*, 1996, **6**, 715-728.
- [6] Mistry, V.V.: Low fat cheese technology. *Int. Dairy J.*, 2001, **11**, 413-422.
- [7] PN-73/A-86232. Mleko i przetwory mleczarskie – sery. Metody badań.
- [8] Schlessler, J.E., Schmidt, S.J., Speckman, R.: Characterization of chemical and physical changes in camembert cheese during ripening. *J. Dairy Sci.*, 1992, **75** (7), 1753-1759.
- [9] Skeie S., Narvhus J., Ardö Y., Abrahamsen R.K.: Influence of liposome– encapsulated Neutrase and heat – treated lactobacilli on quality of low - fat Gouda – type cheese. *J. Dairy Res.*, 1995, **62**, 131-139.
- [10] Todorova, D., Kozhev, A.: Kashkaval durability predicted by water activity. *Bulgarian J. Agric. Sci.*, 1995, **1**, 465-468.

### CHANGES OF THE CHOSEN PHYSICAL, CHEMICAL, RHEOLOGICAL AND SENSORIAL FEATURES OF DUTCH TYPE CHEESES OF DIFFERENT FAT CONTENT DURING RIPENING

#### Summary

The aim of this research was to determine and compare the changes of the chosen physical, chemical, rheological and sensorial features during the ripening of Dutch type reduced fat and full fat cheeses. The

research was conducted on commercially produced cheeses. They were examined after first, second, fourth, sixth and eighth week of ripening.

The cheeses samples were analyzed for: the water content, fat content, total nitrogen content, soluble nitrogen, pH, water activity, hardness and elasticity. The sensorial evaluation of the cheeses was done by a 5-member team after the eighth week of the ripening period. The following properties were assessed: the flavour (significance factor 0,3), the fragrance (0,2), consistency (0,3) and appearance (0,2). A 5-point scale extended by half-point ranges was applied.

The water content in reduced fat cheeses, containing approx. 15% fat, should not exceed 48-49%, since these cheeses may exhibit too little hardness when compared with full fat cheeses. The changes of pH of Dutch type reduced fat cheeses were similar to the ones observed in the full fat cheeses. The content of soluble nitrogen during the ripening period of reduced fat and full fat cheeses was similar, which is a sign of a similar degree of protein degradation. However, because of the lower results in the organoleptic evaluation of the reduced fat cheeses (slight bitterness), milk starters that have the ability to decompose the bitter peptides should be applied.

**Key words:** reduced fat cheeses, ripening, physical and chemical features ☒

KATARZYNA RATUSZ, MAGDALENA WIRKOWSKA

## SKUTECZNOŚĆ DZIAŁANIA PREPARATU PRZECIWIUTLENIAJĄCEGO NA RAFINOWANE OLEJE ROŚLINNE I ICH MATRYCE TRIACYLOGLICEROLOWE

### Streszczenie

Oleje roślinne, szczególnie zasobne w kwasy nienasycone, bardzo łatwo podlegają procesom oksydacyjnym. Jedną z metod ich ochrony jest dodatek przeciwutleniaczy.

Celem pracy było podwyższenie stabilności oksydacyjnej olejów: rzepakowego, sojowego i słonecznikowego oraz ich matryc triacyloglicerolowych poprzez zastosowanie preparatu przeciwutleniającego (mieszanki alfa tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej) w dawkach 0,02; 0,04; 0,06; 0,10 i 0,15%. Czas indukcji oceniano w aparacie Rancimat w temp. 120°C. Stwierdzono, że preparat przeciwutleniający wykazał najwyższą aktywność ochronną w przypadku oleju słonecznikowego (w dawce 0,15% wydłużył okres indukcji o 120%). Matryce TAG wszystkich olejów były bardzo dobrze chronione przez zastosowany preparat. Przy dawce 0,15% okresy indukcji TAG oleju rzepakowego, sojowego i słonecznikowego zostały wydłużone o, odpowiednio, 635, 602 i 978%.

**Słowa kluczowe:** autooksydacja, rafinowane oleje roślinne, matryce triacyloglicerolowe, przeciwutleniacze, test Rancimat

### Wprowadzenie

Tłuszcze, będące najbardziej skoncentrowanym źródłem energii w naszym pożywieniu, w czasie przechowywania ulegają niepożądanym zmianom, których główną przyczyną są przemiany lipidów spowodowane utlenianiem [3, 6]. Na kinetykę tych procesów mają wpływ warunki w jakich reakcja przebiega (dostęp tlenu, światła, temperatura, zanieczyszczenia metalami), obecność substancji o charakterze pro- i antyoksydantów, budowa triacylogliceroli (liczba i położenie wiązań podwójnych) [5, 20, 21]. Do olejów bardzo reaktywnych, podlegających łatwo procesom autooksydacji, należą oleje zawierające polienowe kwasy tłuszczowe [10]. Kwasy te pełnią ważną prodro-

---

*Dr inż. K. Ratusz, Katedra Technologii Żywności, mgr inż. M. Wirkowska, Katedra Chemii, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

wotną rolę w organizmie człowieka. Jednak istotnym ograniczeniem w ich wykorzystaniu jest właśnie zbyt niska stabilność oksydacyjna [4, 22]. Również wartość żywieniowa tłuszczów częściowo utlenionych jest dużo mniejsza. Dlatego też tak istotną sprawą jest podwyższenie stabilności oksydacyjnej olejów. W celu ograniczenia nadmiernego utleniania tłuszczów, obok regulacji parametrów fizycznych, można stosować dodatek przeciwutleniaczy naturalnych i syntetycznych [1, 20, 23], a także kombinację obu tych grup [2]. Jednak dobór odpowiedniego przeciwutleniacza i określenie optymalnego stężenia jest trudnym problemem, rozwiązywanym najczęściej doświadczalnie w przypadku każdego rodzaju tłuszczu, z uwzględnieniem warunków, w jakich będzie on stosowany [21]. Należy tu uwzględnić także dwoistość natury przeciwutleniaczy, które w pewnych warunkach (m.in. po przekroczeniu stężenia optymalnego lub w zależności od stopnia nienasylenia kwasów tłuszczowych oleju, do którego są wprowadzane) wykazują działanie prooksydacyjne [21, 22]. Jest to szczególnie ważne w odniesieniu do olejów roślinnych również z tego powodu, że zawartość przeciwutleniaczy w oleju z surowca tłuszczowego tego samego gatunku, tej samej odmiany botanicznej, otrzymanego z upraw o zbliżonych warunkach agrotechnicznych, może być zróżnicowana [21]. Należy też uwzględnić fakt, że podczas procesów rafinacyjnych, jakim poddawane są oleje, zawartość poszczególnych przeciwutleniaczy maleje [11]. Jednak ubytek ten nigdy nie jest taki sam. Oleje po procesie rafinacji są nadal bogate w związki natywne o działaniu przeciwutleniającym (np. tokoferole, fitosterole, karotenoidy pewne węglowodory – np. skwalen) [9]. Dodatek przeciwutleniacza może więc spowodować przekroczenie stężenia optymalnego, a tym samym skutek odwrotny od zakładanego. Dlatego dobór i dozowanie przeciwutleniaczy do olejów rafinowanych musi być prowadzone z wielką ostrożnością.

Celem niniejszej pracy było podwyższenie stabilności oksydacyjnej olejów rafinowanych powszechnie stosowanych w przemyśle spożywczym: rzepakowego, sojowego i słonecznikowego poprzez dodatek preparatu przeciwutleniającego.

### **Material i metody badań**

Jako materiał badawczy zastosowano oleje rafinowane: rzepakowy, sojowy i słonecznikowy pobrane bezpośrednio z linii produkcyjnej ZPT w Warszawie. Sprawdzono ich parametry fizykochemiczne i sensoryczne, porównano z wymaganiami norm przedmiotowych [12] i uznano za przydatne do dalszych badań.

Na materiale doświadczalnym przeprowadzono następujące oznaczenia: LK [13], LOO [10, 19], LJ [15], zawartość żelaza i miedzi oraz skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej [16, 17]. Zastosowano aparat firmy Shimadzu GC 17A wyposażony w kolumnę kapilarną wypełnioną fazą stacjonarną BPX 70 o dł. 30 m, Ø wewnętrznej 0,22 mm i grubości filmu 0,25 µm. Jako gaz nośny stosowano azot. Warunki rozdziału estrów metylowych kwasów tłuszczowych: temp. początkowa 60°C

przez 1 min; przyrost temp. od 60 do 170°C w tempie 10°C/min; przyrost temp. od 170 do 230°C w tempie 3°C/min; temp. końcowa 230°C przez 15 min; temp. injektora 225°C, temp. detektora 250°C, całkowity czas analizy 47 min. Ponadto oznaczono stabilność oksydacyjną w aparacie Rancimat w temp. 120°C [18] i zawartość tokoferoli [7]. Przedstawione wyniki stanowią średnią z co najmniej trzech powtórzeń.

Matrycę triacyloglicerolową otrzymano przy użyciu chromatografii kolumnowej wg Fuster i wsp. [5] przepuszczając olej rozpuszczony w heksanie (1:1 v/v) przez kolumnę szklaną (wys. 40 cm, Ø 2,5 cm) wypełnioną tlenkiem glinu (250 g, neutralny, stopień aktywności 1). Do wymywania stosowano heksan w ilości 200 ml. Heksan usuwano w wyparce rotacyjnej przy obniżonym ciśnieniu, w atmosferze azotu.

W badaniach użyto handlowego preparatu przeciwutleniającego (firmy Roche), składającego się z mieszaniny alfa tokoferolu E 307 (5%), palmitynianu askorbylu E 304 (25%) i lecytyny sojowej E 322 (70%). Próbkę przygotowano przez dodanie do oleju roztworów przeciwutleniacza w heksanie po czym rozpuszczalnik usuwano przez przedmuchiwanie azotem. Koncentracja preparatu w próbach wynosiła: 0,02; 0,04; 0,06; 0,10; 0,15%.

Zmiany oksydacyjne olejów określano za pomocą testu przyspieszonego utleniania metodą Rancimat [18]. Badane oleje przedmuchiwano oczyszczonym powietrzem (20 l/h) w temp. 120°C i określano czas [h] indukcji olejów.

## Wyniki i dyskusja

Dane dotyczące cech fizykochemicznych badanych olejów oraz ich matryc triacyloglicerolowych zamieszczono w tab. 1.

Podsumowując charakterystykę olejów rafinowanych i ich matryc stwierdzono, że materiał był dobrej jakości i mógł być zastosowany do dalszych badań. Matryce zostały prawie całkowicie pozbawione składników pro- i antyoksydacyjnych. Podatność olejów na utlenianie w dużym stopniu zależy od składu kwasów tłuszczowych. Jednocześnie skuteczność działania przeciwutleniaczy może być bardzo zróżnicowana, na przykład w zależności od stopnia nienasyceń kwasów tłuszczowych oleju, do którego są wprowadzane [21]. Dlatego też określono skład kwasów tłuszczowych badanych olejów, a wyniki oznaczeń przedstawiono w tab. 2.

Porównując uzyskane wyniki z danymi literaturowymi [8] stwierdzono dużą zgodność wartości. Pewne różnice mogą wynikać z różnic w samym materiale pobranym do analiz (np. odmianowych).



Tabela 1

Charakterystyka chemiczna badanych olejów rafinowanych i ich matryc triacyloglicerolowych.  
Chemical characteristics of fully refined oils and their triacylglycerols matrixes.

Parametry jakościowe Quality parameters	Oleje / Oils					
	rzepak / rapeseed		soja / soybean		słonecznik/sunflower	
	olej / oil	matryca TAG	olej / oil	matryca TAG	olej / oil	matryca TAG
Liczba kwasowa / Acid value [mg KOH/g oleju]	0,11± 0,01	0,13± 0,01	0,15± 0,02	0,15± 0,01	0,12± 0,01	0,15± 0,02
Liczba nadtlenkowa / Peroxide value [mmole O <sup>2-</sup> <sub>2</sub> /kg oleju]	0,21± 0,01	0,32± 0,02	0,16± 0,01	0,17± 0,01	0,29± 0,03	0,34± 0,03
Liczba jodowa / Iodine value [mg J <sub>2</sub> /100g]	118 ± 7		132 ± 6		136 ± 5	
Zawartość [mg/kg] / Content						
Fe	<0,1	<0,1	0,38±0,02	0,18±0,01	1,70±0,03	0,1±0,00
Cu	<0,01	<0,001	<0,01	<0,001	<0,01	<0,001
Zaw. tokoferoli / Tocopherols [mg/100g]						
δ	1,5±0,1	0,0	16,2±0,1	0,0	0,9±0,1	0,0
β + γ	25,6±0,2	2,0±0,1	38,0±0,3	0,0	2,2±0,1	0,0
α	17,1±0,1	0,0	8,6±0,1	0,0	32,4±0,1	1,1±0,1

Wyniki są średnią z 3 prób / Average results for 3 samples; (±) – odchylenie standardowe / standard deviation.

W kolejnej fazie badań określono skuteczność działania preparatu przeciwutleniającego w stosunku do olejów i ich matryc triacyloglicerolowych. Stwierdzono, że już dodatek 0,02% preparatu spowodował wydłużenie czasu indukcji. Największą zmianę odnotowano w oleju słonecznikowym - o 31%, a w oleju rzepakowym o 22%. W przypadku oleju sojowego wzrost stabilności był dużo mniejszy i wyniósł 0,07 h tj. 1,6%. Kolejne zwiększenie dawki preparatu do 0,04 i 0,06% nie spowodowało już tak dużych zmian, chociaż były one nadal istotne (rys. 1). Wzrost stężenia do 0,10% spowodował istotne wydłużenie czasu indukcji wszystkich trzech olejów. Stabilność olejów rzepakowego i słonecznikowego zwiększyła się do około 180%, a oleju sojowego do 140%. Zastosowanie maksymalnej analizowanej dawki preparatu przeciwutleniającego spowodowało największy wzrost stabilności olejów (rys. 1, tab. 3). To zróżnicowane działanie przeciwutleniacza na poszczególne oleje można tłumaczyć zmiennością składu kwasów tłuszczowych, zwłaszcza stopniem nienasylenia. Na podstawie uzyskanych wyników można dodać także prawdopodobieństwo wzajemnych oddziaływań pomiędzy związkami frakcji nieglicerydowej a dodanymi przeciwutleniaczami [9, 10, 21].

Tabela 2

Zawartość kwasów tłuszczowych w olejach.  
Fatty acid content in oils.

Kwas tłuszczowy Fatty acid	Zawartość w oleju / content in oil [%]		
	rzepak / rapeseed	soja / soybean	słonecznik / sunflower
14:0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
16:0	4,8 ± 0,1	9,3 ± 0,1	6,8 ± 0,1
16:1	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
17:0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	-
17:1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	-
18:0	3,7 ± 0,1	3,6 ± 0,1	3,2 ± 0,1
18:1 cis9	54,6 ± 0,3	26,8 ± 0,2	30,6 ± 0,2
18:1 cis11	3,4 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,0 ± 0,1
18:2 trans	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1
18:2 cc	19,0 ± 0,1	45,1 ± 0,1	55,0 ± 0,3
18:3 trans	0,4 ± 0,1	0,7 ± 0,3	0,1 ± 0,1
18:3 ccc	8,5 ± 0,1	8,5 ± 0,1	1,2 ± 0,1
20:0	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1
20:1	2,0 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,1
20:2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	-
22:0	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1
22:1	1,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,1 ± 0,1
24:0	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1
24:1	0,2 ± 0,1	-	-

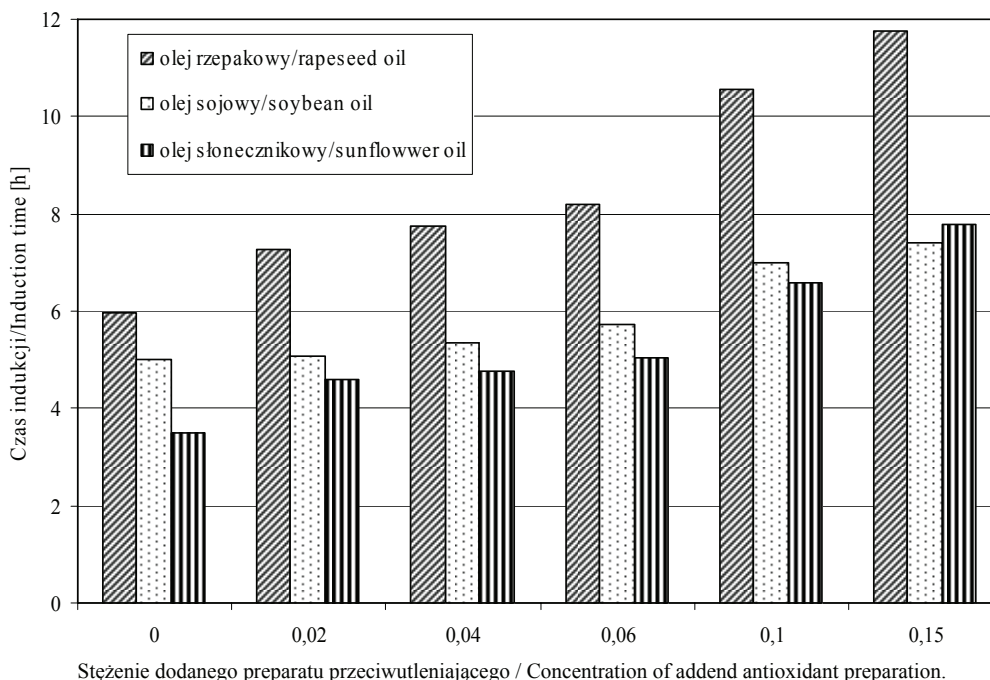
Wyniki są średnią z 3 prób / Average results for 3 samples; (±) – odchylenie standardowe / standard deviation.

Tabela 3

Procentowa zmiana czasu indukcji olejów i ich matryc triacyloglicerolowych.  
Percentage changes of induction times of oils and their triacyloglycerols matrixes.

Dawka przeciwutl Antioxidant dose [%]	Zmiana czasu indukcji [%] Changes of induction times [%]					
	rzepak / rapeseed		soja / soybean		słonecznik / sunflower	
	olej / oil	matryca TAG	olej / oil	matryca TAG	olej / oil	matryca TAG
0,00	100	100	100	100	100	100
0,02	122±2	116±2	102±2	138±2	131±2	235±2
0,04	131±2	206±6	107±2	218±2	136±2	370±2
0,06	138±2	305±6	115±2	304±3	144±2	496±5
0,10	178±3	493±8	140±2	488±5	187±2	770±7
0,15	198±3	635±11	148±3	602±5	222±2	978±14

Wyniki są średnią z 3 prób / Average results for 3 samples; (±) – odchylenie standardowe / standard deviation

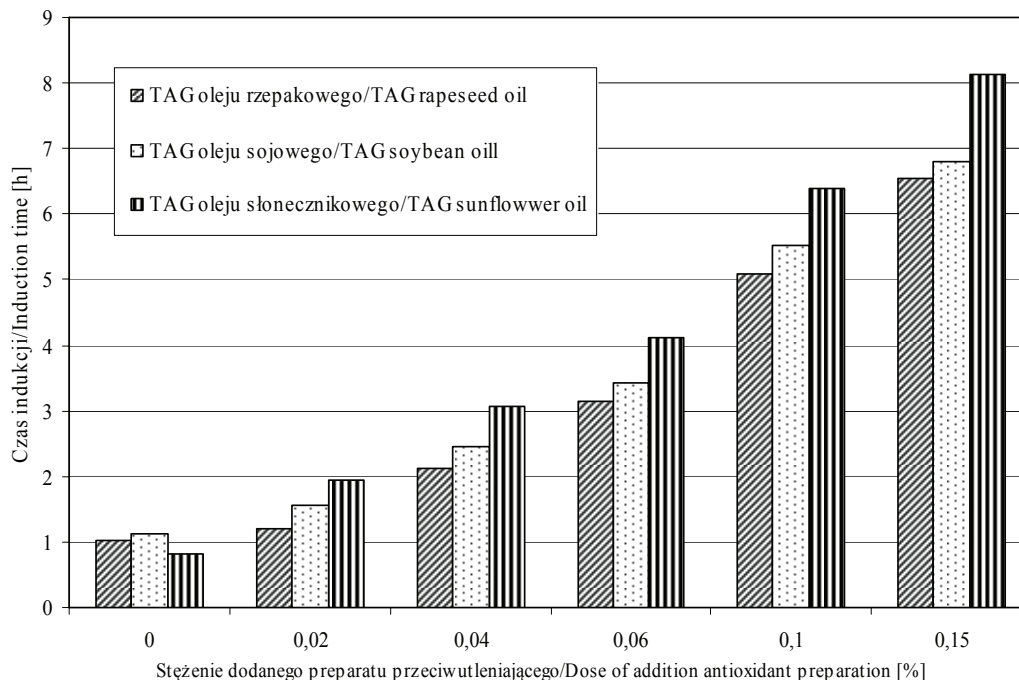


Rys. 1. Czas indukcji olejów z dodatkiem przeciwutleniacza.

Fig. 1. Induction time of oils with antioxidant.

Analogiczne badania wykonano w przypadku matryc triacyloglicerolowych. Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 2.

Analizując dane zawarte w tab. 3. i na rys. 2. stwierdzono bardzo silne działanie ochronne preparatu przeciwutleniającego na wszystkie badane matryce. W dawce 0,02%, w największym stopniu zwiększył stabilność matrycy oleju słonecznikowego (o 135%). W tym stężeniu preparat najslabiej działał na matrycę oleju rzepakowego, ale już w wyższych dawkach jego działanie na matryce oleju rzepakowego i sojowego było podobne (tab. 3). Stwierdzono dużo większy wpływ przeciwutleniacza na matryce triacyloglicerolowe niż na macierzyste oleje rafinowane. Prawdopodobnie podczas izolacji w kolumnie chromatograficznej zaadsorbowane zostały, prócz oznaczonych w pracy metali i tokoferoli jako przedstawicieli odpowiednio pro- i antyoksydantów nasyconych rodzimych olejów, także tokotrienole, karotenoidy, sterole i ich formy utlenione (które mogły powstać w procesie odwaniania), skwalen i jego pochodne. Jak wskazują wyniki pracy związki te mogły mieć istotny wpływ na szybkość oksydacji tłuszczów. Wydaje się, że dalsza analiza tych związków, ich wzajemne oddziaływanie i zachowanie się w środowisku mogą być przedmiotem dalszych badań, a ich wyniki mogą przyczynić się do zwiększenia stabilności olejów rafinowanych, np. przez modyfikację procesu rafinacji.



Rys. 2. Czas indukcji matryc olejów z dodatkiem przeciwutleniacza.

Fig. 2. Induction time of triacylglycerols matrixes with antioxidant.

Porównując wpływ badanego przeciwutleniacza na oleje rafinowane i ich matryce triacyloglicerolowe (tab. 3) stwierdzono największy wpływ przeciwutleniacza zarówno na olej, jak i matrycę oleju słonecznikowego. W dawce 0,15% wydłużył on czas indukcji oleju ponad 2-, a jego matrycy prawie 10-krotnie. W podobnym stopniu zwiększał stabilność oleju słonecznikowego i rzepakowego, a w przypadku matryc triacyloglicerolowych – matrycy rzepakowej i sojowej (tab. 3).

### Wnioski

1. Badany preparat przeciwutleniający (mieszanka alfa tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej) zwiększa stabilność wszystkich badanych olejów rafinowanych: rzepakowego, sojowego i słonecznikowego
2. Wśród badanych olejów najwyższą ochronę przeciwutleniającą preparat wykazał w stosunku do oleju słonecznikowego. W maksymalnej analizowanej dawce (0,15%) przedłużył czas indukcji utleniania oleju słonecznikowego o ponad 120%.
3. Wydłużenie okresu indukcji matryc triacyloglicerolowych było wielokrotnie większe niż macierzystych olejów. W maksymalnej dawce preparat przeciwutleniający

przedłużył czas indukcji matrycy oleju rzepakowego i sojowego 6-, a matrycy oleju słonecznikowego prawie 10-krotnie.

### Literatura


- [1] Bandarra N., Campos R., Batista L., Nunes M., Empis J.: Antioxidant synergy of  $\alpha$ -tocopherol and phospholipids from rosemary and sage. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1999, **76**, 905-913.
- [2] Coppen P.P.: The use of antioxidants. In: Rancidity in foods. Ed. by J.C. Allen and R. J. Hamilton. Elsevier Applied Science. London, pp. 83-104.
- [3] Drozdowski B.: Lipidy. W: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności (red. Z. Sikorski). WNT. Warszawa 1994, s. 167-233.
- [4] Eldin A.K., Yanishlieva N.V.: N-3 fatty acid for human nutrition: stability considerations. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2002, **104**, 625-636.
- [5] Fuster M.D., Lampi A.M., Hopia A., Kamal-Eldin A.: Effects of  $\alpha$ - and  $\gamma$ - tocopherols on the autoxidation of purified sunflower triacylglycerols. *Lipids*, 1998, **33**, 7, 715-722.
- [6] Głód B.K., Kowalski C.: Wolne rodniki i stres oksydacyjny. Postępy w technologii tłuszczów roślinnych. XIII Międzyn. Konf. Nauk. Szczyrk 2005, s. 1-10.
- [7] ISO 9936:1997. Animal and vegetable fats and oils. Determination of tocopherols and tocotrienols contents. Method using high-performance liquid chromatography.
- [8] Kowalski B.: Evaluation of activities of antioxidants in rapeseed oil matrix by pressure differential scanning calorimetry. *Thermochim. Acta*, 1993, **213**, 135-146.
- [9] Małecka M.: Składniki frakcji nieglicerydowej olejów roślinnych jako przeciwutleniacze. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30**, 123-130.
- [10] Mińkowski K., Jerzewska M., Ropelewska M.: Skuteczność działania przeciwutleniaczy w olejach roślinnych i matrycach triacyloglicerolowych bogatych w kwas alfa i gamma linolenowy. *Tłuszcze Jadalne*, 2004, **39**, 224-235.
- [11] Płatek T., Węgrowski J., Krygier K.: Wpływ procesów rafinacyjnych na stabilność oleju rzepakowego. Cz. IV. Proces odwaniania. *Tłuszcze Jadalne*, 1998, **33**, 100-113.
- [12] PN-A-86908:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Rafinowane oleje roślinne.
- [13] PN-ISO 660:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości.
- [14] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby nadtlenkowej.
- [15] PN-ISO 3961:1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby jodowej.
- [16] PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [17] PN-EN ISO 5509:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [18] PN-ISO 6886:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie stabilności oksydacyjnej (test przyspieszonego utleniania).
- [19] Ratusz K., Kowalski B., Bekas W., Wirkowska M.: Monitorowanie autooksydacji oleju rzepakowego i słonecznikowego. *Rośliny Oleiste*, 2005, **XXVI**, 211-220.
- [20] Szukalska E.: Przeciwutleniacze i ich rola w opóźnieniu niepożądanych przemian tłuszczów spowodowanych utlenianiem. *Żyw. Człow. Metab.*, 1999, **26**, 1, 81-86.
- [21] Szukalska E.: Wybrane zagadnienia utleniania tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 2003, **1/2**, 42-61.
- [22] Wagner K., Elmadfa I.: Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil during heating. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2000, **102**, 624-629.

- [23] Yanishlieva V.N., Marinova E.M.: Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur. J. Lipid Sci., Technol.*, 2001, **103**, 752-767.

#### **EFFECTIVENESS OF ANTIOXIDANT PREPARATION EFFECT ON FULLY REFINED VEGETABLE OILS AND THEIR TRIACYLOGLICEROLS MATRIXES**

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

Vegetable oils, especially rich in polyunsaturated acid become subject to oxidation processes very easily. One of the methods of increasing their oxidative stability is introducing antioxidants. The aim of this study was to improve an oxidative stability of rapeseed, soybean and sunflower oils and their triacylglycerols matrixes by utilization of antioxidants preparation (mixture of alpha tocopherol, ascorbyl palmitate and soybean lecithin) in doses 0,02; 0,04; 0,06; 0,10 and 0,15%. Induction time was measured by Rancimat method in 120°C. It was proved that addition of antioxidant preparation was the most effective in sunflower oil: (in dose 0,15% caused lengthening of induction period by 120%). The purified TAG of all oils were very well protected by preparation. In dose 0,15% induction period of TAG rapeseed, soybean and sunflower oils were increased by 635, 602 and 978% respectively.

**Key words:** autooxidation, vegetable oils, triacyloglycerols, antioxidant, Rancimat 

MILLENA RUSZKOWSKA, ANETA OCIECZEK, PIOTR PALICH

## WŁAŚCIWOŚCI SORPCYJNE GRZANEK ZAWARTYCH W ZUPACH INSTANTYZOWANYCH

### Streszczenie

W pracy przedstawiono charakterystykę właściwości sorpcyjnych grzanek zawartych w zupach instantyzowanych. Pomiaru zjawiska sorpcji dokonano metodą statyczną na podstawie analizy izoterm adsorpcji pary wodnej i metodą dynamiczną przez określenie kinetyki adsorpcji pary wodnej i szybkości procesu.

Początkową zawartość wody w materiale określono metodą suszenia w temp. 105°C. Izotermy adsorpcji wyznaczono w zakresie aktywności wody  $a_w = 0,07 - 0,98$ . Izotermy poddano przekształceniu BET w zakresie aktywności wody  $a_w = 0,07 - 0,44$ , obliczono pojemność warstwy monomolekularnej  $V_m$  i odpowiadającą jej aktywność wody oraz określono powierzchnię właściwą adsorpcji.

Izotermy adsorpcji pary wodnej badanych produktów odpowiadały typowi II w klasyfikacji Brunauer. Wyższą pojemnością monowarstwy i powierzchnią właściwą adsorpcji charakteryzowały się grzanki A, uzyskane wyniki wskazywać mogą na lepszą podatność tych produktów na proces rehydracji. Przebieg krzywych kinetyki adsorpcji pary wodnej uwarunkowany był aktywnością wody środowiska oraz początkową zawartością wody w badanych materiałach.

Szybkość procesu sorpcji w badanych produktach przyjmowała najwyższe wartości w czasie pierwszych 2 godz. trwania pomiaru (120 min). W środowisku o aktywności wody w zakresie  $a_w = 0,55 - 0,98$ , wraz ze wzrostem zawartości wody w badanych produktach, stwierdzono zmniejszenie szybkości procesu adsorpcji pary wodnej.

**Słowa kluczowe:** izotermy, kinetyka adsorpcji, powierzchnia właściwa, zupy instant, grzanki

### Wstęp

Zawartość wody w produktach spożywczych stanowi czynnik determinujący wiele zmian chemicznych, fizycznych i mikrobiologicznych, a tym samym ma duży wpływ na stabilność przechowalniczą żywności suszonej.

Wrażliwość produktów spożywczych na wilgoć i ich zdolność chłonięcia wody może być określona na podstawie krzywej izoterm adsorpcji, przedstawiającej zależność pomiędzy aktywnością wody i równowagową zawartością wody w produkcie.

---

*Mgr inż. M. Ruszkowska, dr inż. A. Ociecek, dr inż. P. Palich, prof. nadzw. AM, Katedra Organizacji Usług Turystyczno-Hotelarskich, Akademia Morska, ul. Morska 83, 81-225 Gdynia*

Kształt izotermy sorpcji odzwierciedla mechanizm wiązania wody w materiale. Izotermy adsorpcji większości produktów spożywczych charakteryzują się sigmoidalnym kształtem z nieznacznymi odchyleniami uwarunkowanymi przede wszystkim rodzajem produktu i zawartością wody [3]. Kształt ten związany jest z występowaniem adsorpcji monowarstwowej w środowisku o aktywności wody  $a_w < 0,3$ , adsorpcji wielowarstwowej w zakresie  $0,3 < a_w < 0,65$  oraz kondensacji kapilarnej przy  $a_w > 0,65$ .

Zależność przyrostu zawartości wody w żywności suszonej od czasu procesu umożliwia interpretację zjawiska kinetyki adsorpcji. Kształt krzywej kinetyki adsorpcji zależy od składu chemicznego badanego produktu oraz parametrów pomiaru (temperatury i wilgotności względnej powietrza) [1].

W przypadku produktów charakteryzujących się złożonym składem, takich jak zupy instantyzowane z grzankami, wrażliwość na wilgoć jest wypadkową właściwości sorpcyjnych żywności w proszku oraz zastosowanych dodatków (np. grzanki). Biorąc pod uwagę niewielką ilość publikacji dotyczących właściwości sorpcyjnych grzanek celem pracy było określenie tych właściwości grzanek zawartych w zupach instantyzowanych. Zakres pracy obejmował wyznaczenie izoterm i kinetyki adsorpcji pary wodnej.

### Material i metody badań

Materiał badawczy stanowiły grzanki zawarte w zupach instantyzowanych. Do badań użyto grzanek pochodzących z zup grochowych, wyprodukowanych przez dwóch wiodących producentów na rynku polskim, firmę Knorr (A) i Winiary (B).

Zawartość wody w badanych produktach określano metodą suszenia przy ciśnieniu atmosferycznym, w temp. 105°C [7].

Izotermy adsorpcji wyznaczano metodą statyczną. Próbkę przechowywano w higrostaty w temp. 20°C przez 30 dni. W celu zapewnienia stałej wilgotności środowiska zastosowano nasycone roztwory soli o aktywności wody od 0,07 do 0,98. Na podstawie początkowej masy produktu oraz jej zmian w czasie obliczano równowagowe zawartości wody i wyznaczano izotermy sorpcji. Pomiar masy próbek wykonywano za pomocą wagi analitycznej.

Izotermę adsorpcji przedstawiono w układzie współrzędnych  $(p/p_0)/a(1-p/p_0)$  i  $p/p_0$ . Na podstawie danych z zakresu  $a_w = 0,07-0,44$ , wyznaczano objętość warstwy monomolekularnej wraz z odpowiadającą jej aktywnością wody, stosując równanie BET o postaci [5, 6]:

$$\frac{\frac{p}{p_0}}{a \left( 1 - \frac{p}{p_0} \right)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{C - 1}{V_m C} \cdot \frac{p}{p_0} \quad (1)$$



gdzie:  $a$  – adsorpcja, [kg/kg],

$V_m$  – maksymalna wielkość adsorpcji odpowiadająca całkowitemu pokryciu powierzchni jednocząsteczkową warstwą adsorbentu, [kg/kg],

$C$  – stała, związana w sposób wykładniczy z różnicą pomiędzy ciepłem adsorpcji na pierwszej i na następnych warstwach, przyjęta za niezmienną i równa ciepłu kondensacji,

$p$  – prężność par adsorbowanej wody w fazie gazowej, [Pa],

$p_0$  – prężność par adsorbowanej wody, znajdującej się nad cieczą w stanie równowagi w temperaturze adsorpcji, [Pa].

Powierzchnię właściwą sorpcji wyznaczono jako pochodną warstwy monomolekularnej, posługując się równaniem [2]:

$$PS = \frac{V_m \cdot L \cdot N}{M} \quad (2)$$

gdzie:  $PS$  – powierzchnia właściwa sorpcji, [m<sup>2</sup>],

$M$  – masa cząsteczkowa wody, [18g/mol],

$N$  – liczba Avogadro, [6,023·10<sup>23</sup> cząsteczki/mol],

$L$  – powierzchnia pokrywana przez cząsteczkę wody, [1,05·10<sup>-19</sup> m<sup>2</sup>/cząsteczkę].

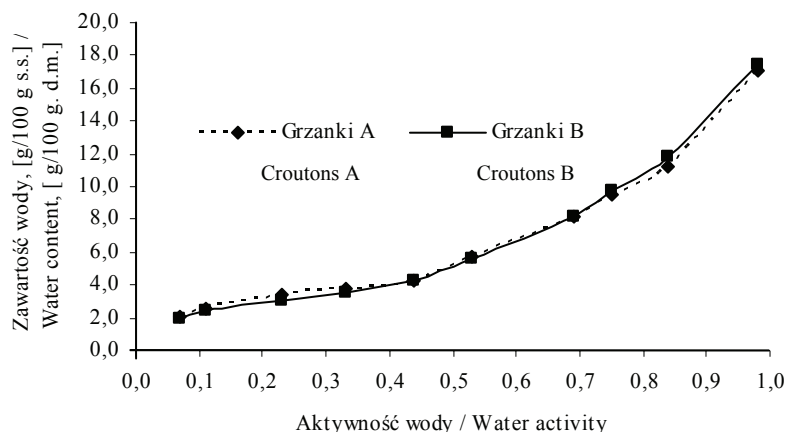
Kinetykę adsorpcji pary wodnej w badanych próbach oznaczano metodą dynamiczną, korzystając ze stanowiska zapewniającego ciągły pomiar i komputerowy zapis zmian masy próbek, w środowisku o określonej aktywności wody i temperaturze. Kinetykę adsorpcji pary wodnej wyznaczano przy aktywności wody 0,07, 0,55, 0,98, w temp. 20°C, w ciągu 120 godz. Zmiany masy rejestrowano przez 60 godz. co 30 min i przez kolejne 60 godz. co 60 min.

Interpretację kinetyki adsorpcji stanowiły krzywe kinetyczne oraz krzywe szybkości. Krzywe kinetyczne stanowiły graficzny zapis zmian ilości zaadsorbowanej wody (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s.) w czasie. Krzywe szybkości natomiast odzwierciedlały zmiany szybkości adsorpcji pary wodnej w czasie (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s.·min<sup>-1</sup>) i były różniczką krzywych kinetycznych.

## Wyniki badań i dyskusja

Wykazano, że większą zawartością wody charakteryzowały się grzanki A (3,6 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s.). Zawartość wody w grzankach B kształtowała się na poziomie 3,2 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s. (tab. 1).

Kształt izoterm adsorpcji pary wodnej badanych grzanek odpowiadał II typowi izoterm wg klasyfikacji Brunauera [6]. Przebieg izoterm adsorpcji odzwierciedlał wrażliwość badanych materiałów na oddziaływanie środowiska o różnym poziomie aktywności wody. W grzankach obu firm wykazano podobny sigmoidalny przebieg izoterm (rys. 1)



Rys. 1. Izotermy sorpcji grzanki A i B w temp. 20°C.

Fig. 1. Sorption isotherms of croutons A and B in a temperature of 20°C.

W kształcie uzyskanych izoterm można było wyróżnić typowe dla żywności obszary izotermy sorpcji. Obszar I - charakteryzujący monowarstwową sorpcję wody przez grupy polarne, obejmował obszar od  $a_w = 0,07 - 0,44$ . Warstwa wielocząsteczkowa tworzyła się w zakresie  $a_w = 0,44 - 0,74$ . Natomiast proces kondensacji kapilarnej w obu próbach stwierdzono w zakresie  $a_w = 0,74 - 0,98$ .

Równowagowa zawartość wody w badanych grzankach uzależniona była od aktywności wody środowiska oraz interakcji cząsteczek wody ze składnikami badanych grzanki [2, 4, 5].

Grzanki A w środowisku o  $a_w$  od 0,07 do 0,53, wykazywały nieco wyższą sorpcyjność w porównaniu z grzankami B. Po przekroczeniu aktywności wody środowiska 0,53 nastąpiło odwrócenie tendencji i grzanki B charakteryzowały się wyższą sorpcyjnością niż grzanki A. Jednakże wyniki testu zgodności Smirnowa-Kołmogorowa pozwalają stwierdzić, że przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  rozkłady sorpcyjności w obu badanych rodzajach grzanki były identyczne.

Na podstawie przebiegu izoterm adsorpcji wyznaczono parametry równania BET, pojemność warstwy monomolekularnej  $V_m$  i odpowiadającą jej aktywność wody oraz powierzchnię właściwą sorpcji PS (tab. 1).

Większą pojemnością monowarstwy charakteryzowały się grzanki A i pojemności tej odpowiadała wyższa aktywność wody. W grzankach B wartość monowarstwy ukształtowała się na niższym poziomie, a pojemności tej odpowiadała niższa aktywność wody (tab. 1). Relacje te mogły być spowodowane różnicami w składzie chemicznym badanych grzanki lub też różnicami w stanie poszczególnych składników (np. zaawansowana retrogradacja skrobi powoduje zmniejszenie dostępności powierzchni skrobi dla cząsteczek wody) grzanki [8]. Można również przypuszczać, że

grzanki A będą charakteryzować się niższą trwałością przechowalniczą ze względu na wyższą aktywność zawartej w nich wody [2, 4, 8].

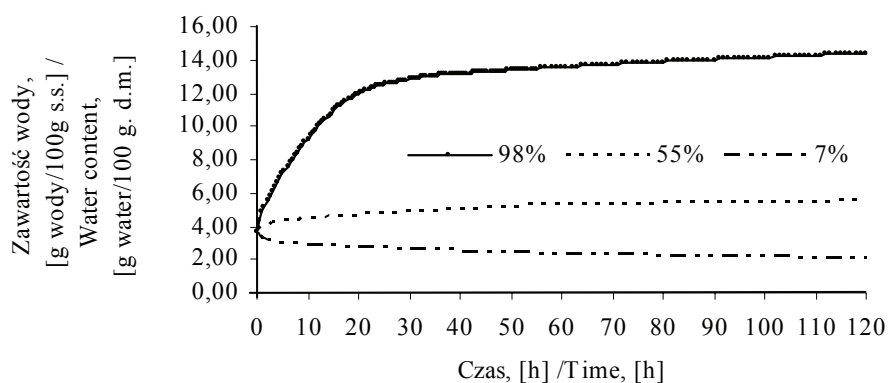
Tabela 1

Parametry równania BET.  
The BET equation parameters.

Produkt Product	Średnia zawartość wody [%] Mean water content [%]	Pojemność warstwy monomolekularnej [g H <sub>2</sub> O/100 g s.s] Capacity of monolayer [g H <sub>2</sub> O/100 g d. m.]	Aktywność wody Water activity	Powierzchnia właściwa sorpcji [m <sup>2</sup> /g] Specific surface of sorption [m <sup>2</sup> /g]
Grzanki A Croutons A Knorr	3,6	2,51	0,20	8,84E+03
Grzanki B Croutons B Winiary	3,2	2,45	0,18	8,61E+03

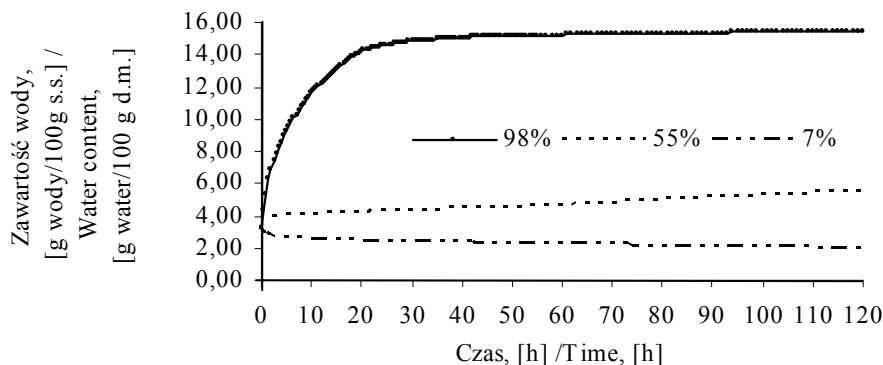
Powierzchnia właściwa sorpcji będąc pochodną pojemności warstwy monomolekularnej wykazywała wyższe wartości w grzankach firmy A.

Kinetykę adsorpcji pary wodnej grzank A i B przedstawiono na rys. 2 i 3.



Rys. 2. Kinetyka adsorpcji pary wodnej grzank A.

Fig. 2. Kinetics of water vapour adsorption of croutons A.



Rys. 3. Kinetyka adsorpcji pary wodnej grzanek B.

Fig. 3. Kinetics of water vapour adsorption of croutons B.

Przebieg krzywych kinetyki uwarunkowany był aktywnością wody środowiska oraz początkową zawartością wody w badanych materiałach, które wspólnie determinowały wielkość siły ssącej. Produkty umieszczone w środowisku o wyższej aktywności wody charakteryzowały się większą adsorpcją pary wodnej. Krzywe kinetyki adsorpcji pary wodnej badanych produktów przebiegały podobnie. Grzanki A w środowisku o aktywności wody  $a_w = 0,98$  po pierwszej godzinie procesu zwiększyły zawartość wody, osiągając poziom 4,82 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s., a do końca pomiaru nastąpiło potrojenie tej wartości (14,41 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s.). Grzanki B w ciągu pierwszej godziny trwania pomiaru zaadsorbowały ok. 5,37 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s., osiągając w końcowej fazie badania wartość prawie trzykrotnie wyższą (15,48 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s.). Grzanki B charakteryzowały się, w początkowej fazie adsorpcji, nieznacznie większą kinetyką adsorpcji pary wodnej (różnica w kącie jaki tworzą styczne do krzywej z osią czasu) niż grzanki A, co wynikać mogło z różnic początkowej zawartości wody. Różnice wilgotności produktu i jego otoczenia, warunkują różnicę potencjału wilgotnościowego, stanowiąc tym samym siłę napędową procesu kinetyki adsorpcji pary wodnej.

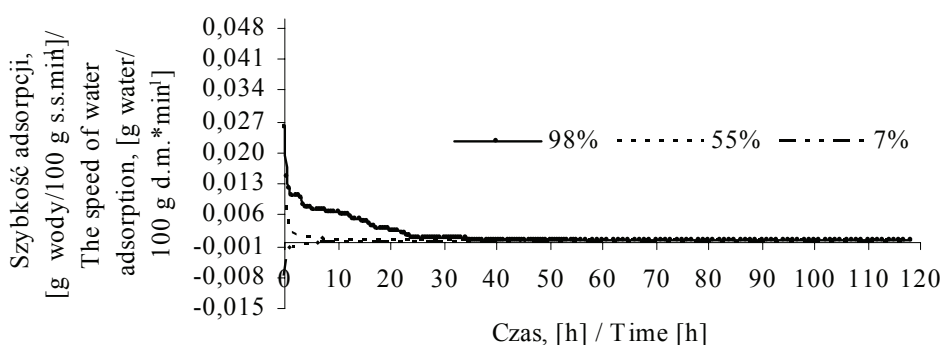
W środowisku o  $a_w = 0,55$  grzanki A po pierwszej godzinie osiągnęły około 3,96 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s. i do końca procesu zawartość wody wzrosła o ok. 39%, osiągając wartość 5,52 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s. W grzankach B po pierwszej godzinie pomiaru ( $a_w = 0,55$ ) zawartość wody wyniosła 3,63 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s. i do końca procesu wartość ta wzrosła o ok. 53% i wyniosła 5,54 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s. (rys. 2 i 3)

W środowisku o  $a_w = 0,07$ , po pierwszej godzinie pomiaru zawartość wody w grzankach A zmniejszyła się do ok. 3,23 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s. i do końca procesu wielkość ta zmalała o ok. 36%, osiągając wartość 2,07 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s. Grzanki B po pierwszej godzinie w środowisku o najniższej aktywności wody osiągnęły zawartość

wody na poziomie 2,88 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s., do końca pomiaru zawartość ta zmalała o 31%, przyjmując wartość ok. 2,00 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s. (rys. 2 i 3).

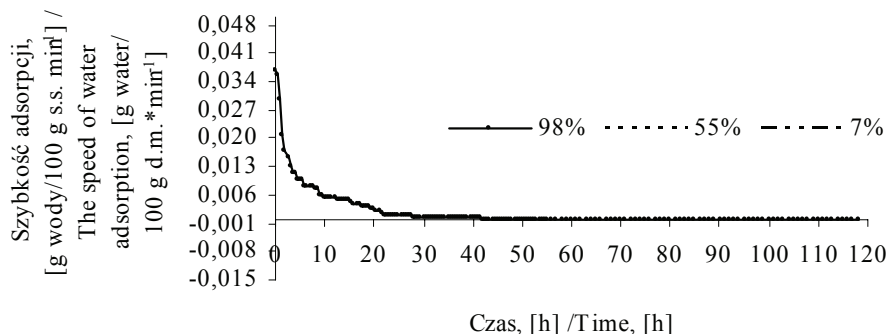
Szybkość adsorpcji pary wodnej w badanych wyrobach uwarunkowana była zawartością wody w produktach oraz wilgotnością otoczenia.

Na podstawie krzywych szybkości adsorpcji pary wodnej (rys. 4 i 5), stwierdzono, że szybkość procesu adsorpcji w badanych grzankach malała wraz ze wzrostem zawartości wody w produkcie. W środowisku o aktywności wody  $a_w = 0,07$  szybkość adsorpcji wykazywała wartości ujemne.



Rys. 4. Szybkość adsorpcji pary wodnej grzaneek A.

Fig. 4. The speed of water vapour adsorption of croutons A.



Rys. 5. Szybkość adsorpcji pary wodnej grzaneek B.

Fig. 5. The speed of water vapour adsorption of croutons B.

Najszybciej proces adsorpcji przebiegał w czasie pierwszych dwóch godzin pomiaru, w środowisku o aktywności wody  $a_w = 0,98$ . W grzankach B na początku procesu szybkość adsorpcji wynosiła około 0,04 g H<sub>2</sub>O/(100 g s.s.·min<sup>-1</sup>), przy zawartości wody 5,37 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s., a przy zawartości wody 15,10 g H<sub>2</sub>O/100 g s.s. szybkość wykazywała wartość bliską zero. Grzanki A w środowisku o aktywności wody  $a_w = 0,98$  wykazywały początkową szybkość adsorpcji pary wodnej zbliżoną do szybkości grzaneek B

i wynosiła ona w grzankach A ok.  $0,03 \text{ g H}_2\text{O}/(100 \text{ g s.s.} \cdot \text{min}^{-1})$ . Grzanki A uzyskały szybkość adsorpcji bliską zeru przy zawartości wody około  $13,88 \text{ g H}_2\text{O}/100 \text{ g s.s.}$

W środowisku o  $a_w = 0,55$ , wyższą początkową szybkość adsorpcji stwierdzono w grzankach B, tj.  $0,01 \text{ g H}_2\text{O}/(100 \text{ g s.s.} \cdot \text{min}^{-1})$ , przy zawartości wody  $3,49 \text{ g H}_2\text{O}/100 \text{ g s.s.}$  W grzankach A szybkość na początku procesu wynosiła ok.  $0,009 \text{ g H}_2\text{O}/(100 \text{ g s.s.} \cdot \text{min}^{-1})$ , przy zawartości wody ok.  $3,86 \text{ g H}_2\text{O}/100 \text{ g s.s.}$

Badane produkty A i B w środowisku o  $a_w = 0,07$  charakteryzowały się również ujemną szybkością adsorpcji, która przyjmowała największe wartości w czasie pierwszych 2 godz. pomiaru.

## Wnioski

1. Izotermy adsorpcji pary wodnej badanych grzanek A i B miały przebieg zgodny z przebiegiem izoterm typu II według klasyfikacji Brunauera. Sigmoidalnym kształt izotermy związany był z występowaniem adsorpcji monowarstwowej w środowisku o aktywności wody  $a_w < 0,44$ , zakresu adsorpcji wielowarstwowej ( $0,44 < a_w < 0,72$ ) i kondensacji kapilarnej ( $a_w > 0,72$ ).
2. Grzanki A w zakresie aktywności wody  $a_w = 0,42-0,98$ , adsorbowały mniejsze ilości wody niż grzanki B. Produkty A charakteryzowały się większą pojemnością monowarstwy i powierzchnią właściwą sorpcji, co sugerować może ich wysoką podatność na proces rehydracji.
3. Krzywe kinetyki adsorpcji pary wodnej badanych produktów przebiegały podobnie. Produkty umieszczone w środowisku o wyższej aktywności wody, charakteryzowały się większą adsorpcją pary wodnej.
4. Szybkość procesu adsorpcji w badanych grzankach malała wraz ze wzrostem w nich zawartości wody. W środowisku o aktywności wody  $a_w = 0,07$  szybkość adsorpcji wykazywała wartości ujemne, co wskazuje na zachodzenie procesu desorpcji.

## Literatura

- [1] Domian E., Lenart A.: Adsorpcja pary wodnej przez żywność w proszku. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość., 2000, **4** (25), 25-35.
- [2] Foster K.D., Bronlund J.E., Paterson A.H.J.: The prediction of moisture sorption isotherms for dairy powders. Internat. Dairy J., 2005, **15**, 411-418.
- [3] Lenart A.: Charakterystyka właściwości sorpcyjnych odwodnionej żywności. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1991, **2** (25), 1-4.
- [4] Mathlouthi M.: Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs. Food Control, 2001, **12**, 409-417.
- [5] Ociecek A.: Badania modeli oceny trwałości przechowalniczej produktów higroskopijnych na przykładzie makaronu. Praca doktorska. WSM, Gdynia 2001.

- [6] Ościk J.: Adsorpcja. PWN. Warszawa 1979.  
[7] PN-A-79011-3 Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczenie zawartości wody.  
[8] Rahman M.S.: State diagram of foods: Its potential use in food processing and product stability. Food Sci. Technol. dane bibliogr.

## SORPTION PROPERTIES OF CROUTONS IN INSTANT SOUPS

### S u m m a r y

This study presents characteristics of sorption properties of croutons contained in instant soups. The sorption phenomenon was measured by means of static method analysing the water vapour adsorption isotherm and dynamic method by determining the water vapour adsorption kinetics and the process speed.

The initial water content in the material was determined by means of thermal drying in 105°C. The adsorption isotherms were determined within the water activity  $a_w=0.07-0.98$ . The isotherms were subjected to the BET transformation within  $a_w=0.07-0.44$  water activity, the monomolecular layer capacity  $V_m$  was calculated and the respective water activity and also the adsorption surface proper was determined.

The water vapour adsorption isotherms in the products under study corresponded to Type II of the Brunauer classification. Croutons A had greater capacity of the monolayers and the adsorption surface proper; the obtained data may indicate those products' being prone to the rehydration process. The water vapour adsorption kinetics curves was up to the environment water activity and the initial water content in the material under study.

The sorption speed in the products under study was the greatest during the first 2 hours of the measurement taking (120 minutes). The water vapour adsorption speed dropped in the environment with water activity  $a_w=0.55-0.98$ , along with an increase in water content in the products under study.

**Key words:** isotherms, adsorption kinetics, proper surface, instant soups, croutons ☒

MAŁGORZATA RZĄCA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT

## AKTYWNOŚĆ PRZECIWRODNIKOWA ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH ZAWARTYCH W SUSZU JABŁKOWYM

### Streszczenie

Celem pracy było określenie aktywności przeciwrodnikowej suszu jabłkowego otrzymanego metodą konwekcyjną i metodą wykorzystującą promieniowanie podczerwone oraz zbadanie zmian właściwości przeciwrodnikowych w czasie przechowywania suszy w zróżnicowanej temperaturze. Podczas suszenia konwekcyjnego aktywność przeciwrodnikowa jabłek osiągnęła około 70% aktywności surowca przed suszeniem, a w suszu promiennikowym nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian aktywności przeciwutleniającej i zawartości polifenoli w stosunku do jabłek surowych. W czasie przechowywania nastąpiło zmniejszenie aktywności przeciwrodnikowej i zawartości polifenoli. Większą szybkością zmian charakteryzował się susz promiennikowy, jednak osiągał on zdolność wygaszania wolnych rodników i zawartość polifenoli na poziomie przewyższającym odpowiednie wartości suszu konwekcyjnego. Przeprowadzone badania wykazały istnienie dodatniej korelacji pomiędzy aktywnością przeciwrodnikową i zawartością polifenoli.

**Słowa kluczowe:** aktywność przeciwrodnikowa, zawartość polifenoli, suszenie konwekcyjne, suszenie promiennikowe, przechowywanie

### Wprowadzenie

Zawarte w surowcach roślinnych przeciwutleniacze mają prozdrowotne działanie na organizm człowieka. Brak związków przeciwutleniających w diecie prowadzi do zaburzeń w funkcjonowaniu organizmu. Badania biochemiczne wskazują, że za powstawanie chorób cywilizacyjnych, tj. miażdżycy, nowotworów, szybszego starzenia organizmu, zawałów serca, itd. odpowiedzialne są wolne rodniki oraz reaktywne produkty ich działania. Wolne rodniki mogą być wygaszane przez wewnątrzustrojowy mechanizm obrony enzymatycznej lub przez układ nieenzymatyczny, który tworzą m.in. witaminy,  $\beta$ -karoten, niektóre metale, tj. selen, mangan oraz związki polifenolowe [2, 5, 10, 11, 15, 16, 17, 18]. Niestety przetwarzanie żywności ma istotny wpływ na

---

*Mgr inż. M. Rząca, prof. dr hab. D. Witrowa-Rajchert, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*



częściową lub całkowitą utratę właściwości przeciwutleniających produktów pochodzenia roślinnego. Aktywność związków o charakterze przeciwutleniającym zależy również od techniki uprawy surowca, stadium rozwoju, rodzaju, odmiany surowca, czasu jego magazynowania oraz od części owocu [7, 9]. Przykładowo na skutek przetwarzania jabłek w celu otrzymania soku poziom flawonoidów i kwasu chlorogenowego w soku był zmniejszony, odpowiednio, do 3 i 50% w stosunku do surowca. Więcej przeciwutleniaczy zostało zachowanych w wyłokach niż w soku [16]. Zawartość, a tym samym aktywność, przeciwutleniaczy jest wyższa w epidermie i tkance położonej tuż pod nią niż w miąższu surowca [1, 7, 8, 15, 18]. Aktywność przeciwutleniająca jabłek ze skórką jest blisko o 100% wyższa niż owoców bez skórki [6]. W czasie produkcji skórki są najczęściej odrzucane, przez co tracone są cenne źródła związków fenolowych, a tym samym zostaje ich znacznie mniej w produkcie [18]. Suszenie jest jedną z metod przetwarzania owoców, w czasie której działanie wysokiej temperatury oraz usuwanie wody musi wpływać na obniżenie aktywności przeciwutleniającej. Informacje na temat właściwości antyoksydacyjnych suszonych produktów są stosunkowo nieliczne, szczególnie w stosunku do materiałów otrzymanych niekonwencjonalnymi metodami suszenia, do jakich można zaliczyć suszenie z wykorzystaniem promieniowania podczerwonego.

Celem pracy było określenie aktywności przeciwrodnikowej jabłek suszonych metodą konwekcyjną oraz przy zastosowaniu promieniowania podczerwonego oraz jej zmian w czasie 5-miesięcznego przechowywania suszy w trzech wartościach temperatury 4, 25 i 40°C.

## **Material i metody badań**

### *Metody suszenia*

Jabłka odmiany Idared krojono w plastry o średnicy 30 mm i grubości  $2,5 \pm 0,5$  mm i poddawano suszeniu. Suszenie konwekcyjne prowadzono w suszarce laboratoryjnej w temp. powietrza 70°C. Natomiast suszenie promiennikowe odbywało się przy tak ustalonych parametrach, by temperatura materiału suszonego w podczerwieni była zbliżona do temperatury materiału suszonego konwekcyjnie (odległość lamp od powierzchni suszonego materiału 20 cm, przepływ powietrza równoległy do warstwy materiału o prędkości 1,2 - 1,4 m/s). Susze przechowywano w słoikach typu twist-off bez dostępu światła w temp. 4, 25 i 40°C przez 20 tygodni.

W materiale surowym oraz w suszu oznaczano zawartość suchej substancji zgodnie z PN-90/A-75101/03 [13].

Barwę materiału surowego i suszonego określano za pomocą chromometru typu CR-300 firmy Minolta. Mierzono współrzędne trójchromatyczne x, y oraz jasność Y.

### *Oznaczanie aktywności przeciwrodnikowej i zawartości polifenoli w materiale*

Właściwości przeciwrodnikowe surowych jabłek i suszu oznaczano metodą polegającą na określeniu stopnia wygaszania wolnych rodników DPPH<sup>•</sup> przez przeciwutleniające. W celu sporządzenia ekstraktu do analiz odważano 5 g rozdrobnionego miąższu surowych jabłek i dodawano 50 ml 80-procentowego etanolu. W przypadku suszu wielkość próbki potrzebną do analizy obliczano przy założeniu, że masa suchej substancji w suszu ma być równa masie suchej substancji zawartej w 5 g surowego jabłka. Do odważonego suszu dodawano taką ilość wody, aby sumaryczna masa wynosiła 5 g, a następnie 50 ml 80-procentowego etanolu. Próbę homogenizowano przez 10 min, a następnie gotowano pod przykryciem przez 15 min. Tak przygotowany roztwór sączono. W ekstrakcie oznaczano aktywność przeciwrodnikową zgodnie z metodyką podaną przez Brand-Williams i wsp. [3]. Pomiar polegał na określeniu absorbancji przy długości fali 515 nm sześciu roztworów zawierających taką samą objętość roztworu DPPH<sup>•</sup> (2 ml), o stężeniu odpowiadającym absorbancji próby kontrolnej z zakresu 0,6-0,7 (próba kontrolna = 2 ml roztworu DPPH<sup>•</sup> + 2 ml 80-procentowego etanolu), ale różne objętości ekstraktu w przedziale 0,02-0,20 ml. Na tej podstawie wykreślono zależność liniową pomiędzy objętością ekstraktu a stopniem wygaszania rodników DPPH<sup>•</sup>. Z równania linii prostej obliczano objętość ekstraktu, powodującą 50-procentową redukcję rodników. Wartość tę przeliczano na masę suchej substancji, odpowiadającą danej objętości ekstraktu. Tak więc efektywność wygaszania wolnych rodników przez badane susze wyrażano w formie współczynnika IC<sub>50</sub>, określającego masę suchej substancji suszu, potrzebną do 50-procentowej redukcji wolnych rodników DPPH<sup>•</sup>.

Zawartość związków polifenolowych oznaczano metodą Folina-Ciocalteu'a [14], stosując jako wzorzec kwas chlorogenowy. Do analiz wykorzystano ekstrakt przygotowany do oznaczania stopnia wygaszania wolnych rodników.

### *Statystyczna interpretacja wyników*

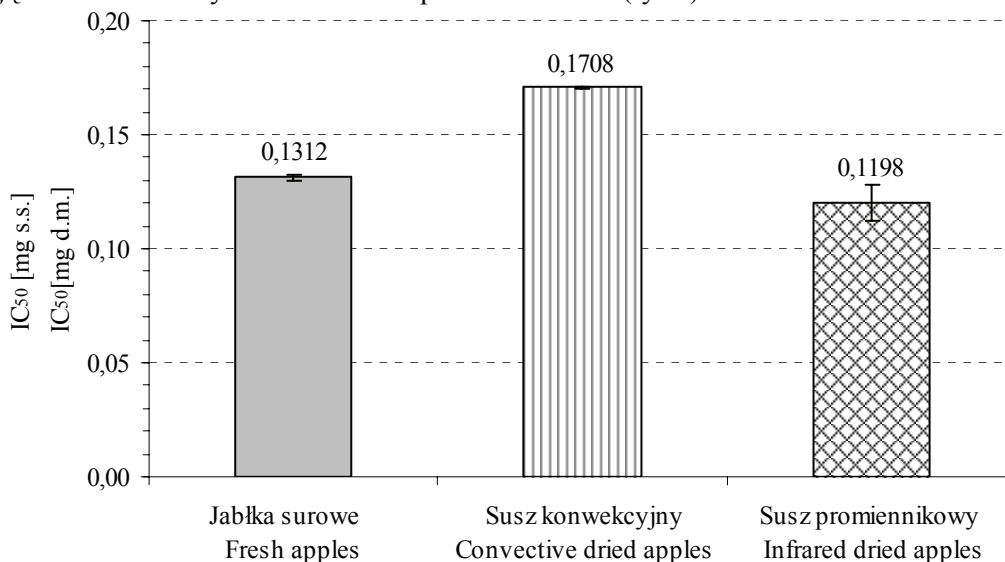
W celu zbadania wpływu dwóch parametrów przechowywania, tj. temperatury i czasu, przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji bez powtórzeń. Za pomocą testu t-Studenta zbadano istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi badanych parametrów. Porównania wielokrotne (szczegółowe) umożliwiły uzyskanie podziału średnich na grupy jednorodne, czyli nieróżniące się istotnie w ujęciu statystycznym.

## **Wyniki i dyskusja**

### *Wpływ metody suszenia na właściwości przeciwrodnikowe i zawartość polifenoli*

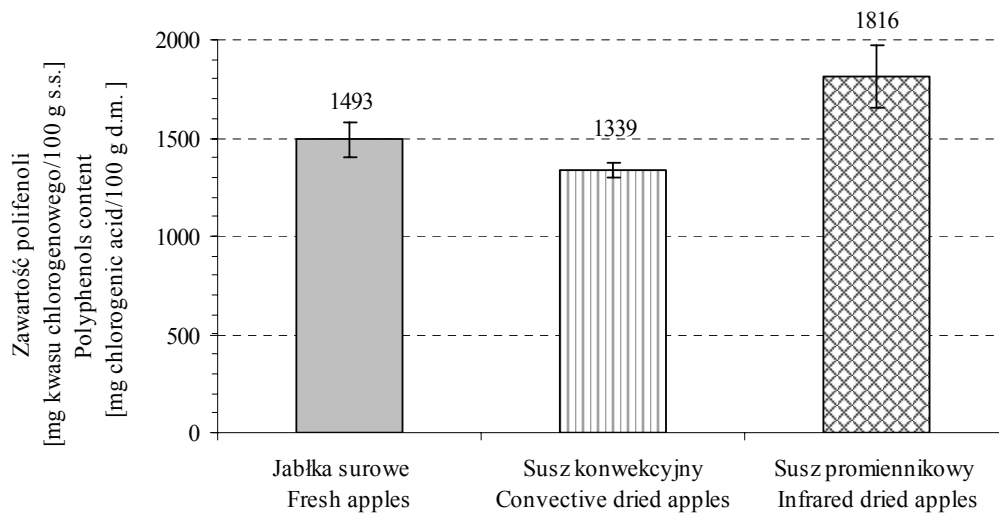
Surowce roślinne poddawane suszeniu ulegają zmianom, powodującym najczęściej pogorszenie jakości przetworzonej żywności. Informacje na temat właściwości

przeciwutleniających suszonych produktów są stosunkowo nieliczne. Podczas suszenia konwekcyjnego aktywność przeciwrodnikowa jabłek zmniejszyła się znacząco, osiągając około 70% aktywności surowca przed suszeniem (rys.1).



Rys. 1. Aktywność przeciwrodnikowa suszonych jabłek.

Fig. 1. Radical scavenging activity of dried apples.



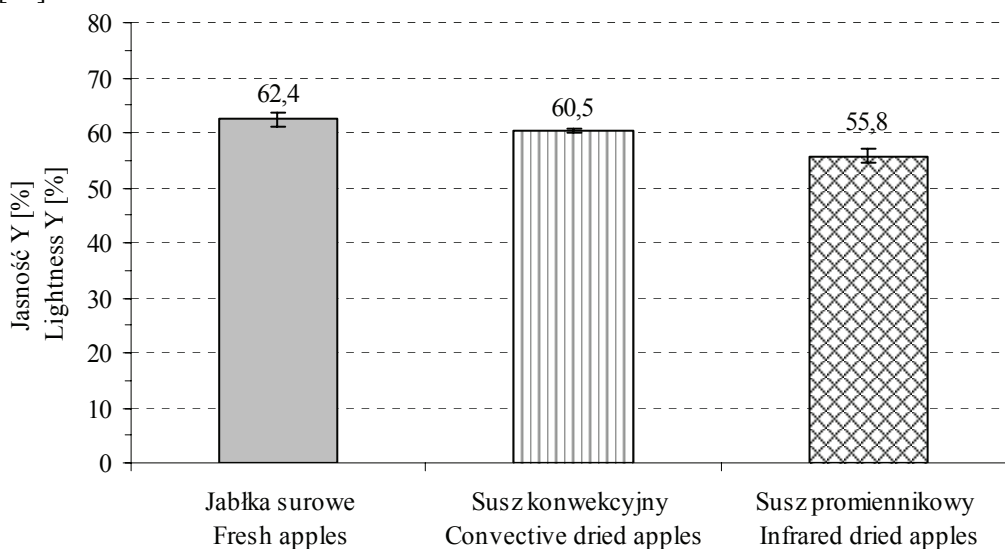
Rys. 2. Zawartość polifenoli w surowych jabłkach i suszach.

Fig. 2. Polyphenols content in raw and dried apples.

Zależność pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą i zawartością polifenoli nie są do końca poznane. Najczęściej podaje się, że przyczyną zmniejszenia zdolności

wygaszania wolnych rodników jest ubytek związków fenolowych. Zawartość polifenoli w jabłkach w czasie suszenia konwekcyjnego w przeprowadzonych badaniach uległa zmniejszeniu o około 10%, jednak zmiana ta w stosunku do jabłka surowego była statystycznie nieistotna (rys. 2).

Również w przypadku suszu promiennikowego nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian aktywności przeciwutleniającej i zawartości polifenoli w stosunku do jabłek surowych, chociaż można było zaobserwować około 8% zwiększenie aktywności przeciwrodnikowej (rys. 1) i około 20% wzrost zawartości polifenoli (rys. 2). Susz promiennikowy charakteryzował się wyższą zdolnością wygaszania wolnych rodników o około 40% i większą zawartością polifenoli o około 30% w stosunku do suszu konwekcyjnego. Wzrost aktywności przeciwrodnikowej suszu promiennikowego może być prawdopodobnie skorelowany ze zmniejszającą się jasnością tego produktu (rys. 1 i 3). Stwierdzono statystycznie istotne zmiany jasności suszu promiennikowego, w porównaniu z suszem konwekcyjnym, jak i z owocami przed suszeniem. Może to świadczyć o tym, że w czasie suszenia w podcierwieni powstają związki, będące produktami procesów brunatnienia enzymatycznego i nieenzymatycznego, które mają charakter przeciwutleniaczy, co tłumaczyłoby wysoką zdolność wygaszania wolnych rodników [12].



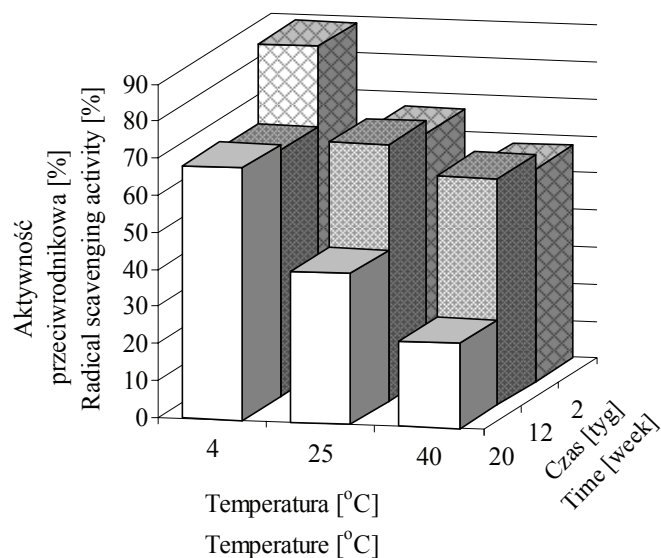
Rys. 3. Jasność jabłek surowych i suszonych.

Fig. 3. Lightness of raw and dried apples.

*Wpływ przechowywania suszu na właściwości przeciwrodnikowe i zawartość polifenoli*

W czasie przechowywania następowało zmniejszenie aktywności przeciwrodnikowej i zawartości polifenoli (rys. 4-7). Podobną tendencję malejącej aktywności przeciwutleniającej odnotowali Caro i wsp. [4] w czasie przechowywania, przez 4 miesiące, suszonych śliwek. Czas i temperatura przechowywania suszu konwekcyjnego nie miały statystycznie istotnego wpływu na aktywność przeciwrodnikową oraz zawartość polifenoli. Natomiast analiza wariancji wyników suszu promiennikowego wykazała, że większy wpływ na aktywność przeciwrodnikową miała temperatura przechowywania niż czynnik czasowy, a na zawartość polifenoli parametry te nie miały wpływu.

Zdolność wygaszania wolnych rodników w przypadku suszu konwekcyjnego zmniejszyła się po 12 tygodniach od 2 do 7%, a suszu promiennikowego od 20 do 40% w stosunku do suszu wyjściowego (rys. 4 i 5). Zależności te zostały potwierdzone zmianami zawartości polifenoli (rys. 6 i 7). Największą stratę polifenoli, wynoszącą 28% w suszu konwekcyjnym i 40% - w promiennikowym, w porównaniu z suszem wyjściowym, stwierdzono w temp. 25°C. W temp. 40°C nastąpiły najmniejsze straty polifenoli, wynoszące odpowiednio 15 i 24%.

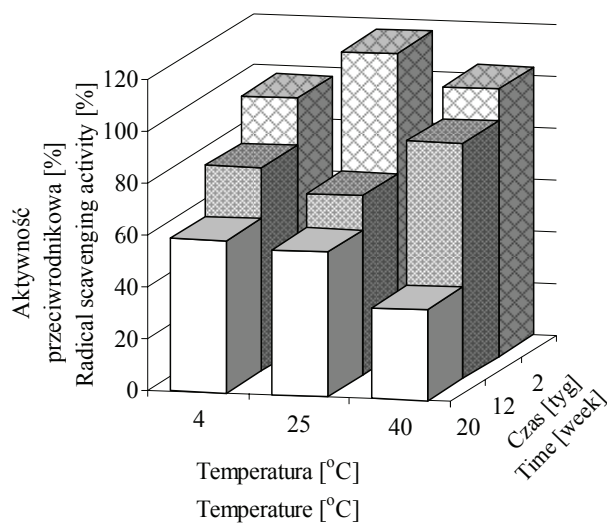


Rys. 4. Zmiana aktywności przeciwrodnikowej suszu konwekcyjnego w czasie przechowywania.

Fig. 4. The change of the radical scavenging activity in convective dried apples during storage.

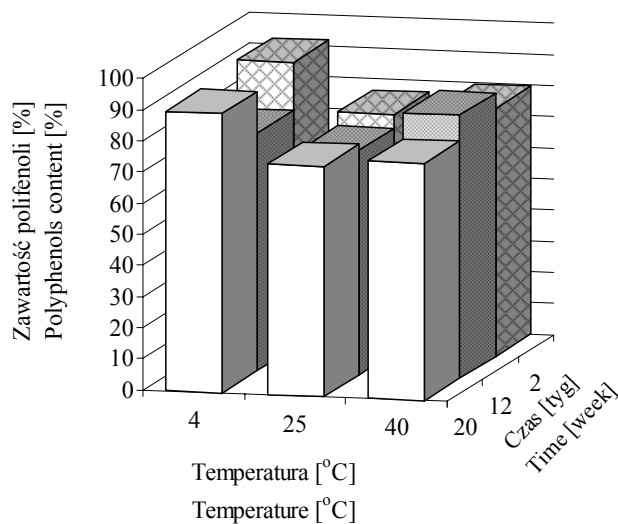
Po 20 tygodniach przechowywania suszu konwekcyjnego aktywność przeciwrodnikowa zmniejszyła się od 1 do 36% w stosunku do suszu wyjściowego, ale zmianę statystycznie istotną odnotowano jedynie w suszu przechowywanym w temp. 40°C. W przypadku suszu promiennikowego zdolność wygaszania wolnych rodników znacząco zmala-

ła we wszystkich wartościach temperatury przechowywania od 55 do 75%. Zauważono tendencję, że wraz ze wzrostem temperatury przechowywania malała zdolność wygaszania wolnych rodników. Analizując wartości bezwzględne aktywności przeciwrodnikowej można stwierdzić, że prawie we wszystkich przypadkach susz promiennikowy charakteryzował się większą możliwością wygaszania wolnych rodników.



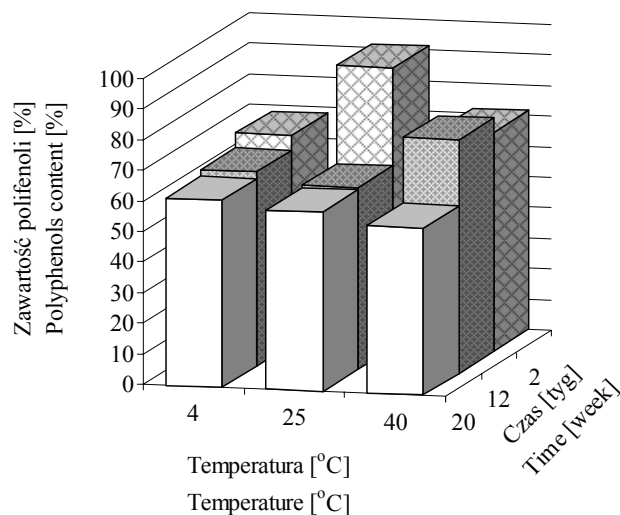
Rys. 5. Zmiana aktywności przeciwrodnikowej suszu promiennikowego w czasie przechowywania.

Fig. 5. The change of the radical scavenging activity in infrared dried apples during storage.



Rys. 6. Zmiana zawartości polifenoli w suszu konwekcyjnym w czasie przechowywania.

Fig. 6. The change of the polyphenols content in convective dried apples during storage.

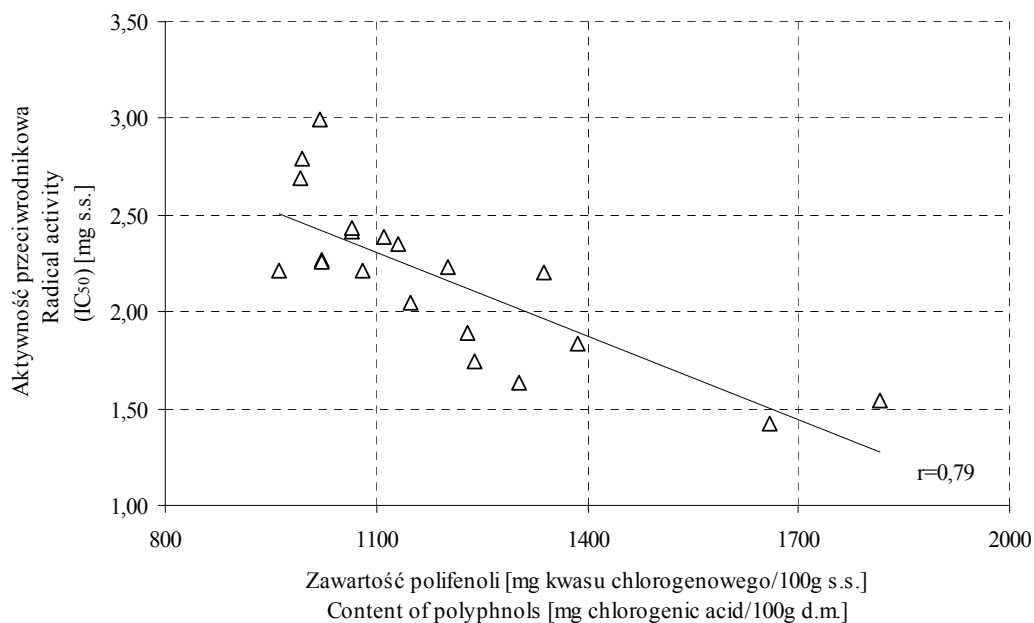


Rys. 7. Zmiana zawartości polifenoli w suszu promiennikowym w czasie przechowywania.

Fig. 7. The change of the polyphenols content in infrared dried apples during storage.

Objaśnienie: / Explanatory notes:

Na rys. 4 - 7 wartości aktywności przeciwrodnikowej i zawartości polifenoli wyrażone są jako procent w odniesieniu do jabłek surowych / On fig 4 - 7 values of radical scavenging activity and polyphenols content are showed as a percentage in relation to raw apples.



Rys. 8. Zależność między aktywnością przeciwrodnikową i zawartością polifenoli.

Fig. 8. Dependence between the radical scavenging activity and the content of polyphenols.

Uzyskane wyniki nie pozwalają w sposób jednoznaczny na określenie wpływu temperatury przechowywania na badane wskaźniki jakości. Można jednak stwierdzić, że w przypadku suszu promiennikowego wpływ temperatury jest bardziej znaczący. Przy czym do dwunastego tygodnia przechowywania wyższa aktywność przeciwrodnikowa i zawartość polifenoli odpowiadała wyższej temperaturze przechowywania.

Na rys. 8. przedstawiono zależność aktywności przeciwrodnikowej i zawartości polifenoli. Współczynnik korelacji,  $r = 0,79$ , większy od wartości tablicowej na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ , świadczy o korelacji pomiędzy badanymi wartościami, czyli zawartość polifenoli ma istotny wpływ na aktywność przeciwrodnikową badanych suszy.

### Wnioski

1. Aktywność przeciwrodnikowa oraz zawartość polifenoli zależą od metody suszenia, przy czym w suszu promiennikowym stwierdzono wyższe ich wartości niż w suszu konwekcyjnym.
2. Wraz z wydłużeniem czasu przechowywania następowało zmniejszenie aktywności przeciwrodnikowej i zawartości polifenoli. Większą szybkością zmian charakteryzował się susz promiennikowy, jednak osiągał on zdolność wygaszania wolnych rodników i zawartość polifenoli na poziomie przewyższającym odpowiednie wartości w suszu konwekcyjnym.
3. Stwierdzono istnienie dodatniej korelacji pomiędzy aktywnością przeciwrodnikową i zawartością polifenoli w przechowywanych suszach.

### Literatura

- [1] Bocco A., Cuvelier M.E., Richard H., Berset C.: Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46** (6), 2123-2129.
- [2] Borowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **5**, 11-12.
- [3] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. U. – Techn.*, 1995, **28**, 25-30.
- [4] Caro A., Piga A., Pinna I., Fenu P.M., Agabbio M.: Effect of drying conditions and storage period on polyphenolic content, antioxidant capacity, and ascorbic acid of prunes. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 4780-4784.
- [5] Dietrych-Szóstak D., Burda S.: Występowanie i rola przeciwutleniaczy w żywności. *Biuletyn Informacyjny, IUNG, Puławy, III/IV kwartał 1999*, **11**, 18-22.
- [6] Eberhardt M.V., Lee Ch.Y., Liu R.H.: Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 2000, **405**, 903-904.
- [7] Kondo S., Tsuda K., Muto N., Ueda J.: Antioxidative activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 2002, **96** (1-4), 177-185.
- [8] Lu Y., Foo Y.: Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chem.*, 2000, **68**, 81-85.




- [9] Łata B., Przeradzka M.: Changes of antioxidant content in fruit peel and flesh of selected apple cultivars during storage. *J. Fruit Ornam. Plant Res.*, 2002, **10**, 5-13.
- [10] Madsen H.L., Andersen C.M., Jorgensen L.V., Skibsted L.H.: Radical scavenging by dietary flavonoids. A kinetic study of antioxidant efficiencies. *Eur. Food Res. Techn.*, 2000, **211**, 240-246.
- [11] Mareczek A., Leja M., Ben J.: Total phenolics, anthocyanins and antioxidant activity in the peel of the stored apples. *J. Fruit Ornam. Plant Res.*, 2000, **8 (2)**, 59-60.
- [12] Nowak D., Lewicki P.P.: Quality of infrared dried apple slices. *Drying Techn.*, 2005, **23 (4)**, 831-846.
- [13] PN-90/A-75101/03 Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [14] Singleton L., Orthofer R., Lamuela-Raventions R.M.: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, 1999, **299**, 152-178.
- [15] Schirmacher G., Schempp H.: Antioxidative potential of flavonoid-rich extracts as new quality marker for different apple varieties. *J. Appl. Bot. Food Quality/Angewandte Botanik*, 2003, **77 (5-6)**, 163-167.
- [16] Sluis A., Dekker M., Skrede G., JongenW.: Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. Effect of existing production methods. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50 (25)**, 7211-7214.
- [17] Sikorski Z. E.: *Chemia żywności. Barwniki*. WNT. Warszawa 1994, s. 431-455.
- [18] Wolfe K., Wu X., Liu R.H.: Antioxidant activity of apple peels. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51 (3)**, 609-614.

#### **RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF PHENOLIC COMPOUNDS CONTAINED IN DRIED APPLE**

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

The aim of this study was investigation of radical scavenging activity of apples dried by convection and with using the infrared and study of changes of radical scavenging activity during dried materials storages in different temperatures. Radical scavenging activity of apples reached about 70% of raw material during convective drying. Statistically essential changes of radical activity and polyphenols content with relation to raw apples where not observed for infrared dried material. Radical scavenging activity and polyphenols content decrease took place during the storage. Infrared dried material was characterized by higher rate of decrease, nevertheless it gained the ability to scavenging free radicals and polyphenols content on the level exceeding suitable convective dried material values. The research proved the positive correlation existence between radical scavenging activity and polyphenols content.

**Key words:** radical scavenging activity, poliphenols content, convective drying, infrared drying 

KATARZYNA SADOWSKA

## OWOCE OSTROPESTU PLAMISTEGO JAKO PROZDROWOTNY DODATEK DO PIECZYWA

### Streszczenie

Celem pracy była ocena zawartości związków biologicznie czynnych (kompleksu flawonolignanów, określanych zbiorczo jako sylimaryna) i innych składników owoców ostropestu plamistego, jako potencjalnego dodatku do pieczywa oraz określenie wpływu różnych dawek zmielonych owoców na jakość pieczywa. Poziomy dodatku dobrano tak, aby dietetyczne dawki sylimaryny stanowiły 10% dawek leczniczych. W suchej masie owoce zawierały: 2,83% sylimaryny, 16,0% białka ogółem z dominującym wśród aminokwasów kwasem glutaminowym, 20,6% tłuszczu, w którym największy udział stanowił kwas linoowy (54,7%) oraz 24,2% włókna surowego. Zastosowane dawki owoców ostropestu - 0,4, 0,84, 1,4 g do 250 g ciasta nie wpłynęły na zmiany smaku, zapachu, barwy oraz cech fizykochemicznych pieczywa.

**Słowa kluczowe:** ostropest plamisty, sylimaryna, flawonolignany, pieczywo pszenne, żywność prozdrowotna

### Wprowadzenie

Żywność funkcjonalna wywiera wpływ na poprawę stanu zdrowia, zmniejsza ryzyko pojawienia się chorób oraz spowalnia procesy starzenia się organizmu [3, 4, 7]. Za wywoływanie wyżej wymienionych efektów odpowiadają substancje biologicznie aktywne, które mogą być dodane do żywności lub występować naturalnie w surowcach zasobnych w odpowiednie fitozwiązki. Substancje wzbogacające o działaniu prozdrowotnym często określa się mianem nutraceutyków [7]. Żywność prozdrowotna może mieć szczególne znaczenie we wspomaganiu leczenia chorób przewlekłych, do których można zaliczyć niektóre choroby wątroby. W związku z licznymi funkcjami wątroba jest najbardziej narażona na wpływ czynników uszkadzających, w tym zwłaszcza nadużywanie alkoholu, wirusowe zapalenie wątroby szczególnie typu B i C, leki, substancje toksyczne czy zastój żółci [20]. Jedną z podstawowych substancji używanych w terapii uzupełniającej chorób wątroby jest sylimaryna. Tą nazwą określane jest zespół flawonoli-

gnanów pozyskiwanych z owoców ostropestu plamistego (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.). Efektem działania sylimaryny jest ochrona wątroby przed czynnikami toksycznymi oraz wspomaganie procesów regeneracji w uszkodzonym narządzie [8, 20].

Surowcem farmaceutycznym ostropestu plamistego są owoce (niełupki). Zespół flawonolignanów kumulowany jest w suchej owocni. Sylimaryna jest kompleksem składającym się z sylibiny, sylidianiny, izosylibiny i sylikrystyny. Są to związki powstające z połączenia cząsteczki taksyfoliny należącej do flawonoidów z alkoholem koniferylowym [8].

Suszenie surowców flawonoidowych w temp. 120-150°C nie powoduje strat substancji czynnych, a nawet wpływa korzystniej na zawartość tych związków niż suszenie w niższej temperaturze [5].

Celem pracy była ocena zawartości związków biologicznie czynnych (kompleksu flawonolignanów, określanych zbiorczo jako sylimaryna) i innych składników owoców ostropestu plamistego, jako potencjalnego, ochronnego dla wątroby dodatku do pieczywa oraz określenie wpływu różnych dawek zmielonych owoców na jakość pieczywa.

### **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły owoce ostropestu plamistego pochodzące z doświadczenia polowego prowadzonego w 2005 r. w Stacji Badawczej ATR w Bydgoszczy. Analizy chemiczne dotyczyły całych niełupek ostropestu. Zawartość sylimaryny ogółem oznaczano metodą spektrofotometryczną [13]. Metoda ta stosowana jest standardowo w skupie surowca. Skład jakościowy i ilościowy kompleksu flawonolignanów oznaczano metodą RPHPLC-DAD w Instytucie Roślin i Przetworów Zielarskich w Poznaniu. Ponadto oznaczano: zawartość białka ogółem metodą Kjeldahla, (przelicznik azotowy – 6,25), skład aminokwasowy białka metodą chromatografii wysokociśnieniowej z OPA przy użyciu zestawu firmy Knauer, zawartość tłuszczu metodą Soxhleta [18], kwasy tłuszczowe [14, 16], włókno surowe metodą Hannenberga-Stohmana [17]. Oznaczenia wykonano na trzech, losowo pobieranych próbach, jedynie skład aminokwasowy i skład kwasów tłuszczowych na podstawie jednej próby zbiorczej.

W celu określenia potencjalnych strat sylimaryny w czasie pieczenia wykonano próbę z suszeniem owoców ostropestu w suszarce z wymuszonym obiegiem powietrza w temp. 60, 120, 180 i 240°C w ciągu 1 godz. Oznaczenia wykonywano w trzech powtórzeniach, masa prób wynosiła 10 g. Wyniki poddano analizie wariancji, a różnice oszacowano testem Duncana przy  $p = 0,05$ .

Próbną wypiekę wykonano metodą jednofazową w Zakładzie Badawczym Przemysłu Piekarskiego Sp. z o.o. w Bydgoszczy. Z jednej wielkości dodatku zmielonych owoców ostropestu wykonywano dwa powtórzenia. W składzie recepturowym użyto 400 g mąki pszennej typu 500, 3% drożdży, 2% soli oraz wodę w ilości odpowiadającej konsystencji ciasta 350 j.B. Dodatek stanowiły zmielone owoce ostropestu w ilości: 0,4; 0,84;

1,4 g. Dodatki wzbogacające ustalono tak, aby dzienna dawka sylimaryny, przy założeniu spożycia chleba o masie 250 g, była dziesięciokrotnie niższa od dawki terapeutycznej (wg informacji podanych przez producenta preparatów Sylimarol, Sylivit). Ciasto poddawano fermentacji dwustopniowej w temp. 30°C, przy wilgotności 70%. Fermentacja początkowa trwała 1 godz. z przebicciem ciasta po 30 min, następnie odważano kęsy po 250 g i umieszczano w foremkach. Równocześnie wypiekano chleb kontrolny, bez dodatku owoców ostropestu, z kęsów o masie 250 g. Fermentację końcową prowadzono do brzegu foremki. Wypiek wykonywano w temp. 230°C przez 30 min. Otrzymane chleby pszenne oceniano według PN [15], określając cechy sensoryczne oraz stratę piecową całkowitą, kwasowość, wilgotność, gęstość miękiszu i objętość.

### Wyniki i dyskusja

Według Polskiej Normy [12] minimalna zawartość sylimaryny w surowcu powinna wynosić 2,5% s.m. owoców. Zawartość sylimaryny w badanym materiale wynosiła 2,83% w s.m. owoców (tab. 1). Według danych literaturowych [8, 11] zawartość ta może wynosić, w zależności od miejsca pochodzenia surowca, od 1,0 do 3,0%. Metoda HPLC pozwala wskazać udział poszczególnych składników sylimaryny. W badanym materiale przeważała sylibina, która jest mieszaniną sylibiny A i B w stosunku 1:1 [8]. Sylibina odpowiada głównie za efekt terapeutyczny [11].

Tabela 1

Zawartość sylimaryny i jej składników w owocach ostropestu płamistego.  
Content of silymarin and its components in the milk thistle fruits.

Wyszczególnienie Specification	Zawartość Content [% s.m. / d.m.]	Udział w kompleksie sylimaryny [%] Percent of silymarin complex [%]
Metoda spektrofotometryczna Spectrophotometric method	2,83 ± 0,08	-
Metoda HPLC HPLC method	2,34 ± 0,35	-
Składniki / Compounds		
- sylibina / silybin	0,81	34,62
- izosylibina / isosilybin	0,25	10,68
- sylikrystyna / silychristin	0,68	29,06
- sylidianina / silydianin	0,32	13,67
- taksyfolina / taxifolin	0,28	11,97

Badane owoce ostropestu charakteryzowały się stosunkowo dużą zawartością oleju wynoszącą 20,6%. Wśród kwasów tłuszczowych dominował kwas linolowy oraz

oleinowy (tab. 2). Podobny zakres i skład podają także inni autorzy [2, 8, 11, 22]. Ze względu na wysoki udział kwasu linolowego, należącego do grupy NNKT, [9, 21], olej ten może być stosowany w żywieniu [2, 22].

Tabela 2

Udział kwasów tłuszczowych w oleju z owoców ostropestu plamistego.  
Content of fatty acids in the milk thistle fruit oil.

Kwasy tłuszczowe nienasycone Unsaturated fatty acids	Zawartość [%] Content [%]	Kwasy tłuszczowe nasycone Saturated fatty acids	Zawartość [%] Content [%]
Jednonienasycone / Monounsaturated		mirystynowy (C 14:0) / myristic	0,09
margarynowy (C16:2) / margarinic	0,05	palmitynowy (C 16:0) / palmitic	8,59
oleinowy (C 18:1) / oleic	22,99	palmitooleinowy (C 17:0) palmitoleic	0,09
gadleinowy (C 20:0) / gadleinic	1,00	stearynowy (C 18:0) / stearic	5,28
Suma / Sum	24,04	arachidowy (C 20:0) / arachic	3,59
Wielonienasycone / Polyunsaturated		behenowy (C 22:0) / behenic	2,89
linolowy (C 18:2) / linoleic	54,73	Suma / Sum	20,53
linolenowy (C 18:3) / linolenic	0,27	-	-
kwas C 22:4 / Acid C 22:4	0,43	-	-
Suma / Sum	55,43	-	-

Badane owoce zawierały 16% białka ogółem. Wśród aminokwasów dominował kwas glutaminowy. Suma aminokwasów egzogennych wynosiła 22,10 g/100 g białka ogółem, a aminokwasem ograniczającym był tryptofan (tab. 3). Potkański i wsp. [19] podają wyższe wartości, ale dotyczą one oznaczeń wykonanych w materiale pochodzącym z owoców bez suchej owocni, powstałym jako produkt uboczny przy produkcji sylimaryny.

Zawartość włókna w owocach ostropestu wynosiła 24,2%. Wysoki poziom zawartości włókna wynikał z tego, że sucha owocnia, w której kumulowana jest sylimaryna, stanowiła od 45 do 50% masy niełupek.

Stosowane dodatki owoców ostropestu nie wpłynęły na smak chleba, który pozostał charakterystyczny dla pieczywa pszennego. Jest to bardzo istotne z uwagi na gorzkawy smak sylimaryny. Wszystkie doświadczalne chleby pszenne, niezależnie od wielkości dodatku owoców ostropestu, miały jasną barwę miękiszu oraz złocisty kolor skórki. Ciemny kolor niełupek ostropestu nie spowodował zmiany barwy wypieku niezależnie od wielkości dodatku owoców. Zapach pieczywa przy wszystkich zastosowanych dodatkach nie zmienił się i także pozostał typowy dla pieczywa pszennego. Oznacza to, że dodatek owoców ostropestu do pieczywa pszennego mógłby być wyższy. Optymalną ilością byłaby taka, która nie powoduje pogorszenia jakości pieczywa

i jednocześnie jest bezpieczna dla zdrowia. Wyniki wybranych cech fizykochemicznych wskazują na brak wpływu wielkości dodatku na jakość pieczywa (tab. 4).

Tabela 3

Skład aminokwasowy białka ostropestu plamistego.  
Amino acid composition of milk thistle protein.

Aminokwasy Amino acids	Zawartość [g/100 g białka ogółem] Content [g/100 g of total protein]	Aminokwasy egzogenne Exogenous amino acids	Zawartość [g/100 g białka ogółem] Content [g/100g of total protein]
Kwas asparaginowy Aspartic acid	6,93	Treonina / Threonine	2,91
Kwas glutaminowy Glutamic acid	15,43	Metionina / Methionine	0,86
Seryna / Serine	3,51	Walina / Valine	3,16
Histydyna / Histidine	2,59	Fenyloalanina Phenylalanine	3,31
Glicyna / Glycine	4,35	Izoleucyna / Isoleucine	2,38
Alanina / Alanine	2,41	Leucyna / Leucine	4,88
Arginina / Arginine	6,18	Lizyna / Lysine	3,79
Tyrozyna / Tyrosine	3,19	Tryptofan / Tryptophan	0,81
Cysteina / Cysteine	1,21	Suma / Sum	22,10

Tabela 4

Cechy pieczywa wzbogaconego dodatkiem owoców ostropestu.  
Bakery products enriched with milk thistle fruit additives.

Wielkość dodatku Size of addition [g]	Strata piecowa całkowita [%] Total baking loss [%]	Objętość pieczywa [cm <sup>3</sup> V100] Bakery products volume [cm <sup>3</sup> V100]	Kwasowość miększu [stopnie] Acidity of crumb [degrees]	Wilgotność [%] Moisture [%]	Gęstość miększu Crumb density	
					[g/cm <sup>3</sup> ]	Skala Dallmana Scale Dallman's
0	12,2	358	2	45	0,30	60
0,4	10,8	352	2	45	0,30	60
0,84	12,8	348	2	45	0,29	60
1,4	10,8	348	2	45	0,30	60

W uzyskanych wypiekach nie oznaczono zawartości sylimaryny, gdyż żadna z obowiązujących w Polsce metod nie ma zastosowania do produktów spożywczych. Wykonano natomiast analizy zawartości sylimaryny w owocach poddanych działaniu

temperatury w zakresie od 60 do 240°C. Wilgotność owoców przed suszeniem wynosiła 8%. Wykazano że strata sylimaryny następowała w temp. powyżej 120°C (tab. 5). W temperaturze 180 i 240°C dochodziło do rozkładu tłuszczu, który jest rozpuszczalnikiem sylimaryny. Temperatura miększu chleba podczas wypieku nie przekracza 100°C [1]. W celu poznania rzeczywistych zmian zawartości sylimaryny w owocach ostropestu, zachodzących podczas wypieku chleba, konieczne będzie opracowanie metody oznaczania zawartości sylimaryny w pieczywie pszennym.

Tabela 5

Wpływ temperatury suszenia na zawartość sylimaryny w owocach ostropestu.  
Effect of drying temperature on the content of silymarin in milk thistle fruits.

Temperatura [°C] Temperature [°C]	Zawartość sylimaryny [%] Content of silymarin [%]
60	2,91 a*
120	3,04 a
180	1,32 b
240	0,45 c

\* Jednakowymi literami oznaczono wartości, które nie różnią się statystycznie istotnie / Values with the same letter do not statistically significantly differ

W innych badaniach składu chemicznego owoców ostropestu plamistego nie stwierdzono obecności substancji przeciwżywniowych [11]. Dobrze udokumentowane właściwości sylimaryny, duże bezpieczeństwo jej stosowania [6, 10] oraz wyniki badań własnych wskazują, że owoce ostropestu plamistego mogą być traktowane jako wartościowy dodatek do pieczywa o działaniu wspomagającym funkcje wątroby.

### Wnioski

1. Z uwagi na skład chemiczny, a w zwłaszcza zawartość sylimaryny, owoce ostropestu plamistego mogą stanowić cenny prozdrowotny dodatek do pieczywa.
2. Dodatek owoców ostropestu plamistego w ilości do 1,4 g na 250 g ciasta nie wpływa na zmianę cech sensorycznych oraz fizykochemicznych pieczywa pszenne.

*Na podstawie powyższych badań został zgłoszony wniosek patentowy P 379239.*

### Literatura


- [1] Ambroziak Z. (red.): *Piekarstwo i ciastkarstwo*. WNT. Warszawa 1988.
- [2] Baranyk P., Zeleny V., Zukalova H., Horejs P.: Olejnatost vybranych druhu alternativnich olejnin. *Rostl. Vyr.*, 1995, **41** (9), 4.

- [3] Darewicz M., Dziuba J., Panfil T.: Biologicznie aktywne składniki żywności funkcjonalnej w profilaktyce chorób nowotworowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **4** (37), 36-47.
- [4] Diplock A.T., Aggett P.J., Ashwell M., Bornet F., Fern E.B. Roberfroid B.M.: Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *Br. J. Nutr.*, 1999, **81** (Suppl. 1), 1-27.
- [5] Elbanowska A.: Suszenie i przechowywanie surowców zielarskich. IRiPZ, Poznań 1994.
- [6] Hu Z., Yang X., Chi Lui Ho P., Yong Chan. S., Nan Sia Heng P., Chan E., Duan W., Ling Koh H., Zhou S.: Herb-Drug Interactions. *Drugs*, 2005, **65** (9), 1239-1282.
- [7] Janicki A.: Żywność funkcjonalna – potrzeba żywieniowa czy promocja nowych wyrobów. *Bezpieczna Żywność*, 2001, **1**, 15-19.
- [8] Kohlmünzer S.: Farmakognozja. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2003.
- [9] Kunachowicz H., Czarnowska-Misztal E., Turlejska H.: *Zasady żywienia człowieka*. WSiP. Warszawa 2000.
- [10] Lutomski J.: *Ziołolecznictwo. Tradycja i przyszłość*. Tower Press. Gdańsk 2003.
- [11] Morazzoni P., Bombardelli E.: *Silybum marianum (Carduus marianus)*. *Fitoterapia*, 1995, **46**, **1**, 3-42.
- [12] PN-85/R-87018. Surowce zielarskie. Owoce suszone.
- [13] PN-91/R-87019. Surowce zielarskie. Pobieranie próbek i metody badań.
- [14] PN-EN ISO 5508: 1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych.
- [15] PN-A-74108: 1996. Pieczywo. Metody badań.
- [16] PN-EN ISO 5509: 2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych.
- [17] PN-EN ISO 6865: 2002. Pasze. Oznaczanie zawartości włókna surowego. Metoda z pośrednią filtracją.
- [18] PN-ISO 6492: 2005. Pasze. Oznaczanie zawartości tłuszczu.
- [19] Potkański A., Nowak W., Kujawa A.: Wykorzystanie bielma ostropestu (*Silybum marianum*) i kaszki kukurydzianej w późnym okresie odchowu cieląt. *Rocz. AR Poznań, Zootechnika*, 1991, **229**, 85-93.
- [20] Ptasznik A.: Rola sylimaryny w zapobieganiu i leczeniu chorób wątroby. *Post. Fitoterapii*, 2004, **4**, **14**, 189-190.
- [21] Sikorski Z.: *Chemia żywności*. WNT, Warszawa 2002.
- [22] Szczucińska A., Lipkowski A., Baranowska B., Walisiewicz-Niedbalska W., Rózycki K., Maciuszczak-Kotlarek H.: Utylizacja odpadu nasion ostropestu plamistego. Cz. I. Olej z ostropestu plamistego jako antyutleniacz. *Rośliny Oleiste* 2003, **24**, 717-724.

#### FRUITS OF MILK THISTLE AS A HEALTH-ENHANCING ADDITIVE TO BAKERY PRODUCTS

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

The aim of this research was to evaluate the content of biologically active compounds (flavonolignan complex, together referred to as silymarin) and other components of milk thistle fruits, as a potential additive to bakery products and to determine the effect of different doses of ground fruits on the bakery products quality. The additives levels were selected in such a way as to make the dietetic doses of silymarin account for 10% of medicinal doses. The dry matter of fruits included 2,83% of silymarin, 16,0% of total protein with the glutamic acid dominant among amino acids, 20,6% of oil with linolic acid accounting for the greatest share (54,7%) and 24,2 % of crude fibre. The milk thistle fruit doses applied 0,4 g, 0,84 g, 1,4 g for every 250 g of dough did not change the flavour, smell, colour and physicochemical properties of the bakery products.

**Key words:** milk thistle, silymarin, flavonolignans, wheat bakery products, health-enhancing foods 



URSZULA SAMOTYJA, MARIA MAŁECKA, ANNA CHMIELNIK

## OCENA ZMIAN OKSYDACYJNYCH W PRAŻYNKACH ZIEMNIACZANYCH Z WYKORZYSTANIEM TECHNIKI HEADSPACE

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian oksydacyjnych zachodzących w przechowywanych prażynkach ziemniaczanych poprzez ocenę powstawania heksanalów z zastosowaniem techniki headspace i porównanie uzyskanych wyników z oznaczonymi wartościami liczby nadtlenkowej. Próbki prażynek ziemniaczanych, bez dodatków, a także próbki wzbogacone po usmażeniu dodatkiem  $\alpha$ -tokoferolu, ekstraktu z rozmarynu i z pestek czarnej porzeczki oraz syntetycznego przeciwutleniacza BHT, przechowywano 2 miesiące w warunkach przyspieszonego starzenia (temp. 40°C), bez dostępu światła. W miarę upływu czasu przechowywania zwiększała się zawartość heksanalów w prażynkach oraz nadtlenków w wyekstrahowanym tłuszczu. Spośród zastosowanych dodatków jedynie  $\alpha$ -tokoferol opóźniał zmiany oksydacyjne we frakcji tłuszczowej prażynek, podczas gdy dodatek ekstraktów roślinnych pozostał bez wpływu na stabilność tłuszczu w badanym produkcie. Przebieg utleniania, oceniany poprzez oznaczanie zawartości nadtlenków oraz heksanalów, był zbliżony. Stwierdzono silną dodatnią korelację ( $r = 0,99$ ) między zawartością heksanalów w prażynkach a zawartością nadtlenków w wyekstrahowanym tłuszczu. Heksanal może być wskaźnikiem zmian oksydacyjnych w prażynkach, a jego oznaczenie pozwala uniknąć pracochłonnych i wymagających użycia znacznej ilości rozpuszczalników metod ekstrakcyjnych.

**Słowa kluczowe:** heksanal, headspace, SHS-GC, utlenianie, prażynki, związki lotne

### Wprowadzenie

W ostatnich latach w Polsce nastąpił gwałtowny rozwój rynku produktów przekąskowych, m.in. czipsów i frytek. Roczne spożycie czipsów wykazuje tendencję rosnącą i obecnie wynosi ok. 1 kg/mieszkańca, a frytek – 4 kg/mieszkańca [1]. Zarówno ilość, jak i jakość zawartego w tych produktach tłuszczu może decydować o wpływie ich spożycia na zdrowie konsumenta. W aspekcie wzrastającego spożycia tłuszczów ogółem, zapewnienie i utrzymanie wysokiej jakości tłuszczów żywności oraz jej kontrolowanie nabiera szczególnego znaczenia.

---

*Dr inż. U. Samotyja, dr hab. M. Małecka, prof. AE, mgr inż. A. Chmielnik, Katedra Towaroznawstwa Artykułów Spożywczych, Akademia Ekonomiczna, Al. Niepodległości 10, 60-967 Poznań*

Obok tradycyjnych metod oznaczania produktów oksydacji kwasów tłuszczowych, takich jak np. liczba nadtlenkowa, zawartość dienów sprzężonych, próba z kwasem tiobarbiturowym, stosuje się metody chromatograficzne. Wskaźnikiem zmian oksydacyjnych w lipidach żywności może być bowiem zawartość związków lotnych, a techniki chromatografii gazowej mogą stanowić alternatywę lub uzupełnienie metod analizy sensorycznej, jako czułe i precyzyjne narzędzie wykrywania zmian oksydacyjnych [6]. Stosuje się m.in. oznaczanie zawartości heksanal, charakterystycznego produktu oksydacji kwasu linolowego, który jest wykorzystywany jako marker zmian oksydacyjnych w produktach spożywczych [7, 18]. Istotą analizy headspace jest uzyskanie równowagi między próbką a statyczną przestrzenią gazową nad nią (headspace). Przejście związków lotnych z próbki do przestrzeni nad próbką następuje w komorze urządzenia po uprzednim kondycjonowaniu próbki. Po osiągnięciu stanu równowagi, stężenia składników lotnych w przestrzeni gazowej są proporcjonalne do stężenia analitów w próbce. Następnie faza gazowa jest nastrzykiwana bezpośrednio na kolumnę, gdzie następuje jej rozdział [6].

Celem pracy było określenie zmian oksydacyjnych zachodzących w przechowywanych prażynkach ziemniaczanych poprzez ocenę powstawania heksanal z zastosowaniem techniki headspace i porównanie uzyskanych wyników z oznaczonymi wartościami liczby nadtlenkowej.

### **Material i metody badań**

Przedmiotem badań były prażynki ziemniaczane zakupione u producenta oraz przeciwutleniacze: ekstrakt z pestek czarnej porzeczki, otrzymany w warunkach laboratoryjnych [10], handlowy ekstrakt z rozmarynu pochodzący od producenta X,  $\alpha$ -tokoferol ( $\geq 99\%$ , Fluka, Niemcy) oraz syntetyczny przeciwutleniacz butylohydroksytoluen - BHT (Sigma-Aldrich, Niemcy). Składniki prażynek ziemniaczanych: pelety ziemniaczane, olej roślinny. Produkt opakowany był w przezroczystą folię z polipropylenu. Deklarowany minimalny okres trwałości produktu wynosił 2 miesiące.

Prażynki ziemniaczane spryskiwano równymi objętościami etanolowych roztworów przeciwutleniaczy o stężeniach tak dobranych, aby w stosunku do masy tłuszczu  $\alpha$ -tokoferol stanowił dodatek 0,02%, ekstrakt z pestek czarnej porzeczki 0,3%, ekstrakt z rozmarynu 0,02%, a BHT 0,003%. Badaniom poddano prażynki wzbogacone dodatkiem przeciwutleniaczy, a także próby bez dodatków (próba kontrolna). Próby przechowywano w słojach, w temp. 40°C, bez dostępu światła.

Ocenę zmian oksydacyjnych przeprowadzono poprzez oznaczanie zawartości heksanal w prażynkach oraz nadtlenków w wyekstrahowanym tłuszczu w dniu założenia doświadczenia, tj. 7 dni po wyprodukowaniu, oraz w 5., 11., 31. i 59. dniu inkubacji prób.

*Oznaczanie wilgotności i zawartości tłuszczu w prażynkach ziemniaczanych*

Oznaczenie wilgotności przeprowadzono według PN-A-74702 [13], a zawartości tłuszczu zgodnie z PN-A-74780 [14]).

*Przygotowanie próbek do oznaczania heksanal*

Sporządzano podstawowy roztwór wzorcowy heksanal (98% GC, Sigma–Aldrich, Niemcy), zawierający ok. 2 mg wzorca w 1 ml oleju rzepakowego (Kujawski, Z.T. Kruszwicka) wolnego od heksanal (GC). Następnie z roztworu podstawowego uzyskiwano kolejne rozcieńczenia heksanal w oleju rzepakowym w zakresie od 0,0008 do 0,04 mg/ml. Tak przygotowane rozcieńczenia wzorca w oleju rzepakowym posłużyły do sporządzenia krzywej wzorcowej: olej bez dodatku wzorca (próbka kontrolna) oraz olej z dodatkiem odpowiednich ilości heksanal dodawano w ilości 0,5 ml do 2 g rozdrobnionych świeżych próbek prażynek, umieszczonych w szklanych ampułkach. Ampułki zamykano septą, a ich zawartość mieszano. Olej rzepakowy stanowił nośnik ułatwiający równomierne rozprowadzenie substancji wzorcowej w próbkach prażynek. Ze względu na znaczący wpływ matrycy na ustalanie się równowagi międzyfazowej, a tym samym na wyniki analizy headspace [5], badane próbki (próbki kontrolne oraz próbki z dodatkiem przeciwutleniaczy) przygotowywano w podobnych matrycach, jak próbki służące do przygotowania krzywej wzorcowej. Dodatek oleju może spowodować zniżenie wyników analizy headspace [3], dlatego w celu zachowania zbliżonych warunków do rozdrobnionych próbek badanych prażynek również dodawano 0,5 ml oleju, jednak bez dodatku wzorca.

*Oznaczanie zawartości heksanal w prażynkach ziemniaczanych*

Zawartość heksanal oznaczano metodą chromatografii gazowej, przy wykorzystaniu techniki statycznego headspace'u (ang. static headspace, SHS-GC). Badania przeprowadzono przy użyciu chromatografu gazowego Varian 3800 wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny, automatyczny układ dozowania próbek Tekmar 7000 i oprogramowanie Varian Star. Do rozdziału związków zastosowano kolumnę CP Sil 8CB (30 m x 0,53 mm x 1,5 µm). Zastosowano warunki programowanej temperatury: wzrost od 40°C (utrzymywanych przez 2 min) do 100°C (8°C/min), a następnie do poziomu 200°C (20°C/min), który utrzymywano przez 5,5 min. Temp. detektora wynosiła 220°C. Jako gaz nośny zastosowano hel.

Próbki kondycjonowano w komorze aparatu w temp. 50°C, 20 min bez mieszania, a następnie 10 min przy włączonej opcji mieszania. Warunki analizy headspace: nadciśnienie 35 kPa, czas doładowywania ciśnienia 0,5 min, czas równoważenia ciśnienia 0,1 min, czas napełniania pętli dozującej 1 min, czas równoważenia pętli 0,1 min, czas dozowania 0,5 min, temp. pętli dozującej 110°C, temp. linii transferowej 120°C, natę-

żenie przepływu płuczącego 60 ml/min. Identyfikacji heksanal dokonywano przez porównywanie czasów retencji rozdzielonych związków i substancji wzorcowej.

#### Oznaczanie zawartości nadtlenków w prażynkach ziemniaczanych

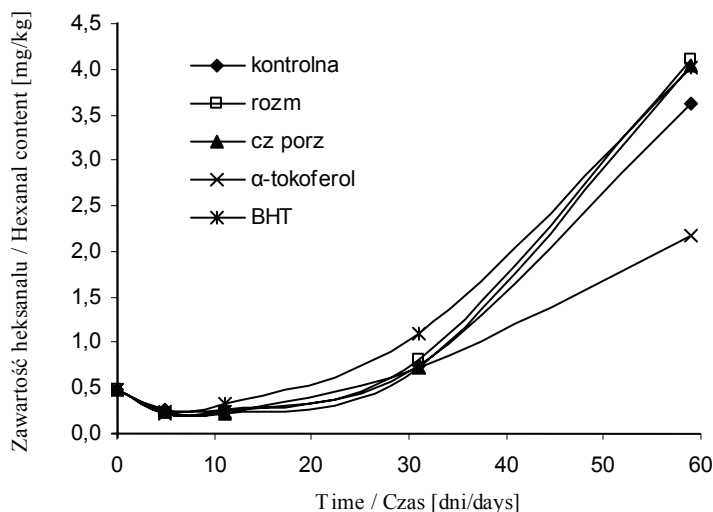
Przed oznaczaniem nadtlenków ekstrahowano tłuszcz z próbki [4]. Zawartość nadtlenków (LOO) w wyekstrahowanym tłuszczu oznaczano według PN-ISO 3960 [15].

Wyniki przedstawione w pracy stanowią średnią arytmetyczną z dwóch powtórzeń, wykonywanych z tej samej próbki i w dwóch powtórzeniach serii.

#### Wyniki i dyskusja

Wilgotność badanych prażynek wynosiła 4%, a zawartość tłuszczu 33%. Wartości te spełniają wymagania normy PN-A-74780 [14], która dopuszcza wilgotność przekąsek ziemniaczanych nie wyższą niż 5%, a zawartość tłuszczu nie wyższą niż 45%.

Badania wykazały, że w miarę upływu czasu przechowywania w próbkach prażynek zwiększała się zawartość heksanal (rys. 1) oraz nadtlenków (tab. 1). Spośród zastosowanych dodatków, jedynie  $\alpha$ -tokoferol opóźnił zmiany oksydacyjne we frakcji tłuszczowej prażynek.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

kontrolna – próbka kontrolna / control sample; rozm – próbka z ekstraktem z rozmarynu 0,02% / plus rosemary extract 0,02%; cz porz – próbka z ekstraktem z pestek czarnej porzeczki 0,3% / plus blackcurrant seeds extract 0,3%;  $\alpha$ -tokoferol – próbka z  $\alpha$ -tokoferolem 0,02% / plus  $\alpha$ -tocopherol 0,02%; BHT – próbka z butylohydroksytoluenem 0,003% / plus butylated hydroxytoluene 0,003%.

Rys. 1. Zawartość heksanal w prażynkach ziemniaczanych przechowywanych w temp. 40°C.

Fig.1. Hexanal content in potato chips stored at 40°C.

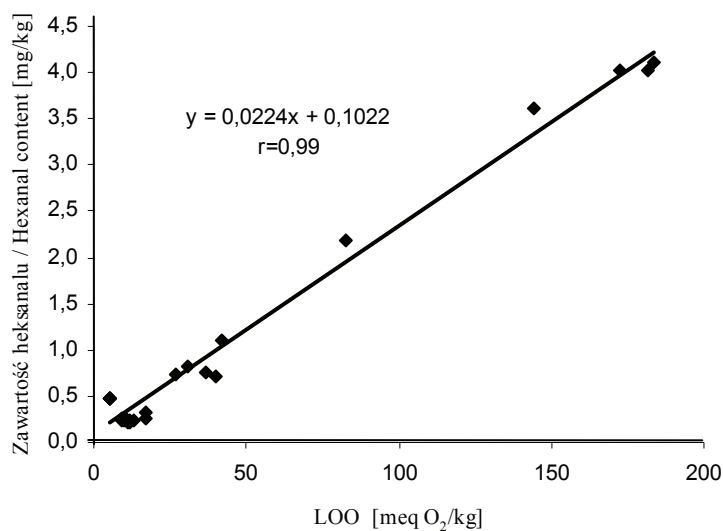
Tabela 1

Liczba nadtlenkowa tłuszczu wyekstrahowanego z prażynek ziemniaczanych przechowywanych w temp. 40°C [meq O<sub>2</sub>/kg].

Peroxide value of fat extracted from potato chips stored at 40°C [meq O<sub>2</sub>/kg].

Czas [dni] Time [days]	Próbka Sample				
	kontrolna control x ±SD	+ ekstrakt z roz- marynu 0,02% + rosemary extract 0,02% x ±SD	+ ekstrakt z pestek czarnej porzeczki 0,3% + black-currant seeds extract 0,3% x ±SD	+ α-tokoferol 0,02% + α-tocopherol 0,02% x ±SD	+ BHT 0,02% x ±SD
0	5,0± 0,1	5,0± 0,1	5,0± 0,1	5,0± 0,1	5,0± 0,1
5	9,2± 0,4	11,3± 0,2	10,3± 0,3	9,8± 0,3	9,5± 0,2
11	17,0± 0,5	12,1± 0,2	11,8± 0,2	13,3± 0,2	16,8± 0,5
31	36,8± 0,7	31,0± 0,9	40,2± 1,3	26,8± 0,6	42,1± 1,1
59	144,0± 1,1	183,6± 1,5	172,2± 3,7	82,3± 2,0	181,4± 3,5

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



Rys. 2. Funkcja regresji dotycząca zależności między liczbą nadtlenkową (LOO) w wyekstrahowanym tłuszczu a zawartością heksanal w prażynek ziemniaczanych przechowywanych w temp. 40°C.

Fig. 2. Regression function between hydroperoxide value (LOO) in extracted fat and hexanal content in potato chips stored at 40°C.

Początkowa zawartość nadtlenków w badanym produkcie wynosiła 5 meq O<sub>2</sub>/kg wyekstrahowanego tłuszczu (tab. 1). Jest to dosyć wysoka wartość, zważywszy na fakt, że badaniom poddano prażynki w ciągu tygodnia od wyprodukowania. Zgodnie z wymaganiami normy PN-A-74780, liczba nadtlenkowa wyekstrahowanego tłuszczu nie powinna przekraczać 3 Lea, co odpowiada 6 meq O<sub>2</sub>/kg tłuszczu (PN-ISO 3960 [15]).

Przebieg utleniania, oceniany poprzez oznaczanie zawartości nadtlenków oraz heksanal, był zbliżony. Stwierdzono silną dodatnią korelację między zawartością nadtlenków w wyekstrahowanym tłuszczu a zawartością heksanal w prażynkach (rys. 2).

Opóźnianie zmian oksydacyjnych w prażynkach ziemniaczanych jest celowe ze względu na wysoką zawartość tłuszczu. Wójcik-Stopczyńska i Grzeszczuk [19] stwierdzili przekroczenie wymagań normy PN-A-74780 w zakresie liczby kwasowej i nadtlenkowej w tłuszczu pochodzącym z części prób czipsów zakupionych w sieci handlowej w Szczecinie. Rezultaty badań przeprowadzonych przez innych autorów dowodzą, że rodzaj tłuszczu użytego do smażenia znacząco wpływa na jakość produktów przekąskowych [12]. Kita i Lisińska [8] stwierdziły, że czipsy smażone w tłuszczu utwardzonym charakteryzowały się większą stabilnością oksydacyjną, jednakże chłoneły one więcej tłuszczu niż czipsy smażone w oleju płynnym.

Wyniki własnych oznaczeń zawartości produktów utleniania w prażynkach ziemniaczanych wskazują, że spośród zastosowanych dodatków, tylko  $\alpha$ - tokoferol wpływał na przedłużenie trwałości produktu w czasie przechowywania. Niską aktywność ekstraktu z rozmarynu i z pestek czarnej porzeczki, będących źródłem związków fenolowych [16] oraz BHT można tłumaczyć tym, że wyjściowa zawartość nadtlenków w tłuszczu prażynek była zbyt wysoka. Wcześniejsze badania [2, 11] wykazały, że w inhibicji wczesnych zmian oksydacyjnych kluczową rolę odgrywają przeciwutleniacze fenolowe, podczas gdy  $\alpha$ - tokoferol działa skuteczniej w późniejszej fazie, przy wyższym stopniu nagromadzenia się pierwotnych produktów utleniania. Uzasadnione więc wydaje się być stabilizowanie tłuszczu smaźalniczego jeszcze przed rozpoczęciem smażenia prażynek, co wymagałoby przeprowadzenia kolejnych badań, gdyż drastyczne warunki temperaturowe wpływają na zmianę mechanizmu oksydacji oraz obniżają stabilność przeciwutleniaczy [5, 17]. Wiadomo jednak, że w pewnym stopniu aktywność przeciwutleniająca składników ekstraktów z rozmarynu może być utrzymana w podwyższonych zakresach temperatury, a nawet przenosić się do produktu (efekt „carry through”) [6, 9].

## Wnioski

1. Istnieje silna dodatnia korelacja między zawartością nadtlenków w wyekstrahowanym tłuszczu a zawartością heksanal w prażynkach.
2. Heksanal może być wskaźnikiem zmian oksydacyjnych w prażynkach, a jego oznaczenie pozwala uniknąć pracochłonnych i wymagających użycia znacznej ilo-

ści rozpuszczalników metod ekstrakcyjnych, stosowanych przy oznaczaniu liczby nadtlenkowej.

*Prace zrealizowano w ramach projektu nr PBZ-KBN-020/P06/16.*

### Literatura

- [1] Anonim: Rynek ziemniaka – stan i perspektywy, Analizy Rynkowe. Instytut Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej, Agencja Rynku Rolnego, Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Listopad 2005.
- [2] Blekas G., Tsimidou M., Boskou D.: Contribution of  $\alpha$ -tocopherol to olive oil stability. *Food Chem.*, 1995, **52**, 289-294.
- [3] Chen M., Reineccius G.A.: The influence of fat on the determination of food aroma in model systems during storage. In: *Food flavors: formation, analysis and packaging influences* – ed. E.T. Contis i in. Elsevier, Amsterdam 1998, pp. 573-582.
- [4] Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, *J. Biol. Chem.*, 1957, **226**, 497-509.
- [5] Frankel E.N.: In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids, *Trends Food Sci. Technol.*, 1993, **4**, 220-225.
- [6] Frankel E.N.: *Lipid Oxidation*. The Oily Press Ltd. Dundee 1998.
- [7] Gordon, M. H.: Measuring antioxidant activity. In: *Antioxidants in food: Practical applications* – ed. J. Pokorny i N. Yanishlieva, M. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge 2001, pp. 71-84.
- [8] Kita A., Lisińska G.: Wpływ rodzaju tłuszczu smażalniczego na właściwości sensoryczne czipsów ziemniaczanych podczas przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **1 (38)**, 55-64.
- [9] Lalas S., Dourtoglou V.: Use of rosemary extract in preventing oxidation during deep – fat frying of potato chips, *JAOCS*, 2003, **80**, 579-583.
- [10] Pacholek B., Małecka M.: Pestki z czarnej porzeczki jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy, *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, 2000, **XXI**, **2**, 675-682.
- [11] Papadopoulos G., Tsimidou M., Boskou D.: Stability of virgin olive oil: assessment of natural antioxidants and other related factors. *Proceedings of the 7th International Flavor Conference, Pythagorion, Samos, Greece, 24-26 June 1992*, Elsevier, Amsterdam 1993, pp. 321-326.
- [12] Petukhov I., Malcolmson L.J., Przybylski R., Armstrong L.: Storage stability of potato chips fried in genetically modified canola oils, *JAOCS*, 1999, **76**, 889-896.
- [13] PN-A-74702:1978. Spożywcze przetwory ziemniaczane. Metody badań.
- [14] PN-A-74780. Przetwory ziemniaczane. Smażone przekąski ziemniaczane.
- [15] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej.
- [16] Samotyja U., Małecka M., Kuboszek A.: Stabilization of soybean oil triacylglycerols with black-currant seeds and rosemary extracts. *Current trends in Commodity Science, Proceedings of the 8th International Commodity Science Conference (IGWT), Poznań, Poland, August 28-September 4, 2005*, The Poznań University of Economics Publishing House 2005, vol. **II**, pp. 1196-1201.
- [17] Schwarz K., Ternes W., Schmauderer.: Antioxidative constituents of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* III. Stability of phenolic diterpenes of rosemary extracts under thermal stress as required for technological processes, *Z. Lebens. Unters. Forsch.*, 1992, **195**, 104-107.

- [18] Shahidi, F.: Indicators for evaluation of lipid oxidation and off-flavor development in food. W: Food flavors: Formation, analysis and Packaging Influences – ed. F. Shahidi, A.M. Spanier, E.T. Contis, C.-T. Ho, C.J. Mussinan i T.H. Parliament (Eds.), Elsevier, Amsterdam 1998, pp. 55-68.
- [19] Wójcik-Stopczyńska B., Grzeszczuk M.: Badanie jakości prób czipsów ziemniaczanych pochodzących z sieci handlowej, *Technologia Alimentaria*, **2** (2), 139-147.

### EVALUATION OF OXIDATIVE CHANGES IN POTATO CHIPS BY THE USE OF HEADSPACE ANALYSIS

#### S u m m a r y

The aim of this study was to evaluate of oxidative changes in potato chips by monitoring of hexanal formation with the use of the headspace analysis and to compare the results with peroxide values measurements. The samples of potato chips (without additives and enriched after frying in  $\alpha$ -tocopherol, rosemary extract, blackcurrant seeds extract and synthetic additive BHT) were subjected to an accelerated oxidation test (2 months, temperature 40°C) in the dark.

During storage the amount of hexanal in potato chips and the peroxide values of extracted lipid increased.  $\alpha$ -Tocopherol was the only additive that retarded oxidative changes, while the effect of other additives on lipid stability was negligible. The course of oxidation measured by hydroperoxides and hexanal formation was similar. The results show that there is a strong positive correlation ( $r=0.99$ ) between hexanal in potato chips and hydroperoxide value in extracted fat. Hexanal can be used as an indicator of oxidative changes in potato chips. Hexanal content measurements allow to avoid usage of time and solvents consuming methods of extraction.

**Key words:** hexanal, headspace, SHS-GC, oxidation, potato chips, volatiles 



MAGDALENA SKOTNICKA

## MATEMATYCZNY MODEL WPLYWU TEMPERATURY PRZECHOWYWANIA NA ZMIANY REOLOGICZNE MROŻONYCH CIAST DROŻDŻOWYCH

### Streszczenie

Przedmiotem badań było określenie wpływu temperatury przechowywania na zmiany strukturalne mrożonych ciast drożdżowych dwóch producentów A i B. Ciasta drożdżowe przechowywano przez sześć miesięcy w trzech różnych warunkach termicznych. W temp. stałej  $-12^{\circ}\text{C}$  i  $-22^{\circ}\text{C}$  oraz w temp. zmiennej ( $-12^{\circ}\text{C}/-22^{\circ}\text{C}$ ). W zależności od warunków termicznych badano zmiany stopnia czerstwienia na podstawie statycznych testów na ściskanie, wykorzystując urządzenie INSTRON 5543. W pracy wyznaczono modele matematyczne zmian naprężenia badanego kęsa ciasta poddanego ścisaniu oraz dokonano obliczeń statystycznych (współczynników: determinacji  $R^2$  i indeterminacji  $\phi^2$  oraz indeksu korelacji  $R$ ), umożliwiających wybór takiego równania, które najlepiej będzie opisywać zmiany badanej cechy zachodzące podczas przechowywania.

Wykazano, że najbardziej korzystnym wariantem przechowywania była temp.  $-22^{\circ}\text{C}$ . Ciasta składowane w takich warunkach charakteryzowały się najmniejszym stopniem czerstwienia, co pozwala sądzić, że procesy porządkowania form skrobiowych nie były zbyt zaawansowane. Stwierdzono, że najlepszym odzwierciedleniem charakteru zmian stopnia czerstwienia produktu w funkcji czasu w obydwu przypadkach była funkcja kwadratowa.

**Słowa kluczowe:** gotowe ciasta drożdżowe, stopień czerstwienia, retrogradacja skrobi, reologia

### Wprowadzenie

Ciasto drożdżowe jest produktem, który zachowuje swoje pożądane właściwości tylko przez krótki okres, kilku godzin po wypieku. Dużą rolę w tych niekorzystnych przemianach odgrywa miękisz, w którym od momentu wyjęcia z pieca i stygnięcia rozpoczyna się proces odparowywania wody, początkowo z powierzchni, a następnie z głębszych jego warstw. Przyczyną wielu niekorzystnych zmian jest przekształcanie się skrobi z formy amorficznej do krystalicznej. W celu ograniczenia tego procesu stosuje

się różne techniki minimalizujące, a jedną z nich jest zamrażanie wyrobów piekarskich i cukierniczych [1, 17].

Zamrażanie jest jedną ze skuteczniejszych technik utrwalania żywności. Mrożeniu poddaje się prawie wszystkie produkty spożywcze, głównie ze względu na zachowanie cech zdrowotnych i jakościowych produktu, przez zmniejszenie tempa zmian fizycznych, biochemicznych i mikrobiologicznych podczas zamrażania i w czasie przechowywania. Pomimo, że mrożenie jest sposobem dość radykalnym, to z uwagi na spowalnianie procesu czerstwienia najczęściej stosowanym. Nie oznacza to jednak całkowitego zahamowania tego zjawiska. Ciasta drożdżowe podczas przechowywania podlegają ciągłym przemianom fizykochemicznym, tylko ich intensywność jest różna i zależna od wielu czynników [13].

Do czynników kształtujących jakość mrożonych ciast drożdżowych podczas przechowywania należy temperatura i jej stabilność. Odpowiednia temperatura wpływa na przedłużenie trwałości, a niewłaściwa może przyspieszać niekorzystne przemiany, w szczególności związane ze strukturą mięksiszu ciast.

Celem pracy było określenie wpływu temperatury na właściwości strukturalne gotowych mrożonych ciast drożdżowych oraz próba stworzenia modelu matematycznego opisującego zmiany naprężenia ciasta w wyniku oddziaływania na badany produkt zmiennych warunków termicznych.

### **Material i metody badań**

Materiałem badawczym były gotowe wypieczone ciasta drożdżowe dwóch producentów A i B, składające się z mąki pszennej, tłuszczu roślinnego, cukru, jaj, drożdży, mleka w proszku, cukru waniliowego, soli, aromatu identycznego z naturalnym i beta-karotenu. Ciasta o masie 400g (+/-2g) zapakowane były w folię polietylenową. Wyroby gotowe z ciasta drożdżowego miały ten sam skład surowcowy a wi i skład chemiczny (tab. 1). Nie stosowano żadnych innych dodatków mogących wpływać na wynik oznaczenia. Materiał doświadczalny przechowywano przez sześć miesięcy w trzech różnych komorach przechowalniczych w warunkach:

- zmiennej temp. (-12°C/-22°C), którą inicjowano co 72 godz,
- stałej temp. -12°C,
- stałej temp. -22°C.

Większość dostępnych na rynku gotowych mrożonych ciast drożdżowych ma okres przydatności do spożycia od czterech do sześciu miesięcy, dlatego też badania prowadzono przez 180 dni. Przez ten okres, co 30 dni prowadzono badania reologiczne, wykorzystujące urządzenie INSTRON 5543. W literaturze istnieje wiele metod dzięki którym można wyznaczyć stopień czerstwienia [8, 15, 16]. Zastosowana metoda pomiaru stopnia czerstwienia w stosunku do innych metod cechuje się dużą dokładnością i powtarzalnością wyników. Metoda polegała na wykonaniu testów statycznych na

ściskanie rozmrożonego kęsa ciasta. Gotowe mrożone ciasta drożdżowe rozmrażano w całości w temperaturze pokojowej, następnie wycinano nożem kawałki ciasta o wymiarach 250 x 250 x 250 mm, poddawano próbie ściskania, przykładając siłę do osiągnięcia odkształcenia 65%, które uznano za graniczne, ponieważ po jego przekroczeniu, część próbek ulegała rozpadowi lub całkowitej deformacji. W badaniu zastosowano głowicę o maksymalnym obciążeniu 1 kN z zainstalowaną przystawką testów na ściskanie [7]. Każdorazowo badanie przeprowadzano w 10 powtórzeniach.

T a b e l a 1

Skład chemiczny gotowych ciast drożdżowych producentów A i B [g/100 g produktu].  
Chemical composition of yeast cake produced by A and B bakers [g/100 g product].

Zawartość składnika Compound content	Producent A / Producer A	Producent B / Producer B
Białko ogółem / Total protein	6,5	7,2
Sacharydy / Saccharides	53,6	50,5
Tłuszcz ogółem / Total fat	12,3	10,5
Sól NaCl / Salt NaCl	0,052	0,065
Woda / Water	25,4	30,2

Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczano modele matematyczne zmian naprężenia badanego ciasta poddanego ściskaniu oraz obliczano współczynniki: determinacji  $R^2$  i indeterminacji  $\phi^2$  oraz indeks korelacji, umożliwiające wybór takiego równania, które najlepiej będzie opisywać zmiany badanej cechy zachodzące w czasie przechowywania (tab. 2-7).

## Wyniki i dyskusja

Podczas przechowywania w gotowych ciastach drożdżowych, obok wysychania i utraty aromatu, zachodzi proces czerstwienia. Starzenie się ciasta powoduje wiele niekorzystnych zmian strukturalnych, związanych głównie z redystrybucją wody [6, 9]. Szybkość czerstwienia ciasta zależy od wielu czynników, wynikających z procesu technologicznego i warunków przechowywania. Stopień czerstwienia bardzo często jest parametrem decydującym o jakości, trwałości i przydatności produktu do spożycia. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że naprężenie potrzebne do odkształcenia 65% próbki ciasta systematycznie ulegało podwyższeniu w funkcji czasu. Zmiany naprężenia próbki w czasie uzależnione były od temperatury przechowywania ciasta (rys. 1 i 2).

Wpływ składowania w stałej temp.  $-22^{\circ}\text{C}$  na wzrost naprężenia nie był znaczny i wynosił 0,0125 MPa w cieście drożdżowym producenta A i 0,0146 MPa w cieście drożdżowym producenta B. W warunkach zmiennej i stałej temp.  $-12^{\circ}\text{C}$ , zmiany stop-

nia naprężenia były znaczne i wynosiły odpowiednio 0,0265 MPa i 0,0203 MPa w ciastach producenta A i 0,0281 MPa i 0,0256 MPa w ciastach producenta B. Zmienność temperatury w trakcie przechowywania doprowadziła do przyspieszonego procesu czerstwienia ciasta, co znalazło odzwierciedlenie w wysokich wartościach naprężenia ciasta po sześciu miesiącach przechowywania. Postępujący proces starzenia powodował, że w produkcji dochodziło do retrogradacji skrobi, która ze stanu amorficznego przechodziła w formę uporządkowaną, tworząc krystaliczną sieć. Zjawisku temu towarzyszyło wydzielanie wody, która migrowała w kierunku glutenu, a w cząsteczce skrobi powstawały wiązania poprzeczne [12, 14, 18].

Na uwagę zasługuje też fakt, że ciasta drożdżowe producenta B charakteryzowały się znacznie wyższą wartością naprężenia we wszystkich wariantach temperaturowych, w stosunku do ciasta producenta A. Stwierdzone zmiany, przy tych samych warunkach składowania i rodzaju opakowania, wynikać mogły ze składu chemicznego lub procesu technologicznego ciast drożdżowych [3, 4].

Kolejnym etapem badań było wyznaczenie matematycznych modeli zmian naprężenia ciasta. W pracy badano związki zachodzące między zjawiskami i cechami. Określono wpływ, jaki wywierała zmienna będąca „przyczyną” na zmienną będącą „skutkiem”. Formalnym zapisem tego były funkcje regresji które określały sposób przyporządkowania wartości zmiennej zależnej  $y$ , określonym wartościom zmiennej niezależnej  $x$  [10, 11].

Dokonano porównania trzech funkcji: liniowej, kwadratowej i wykładniczej oraz ich dopasowania do danych empirycznych, w celu wyboru modelu matematycznego, który najdokładniej opisywał zachodzące zmiany w badanych ciastach podczas przechowywania.

T a b e l a 2

Modele regresji opisujące zmiany naprężenia ciasta drożdżowego – producenta A – poddanego ścisaniu, w czasie przechowywania w temperaturze zmiennej (-12°C/-22°C).

Regression models explaining the changes of yeast cake stress of the A producer subjected to squeezing while stored at variable temperature (-12°C;-22°C).

Nazwa funkcji Type of function	Postać funkcji/ Function equation	R <sup>2</sup>	R	φ <sup>2</sup>
Funkcja liniowa Linear function	$y = 0,0001x + 0,0134$	0,9492	0,9743	0,0508
Funkcja kwadratowa Quadrant function	$y = 5E-07x^2 + 6E-05x + 0,0152$	0,9761	0,9880	0,0239
Funkcja wykładnicza Exponential function	$y = 0,01495e^{0,00572x}$	0,9769	0,9884	0,0231

Tabela 3

Modele regresji opisujące zmiany naprężenia ciasta drożdżowego – producenta A – poddanego ścisnaniu, w czasie przechowywania w temperaturze stałej -12°C.

Regression models explaining the changes of yeast cake stress of the A producer subjected to squeezing while stored at constant temperature -12°C.

Nazwa funkcji Type of function	Postać funkcji Function equation	R <sup>2</sup>	R	φ <sup>2</sup>
Funkcja liniowa Linear function	$y = 0,0001x + 0,0132$	0,9328	0,9658	0,0672
Funkcja kwadratowa Quadrant function	$y = 5E-07x^2 + 4E-05x + 0,0152$	0,9736	0,9867	0,0264
Funkcja wykładnicza Exponential function	$y = 0,0146e^{0,0053x}$	0,9739	0,9869	0,0261

Tabela 4

Modele regresji opisujące zmiany naprężenia ciasta drożdżowego – producenta A – poddanego ścisnaniu, w czasie przechowywania w temperaturze stałej -22°C.

Regression models explaining the changes of yeast cake stress of the A producer subjected to squeezing while stored at constant temperature -22°C.

Nazwa funkcji Type of function	Postać funkcji Function equation	R <sup>2</sup>	R	φ <sup>2</sup>
Funkcja liniowa Linear function	$y = 7E-05x + 0,0131$	0,9239	0,9612	0,0761
Funkcja kwadratowa Quadrant function	$y = 4E-07x^2 + 2E-06x + 0,0145$	0,9997	0,9998	0,0003
Funkcja wykładnicza Exponential function	$y = 0,0137e^{0,0025x}$	0,9553	0,9774	0,0447

Po dokonaniu zestawienia parametrów statystycznych analizowanych funkcji stwierdzono, że najlepiej dopasowana do danych empirycznych była funkcja kwadratowa, zgodnie z którą prawie 100% zmienności naprężenia we wszystkich wariantach temperaturowych było określone przez czas przechowywania, a tylko 0,1-0,4% zmienności naprężenia zależne było od innych czynników. Dostyżny wysoki indeks korelacji obliczonych funkcji, dotyczących wyrobów obu producentów, świadczył o znacznej sile związku pomiędzy czasem składowania a zmianami naprężenia, zarówno w ciastach drożdżowych przechowywanych w stałej, jak i w zmiennej temperaturze. Funkcja przyjmująca kształt paraboli najlepiej oddawała charakter zmian naprężenia ciasta

w czasie. Graficzny obraz stopnia czerstwienia na podstawie zmian naprężenia ciasta przedstawiono na rys. 1 i 2.

Tabela 5

Modele regresji opisujące zmiany naprężenia ciasta drożdżowego – producenta B – poddanego ścisłaniu, w czasie przechowywania w temperaturze zmiennej (-12°C;-22°C).

Regression models explaining the changes of yeast cake stress of the B producer subjected to squeezing while stored at variable temperature (-12°C;-22°C).

Nazwa funkcji Type of function	Postać funkcji Function equation	R <sup>2</sup>	R	φ <sup>2</sup>
Funkcja liniowa Linear function	$y = 0,0001x + 0,0103$	0,9626	0,9811	0,0374
Funkcja kwadratowa Quadrant function	$y = 2E-07x^2 + 1E-04x + 0,0110$	0,9676	0,9837	0,0324
Funkcja wykładnicza Exponential function	$y = 0,0113e^{0,0064x}$	0,9478	0,9735	0,0522

Tabela 6

Modele regresji opisujące zmiany naprężenia ciasta drożdżowego – producenta B – poddanego ścisłaniu, w czasie przechowywania w temperaturze stałej -12°C.

Regression models explaining the changes of yeast cake stress of the B producer subjected to squeezing while stored at constant temperature -12°C.

Nazwa funkcji Type of function	Postać funkcji Function equation	R <sup>2</sup>	R	φ <sup>2</sup>
Funkcja liniowa Linear function	$y = 0,0001x + 0,0108$	0,9636	0,9816	0,0364
Funkcja kwadratowa Quadrant function	$y = 2E-08x^2 + 1E-04x + 0,0109$	0,9637	0,9817	0,0363
Funkcja wykładnicza Exponential function	$y = 0,0114e^{0,0056x}$	0,9341	0,9665	0,0659

Ciasta drożdżowe są produktem, w którym zmiany strukturalne mają decydujące znaczenie w kształtowaniu jakości, dlatego tak ważne jest ich monitorowanie. Wykorzystanie zaproponowanej metody pomiaru zmian naprężenia gotowych ciast drożdżowych może być przyczynkiem do określenia stopnia sczerstwienia tych produktów. Na podstawie zmian naprężenia ciasta można wnioskować o innych niekorzystnych zmianach zachodzących w cieście, związanych głównie ze strukturą produktu.

Badania nad modelami oceny trwałości przechowalniczej produktów mają wymiar praktyczny, wynikający z ekonomicznych korzyści stosowania ich w praktyce. Dzięki metodom współzależności zjawisk można łatwo symulować i przewidywać wpływ różnych czynników na trwałość ciast drożdżowych [5].

Tabela 7

Modele regresji opisujące zmiany naprężenia ciasta drożdżowego – producenta Y – poddanego ściskaniu, w czasie przechowywania w temperaturze stałej -22°C.

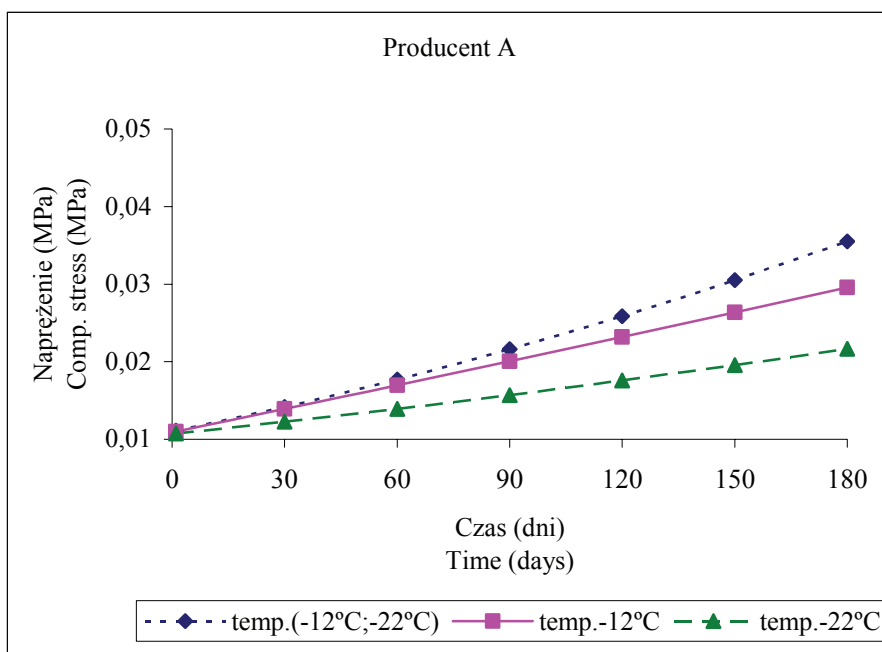
Regression models explaining the changes of yeast cake stress of the B producer subjected to squeezing while stored at constant temperature -22°C.

Nazwa funkcji Type of function	Postać funkcji Function equation	R <sup>2</sup>	R	φ <sup>2</sup>
Funkcja liniowa Linear function	$y = 7E-05x + 0,0107$	0,9612	0,9808	0,0388
Funkcja kwadratowa Quadrant function	$y = 6E-08x^2 + 7E-05x + 0,0107$	0,9612	0,9808	0,0388
Funkcja wykładnicza Exponential function	$y = 0,0111e^{0,0045x}$	0,9395	0,9693	0,0605

Objaśnienia/Explanatory notes:

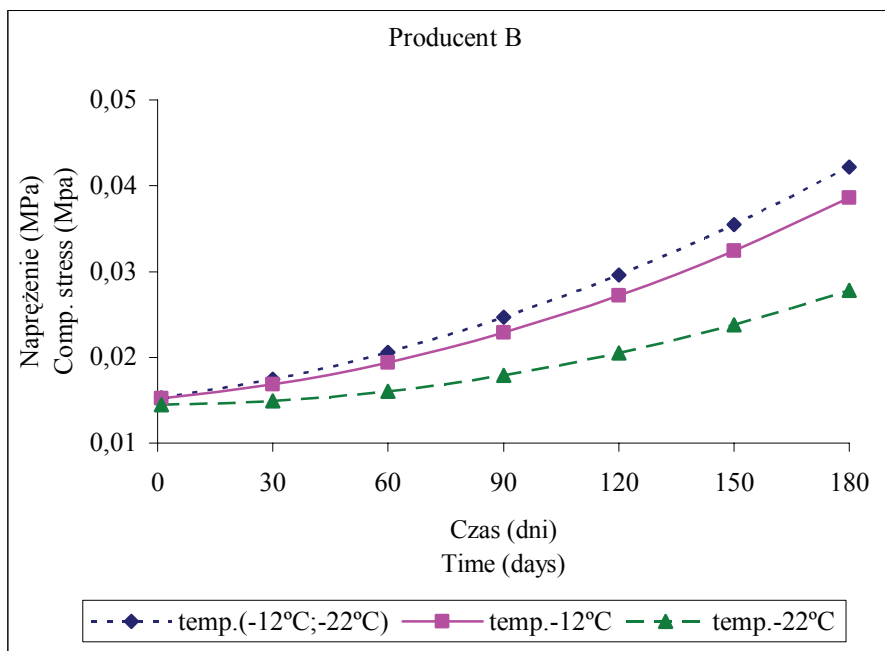
R<sup>2</sup>- współczynnik determinacji / determination coefficient; R – indeks korelacji / correlation index;

φ<sup>2</sup>-współczynnik indeterminacji / indetermination coefficient; y- zmienna zależna – naprężenie ciasta / dependent variable – cake stress; x- zmienna niezależna – czas przechowywania / independent variable – time of storage.



Rys. 1. Zależność zmian naprężenia ciast drożdżowych producenta A w funkcji czasu.

Fig. 1. The dependence of A producer yeast cake changes to stress in time function.



Rys. 2. Zależność zmian naprężenia ciast drożdżowych producenta B w funkcji czasu.

Fig. 2. The dependence of B producer yeast cake changes to stress in time function.

## Wnioski

1. Temperatura i jej stałość w funkcji czasu oraz czas przechowywania mrożonych ciast drożdżowych znacząco determinowały zachowanie pierwotnych właściwości strukturalnych produktu.
2. Najmniejszą dynamikę zmian naprężenia ciasta stwierdzono w ciastach drożdżowych przechowywanych w temperaturze -22°C.
3. Ciasta drożdżowe producenta B charakteryzowały się większą dynamiką zmian badanej cechy niż ciasta producenta A.
4. Najlepiej dopasowaną funkcją opisującą zmiany strukturalne gotowych ciast drożdżowych była funkcja kwadratowa, we wszystkich wariantach temperaturowych. Dobry poziom dopasowania do danych empirycznych został potwierdzony wysokimi wartościami indeksu korelacji, co oznacza, że funkcja ta może być stosowana do prognozowania zachodzących zmian.

## Literatura

- [1] Barcenas M.E., Rosell C.M.: Effect of frozen time on the bread crumb and aging of par-baked bread. Food Chem., 2006, **95**, 438-445.



- [2] Ceglińska A., Cacak-Pietrzak G., Haber T.: Porównanie jakości pieczywa pszenżytniego, pszennego i żytniego. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2003, **11**, 2-6.
- [3] Ceglińska A., Haber T., Leszczyński K., Wituski P.: Wpływ opakowania na jakość i trwałość pieczywa. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2000, **4**, 2-4.
- [4] Drabent R.: *Reologia*. WART. Olsztyn 1996.
- [5] Fik M., Michalczyk M., Surówka K., Maciejaszek I.: Characterisation of the staling process of wholemeal. *Food Nutr. Sci.*, 2000, **2**, 23-28.
- [6] Instron: *Food texture analysis solution. Instrukcja obsługi urządzenia Instron* 2002.
- [7] Krełowska-Kułas M.: *Badanie jakości produktów spożywczych*. PWE. Warszawa 1993.
- [8] Lionetto F., Maffezzoli A., Ottenhof M.A., Farhat I.A., Mitchell J.R.: The retrogradation of concentrated wheat starch system. *Starch/Staerke*, 2005, (**57**) **1**, 16-24.
- [9] Makać W., Urbanek-Krzysztofiak D.: *Metody opisu statystycznego*. WUG. Gdańsk 2000.
- [10] Ociecek A.: *Badania modeli trwałości przechowalniczej produktów higroskopijnych na przykładzie makaronu*. Praca doktorska. Akademia Morska. Gdynia 2001.
- [11] Ottenhof M.A., Farhat.: The effect of gluten on the retrogradation of wheat starch. *Cereal Sci.*, 2004, **40**, 269-274.
- [12] Postolski J., Gruda Z.: *Zamrażanie żywności*. WNT. Warszawa 1992.
- [13] Scanlon M.G., Zghal M.C.: Bread properties and crumb structure. *Food Res. Int.*, 2001, **34**, 841-864.
- [14] Skotnicka M., Palich P.: The influence of water content on swelling ability of the crumb of frozen yeast cakes. *Acta agrophysica*, 2006, **7 (1)**, 231-238.
- [15] Skotnicka M., Palich P.: The dependence of frozen yeast cake quality parameters of the thermal conditions of storage. *Mat. Konf. nt. "Rola wody w żywności"*. Supraśl 2006.
- [16] Varianno-Morston E., Hsuk K., Mahdi J.: Rheological and structural changes in frozen doughs. *Baker Digest.*, 1974, **1**, 8-10.
- [17] Wang Xin, Sung-Gil Choi, Kerr W.L.: Water dynamics in white bread and starch gels as affected by water and gluten content. *Lebensm.-Wiss. u. Technol.*, 2004, **37**, 377-384.

#### MATHEMATICAL MODEL OF STORING TEMPERATURE AFFECTING THE REOLOGIC CHANGES IN FROZEN YEAST CAKE

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

The subject of the present study was to determine the structural changes that might occur to yeast cake by A and B producers depending on the storing conditions. The yeast cake was stored for six months in different thermal conditions: constant  $-12^{\circ}\text{C}$  and constant  $-22^{\circ}\text{C}$  and also at variable ( $-12^{\circ}\text{C}; -22^{\circ}\text{C}$ ). The degree of staling changes under different conditions were examined on the basis of static compression tests with the use of INSRON 5543. The study presents mathematic models of stress changes in the cake bite under examination subjected to squeezing along with statistics ( $R^2$  determination coefficient,  $\phi^2$  indetermination coefficient and R correlation index), allowing for the choice of such equation which would best describe the changes of the occurring condition observed at the time of storage.

The obtained data proved that the most beneficial thermal storage variant was the temperature of  $-22^{\circ}\text{C}$ . The cake stored under such condition revealed the least degree of staleness which allows for a statement that the starch forms order processes were not that much advanced. It was found that in both cases the square function best reflected the character of the product staleness degree.

**Key words:** yeast cakes, staleness degree, starch retrogradation, rheology 

MAŁGORZATA SOBCZYK

## WPLYW MROŻENIA MIĘDZYPRODUKTÓW PIEKARSKICH NA JAKOŚĆ GOTOWEGO WYROBU

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu mrożenia ciasta na jakość gotowego wyrobu. Materiałem doświadczalnym była mąka pszenna typu 750. Ciasto wytworzone z mąki podzielono na 3 porcje, z których pierwsza nie była fermentowana, drugą fermentowano przez 1 godz., a trzecią przez 1,5 godz., a następnie mrożono w temp.  $-70^{\circ}\text{C}$  przez 24 godz. Każdą porcję ciasta przechowywano w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  przez 7, 14 i 30 dni. Wykonano także próbę kontrolną bez mrożenia oraz próbę z 3% dodatkiem polepszacza i 5% dodatkiem drożdży.

W części doświadczalnej przeanalizowano podstawowe właściwości mąki pszennej typu 750 oraz zbadać no cechy fizyczne ciasta z niej otrzymanego.

Wraz z wydłużaniem czasu mrożenia ciasta następowało regularne zmniejszanie objętości i wzrost twardości miękkiszu pieczywa. Stwierdzono, że większą objętość miało ciasto bez przeprowadzania fermentacji przed zamrożeniem. Nie osiągnięto również znacznej poprawy jakości ciasta przy równoczesnym dodatku polepszacza i zwiększonej ilości drożdży.

Badania wykazały, że korzystnym rozwiązaniem jest jak najkrótszy czas mrożenie ciasta, a następnie, po rozmrożeniu jego fermentacja.

**Słowa kluczowe:** mąka pszenna, ciasto, mrożenie, międzyprodukty, pieczywo, drożdże, polepszacz

### Wstęp

Pieczywo jest jednym z podstawowych produktów spożywczych w codziennej diecie człowieka. Dostarcza wielu składników niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego [3].

Jest produktem charakteryzującym się niewielką trwałością, czego przyczyną jest proces czerstwienia spowodowany zmianami strukturalnymi skrobi, określanymi mianem retrogradacji.

Jednym ze sposobów przeciwdziałania procesom czerstwienia jest schładzanie lub zamrażanie międzyproduktów piekarskich. Metoda ta pozwala ułatwić przechowywa-

nie produktów bez stosowania dodatku środków chemicznych, które nie zawsze są obojętne dla zdrowia konsumenta.

Technologie piekarskie, wykorzystujące zjawiska niskich temperatur, noszą nazwę „wypieku odroczonego” i sprzyjają spowalnianiu lub wstrzymaniu procesu fermentacji przed ostatecznym wypiekiem na czas określony zapotrzebowaniem. Od początku lat 80. XX w. technologia wypieku odroczonego nabrała większego znaczenia nie tylko ze względu na zmiany przyzwyczajzeń klientów, ale również z powodu wzrostu liczby punktów sprzedaży pieczywa oraz udoskonaloną technikę produkcji wyrobów [7].

Wyróżnia się dwie metody wypieku odroczonego [4, 5]:

- Wypiek zamrożonych kęsów ciasta przygotowanych w piekarni według schematu: mieszenie ciasta → dzielenie → kształtowanie kęsów → zamrażanie kęsów → pakowanie kęsów → składowanie w stanie zamrożonym → rozmrażanie kęsów → rozrost kęsów → wypiek.
- Wypiek zapieczonych i zamrożonych kęsów ciasta w piekarni według schematu: mieszenie ciasta → dzielenie → kształtowanie kęsów → rozrost kęsów → zapiekanie kęsów → zamrażanie kęsów → pakowanie → składowanie w stanie zamrożonym → rozmrażanie → wypiek.

Technologia zapiekania pozwala produkować na zapas, czyli w czasie, gdy w piekarni są tzw. „wolne moce przerobowe”, np. w ciągu dnia. Utworzony zapas może zostać w dowolnym czasie odpieczony, np. gdy występuje konieczność wyprodukowania dużej ilości pieczywa [2]. Niewątpliwą korzyścią wynikającą z produkowania pieczywa metodą odroczonego wypieku jest:

- możliwość produkowania na zapas – ciasta mogą być wytwarzane w okresach mniejszego zapotrzebowania i magazynowane w warunkach chłodniczych. Zapobiega to powstawaniu zatorów produkcyjnych [14].
- Ograniczenie kosztownej i pracochłonnej produkcji nocnej, istniejący zapas może być wykorzystany w dowolnym czasie – jedynym ograniczeniem jest moc przerobowa pieca.

Jedyną istotną wadą metody odroczonego wypieku pieczywa jest potrzeba zakupu kosztownych urządzeń chłodniczych. Niezbędne minimum, w które musi zaopatrzyć się piekarz, to między innymi urządzenie do szybkiego schładzania, komory chłodnicze do przechowywania zamrożonego pieczywa oraz transport izotermiczny lub samochody – chłodnie [4].

Celem pracy było określenie, jak sposób fermentacji ciasta przed mrożeniem oraz czas i temperatura mrożenia wpływają na jakość pieczywa pszennego uzyskanego w tzw. „procesie odroczonego”. Prowadzone badania miały na celu wybranie optymalnych warunków zamrażania ciasta i jego magazynowania, pozwalającego uzyskać jak najwyższą jakość pieczywa.

### **Materiał i metody badań**

Materiał doświadczalny stanowiło ciasto, a następnie uzyskane z niego pieczywo pszenne. Do przygotowania ciasta zastosowano mąkę pszenną typu 750, polepszacz do pieczywa mrożonego GÄRCONTROLLER firmy Boehringer Backmittel GmbH & Co.KG oraz świeże drożdże piekarskie produkcji Mazowieckiej Wytwórni Wódek i Drożdży „Polmos” w Józefowie koło Błonia.

Badania obejmowały ocenę mąki pszennej typu 750, mąki z 3% dodatkiem polepszacza, otrzymanych z niej ciast, a także wyrobów gotowych.

Wartość wypiekową mąki pszennej oceniano na podstawie oznaczania: wilgotności, kwasowości, zawartości białka ogółem metodą Kiejdahla ( $N \times 5,7$ ) przy zastosowaniu aparatu Foss Tecator typ 1002 oraz zawartości glutenu mokrego, jego rozplywalności i elastyczności.

Charakterystyka reologiczna ciasta obejmowała: analizę farinograficzną przy użyciu farinografu Brabendera. Interpretację farinografów przeprowadzono metodą AACCC [1], analizę amylograficzną przy użyciu amylografu Brabendera oraz liczbę opadania w aparacie do liczby opadania Falling Number 1400.

Próbny wypiek laboratoryjny pieczywa pszennego prowadzono bezpośrednio metodą wytwarzania ciasta. Do wszystkich trzech serii badań (bez mrożenia lub z mrożeniem) ciasto przygotowywano jednakowo, wg następującej receptury: mąka – 400 g; woda – 60,0%; drożdże – 3,0 (seria I i II) - 5,0% (seria III); sól – 1,5%; polepszacz – 3% (seria III).

Otrzymane ciasto poddano procesowi fermentacji i zamrożenia zgodnie z poniższym schematem:

- 1A- bez fermentacji, po 7 dniach mrożenia,
- 1B- bez fermentacji, po 14 dniach mrożenia,
- 1C- bez fermentacji, po 30 dniach mrożenia,
- 2A- po 1 godz. fermentacji, po 7 dniach mrożenia,
- 2B- po 1 godz. fermentacji, po 14 dniach mrożenia,
- 2C- po 1 godz. fermentacji, po 30 dniach mrożenia,
- 3A- po 1,5 godz. fermentacji, po 7 dniach mrożenia,
- 3B- po 1,5 godz. fermentacji, po 14 dniach mrożenia,
- 3C- po 1,5 godz. fermentacji, po 30 dniach mrożenia.

Wytworzone ciasto pakowano w torebki foliowe polietylenowe o małej gęstości LDPE i mrożono szokowo w temp.  $-70^{\circ}\text{C}$  przez 24 godz. Po tym czasie ciasto przenoszono do zamrażarki o temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  i przechowywano przez 7, 14 i 30 dni.

Proces rozmrażania prowadzono w szafie fermentacyjnej w temp.  $30^{\circ}\text{C}$  przez około 2 godz. Po rozmrożeniu następowała fermentacja ciasta uprzednio niefermentowanego, dofermentowanie ciasta fermentowanego w ciągu 1 godz. i rozrost ciasta fer-

mentowanego 1,5 godz. przed zamrożeniem. Gotowe, wyrośnięte kęsy wypiekano w piecu elektrycznym w temperaturze 240°C przez 30 min.

Analizę wybranych cech pieczywa pszennego wykonano po 24 godz. od wypieku. Do tego czasu pieczywo przechowywano nieopakowane w temperaturze pokojowej.

W ramach analizy przeprowadzono: ocenę sensoryczną według skali 5-punktowej, biorąc pod uwagę takie cechy jak: wygląd zewnętrzny, barwa i grubość skórki, elastyczność i porowatość miękiszu, smak i zapach [11]. Oznaczano również objętość pieczywa, porowatość miękiszu, oraz twardość przy użyciu analizatora tekstury typ TA.XTZ (do pomiaru siły ściskania użyto trzpień cylindryczny o średnicy 25 mm, który zagłębiał się w miękisz kromki chleba (o grubości 20 mm) na głębokość 9 mm. Odczytywano maksymalną siłę nacisku [N].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu komputerowego Statgraphics Plus 4.1. Otrzymane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji Anova. Istotność różnic statystycznych między wartościami średnimi przy  $\alpha=0,05$ , w zależności od wpływu różnych czynników, weryfikowano testem Duncana. Najmniejszą istotną różnicę między średnimi obliczano testem Duncana.

## Wyniki i dyskusja

Wyniki ogólnej charakterystyki badanej mąki przedstawiono w tab. 1. Uzyskane wyniki wskazują, że użyta w badaniach mąka wykazywała dobre cechy wypiekowe zgodne z wymaganiami normy [10], a także danymi literaturowymi [3, 13].

Przeprowadzona analiza farinograficzna i amylograficzna ciasta pszennego z mąki typu 750 wykazała dobre cechy wypiekowe, potwierdzając tym samym wyniki wskaźników chemicznych i liczby opadania. Dodatek 3% polepszacza do ciasta (seria III) miał wyraźny statystycznie istotny wpływ na cechy tak farinograficzne, jak i amylograficzne (tab. 2). Wpływ ten można ogólnie określić jako niekorzystny. Do korzystnych zmian dodatku polepszacza zaliczyć należy tylko zmniejszenie rozmiękczenia ciasta o 9,6% w stosunku do próby kontrolnej (spadek z 73 do 66 j.B.). Niekorzystne zmiany dodatku 3% polepszacza GÄRCONTROLLER w stosunku do mąki to przede wszystkim zmniejszenie wodochłonności mąki o 0,8% w stosunku do próby kontrolnej, a także skrócenie czasu rozwoju ciasta, stałości ciasta i oporności ciasta na mieszenie. Skrócenie czasu było bardzo wysokie i wynosiło od 55,6 do 62,5% w stosunku do próby kontrolnej.

Zmiany cech amylograficznych (tab. 2) pod wpływem polepszacza nie były duże, ale znaczące statystycznie i odnosiły się tylko do nieznacznego podwyższenia temperatury: początkowej (o 2,9%) i końcowej (1,2% w stosunku do próby kontrolnej). Większy wpływ wywołał dodatek polepszacza na wartość maksymalnej lepkości kleiku, która została obniżona z 380 do 350 j.B., czyli o 7,9% w stosunku do próby kontrolnej.

Tabela 1

Wyniki oceny jakości mąki pszennej typu 750.  
Quality evaluation of wheat flour of the 750 type.

Lp.	Cecha mąki Flour parametr	Jednostka Unit	Wartości średnie Mean values
1.	Wilgotność Moisture	[%]	14,5
2.	Zawartość białka ogółem Total protein content	[%]	11,5
3.	Zawartość glutenu mokrego Wet gluten content	[%]	32,4
4.	Rozpływalność glutenu Gluten spreadability	[mm]	8
5.	Liczba glutenowa Gluten number	-	47,9
6.	Elastyczność glutenu Gluten elasticity	[°elastyczności] [°elastic]	II
7.	Kwasowość Acidity	[°kw]	2,9

Ogólnie można przyjąć, że objętość chleba wskazuje na jakość użytego surowca, ale także na zastosowany proces technologiczny. Im wyższa jest objętość chleba przy tej samej jego masie, tym lepsza jest jego jakość [11, 13]. Wraz z wydłużaniem czasu mrożenia ciasta obserwuje się spadek objętości uzyskanego pieczywa. Według Wassermana [15] przyczyną tego zjawiska może być przede wszystkim osłabienie aktywności drożdży podczas procesu zamrażania, a następnie rozmrażania, zmiany w strukturze ciasta prowadzące do ograniczenia siły zatrzymywania gazów, a także wahania temperatury podczas procesu mrożenia.

Objętość pieczywa (rys. 1) otrzymanego z ciast niefermentowanych przed procesem mrożenia malała w stosunku do próby kontrolnej i wahała się w przedziale od 82,0% (pieczywo uzyskane w obydwu seriach z ciasta mrożonego przez 30 dni) do 92,5% (pieczywo uzyskane z ciasta mrożonego przez 7 dni - I seria badań).

Dodatek polepszacza (seria III) i zwiększenie ilości drożdży do 5% w stosunku do masy mąki (rys. 1) był korzystny i sprzyjał poprawie objętości pieczywa o około 70%.

Z wykonanych oznaczeń wynika, że wraz z wydłużaniem czasu mrożenia porowatość malała o około 1% w stosunku do próby przechowywanej tydzień krócej. Na porowatość miękiszu wpływ wywiera również czas fermentacji ciasta przed mrożeniem. Zwykle przedłużenie fermentacji ponad optymalny czas sprzyja obniżeniu porowatości, zwłaszcza przy mrożeniu ciasta. Zostało to potwierdzone w niniejszej pracy.

Tabela 2

Wyniki analizy farinograficznej i amylograficznej ciasta z mąki pszennej typu 750.  
Farinograph and amylograph analysis of dough from wheat flour of the 750 type.

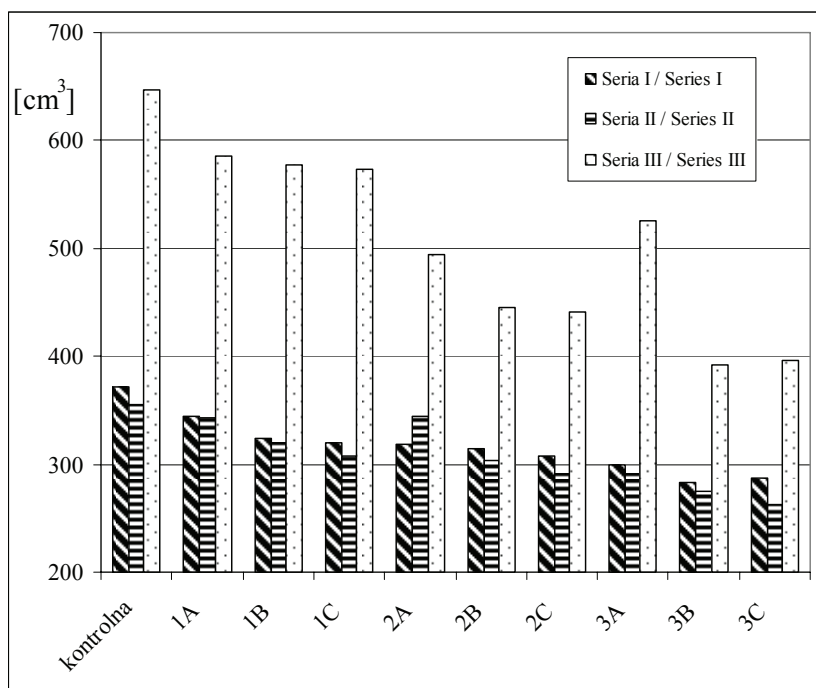
Lp. No.	Cecha mąki /ciasta Parametr flour / dough	Jednostka Unit	Mąka bez dodatku polepszacza Flour without im- prover addition	Mąka z 3% dodatkiem polepszacza Flour with 3% improver addition
1.	Wodochłonność Water absorption	[%]	61,2a	60,7b
2.	Czas rozwoju ciasta Development time of dough	[min]	4A	1,7B
3.	Czas stałości ciasta Stability time of dough	[min]	2,7a	1,2b
4.	Rozmiękczenie ciasta Degree of softening of dough	[j.B.]	73A	66B
5.	Temperatura początkowa kleikowania Initial temperature of gelatinization	[°C]	52,5a	54b
6.	Temperatura końcowa kleikowania Final temperature of gelatinization	[°C]	83	84
7.	Max. lepkość zawiesiny Peak viscosity	[°C]	380A	350B
8.	Liczba opadania Falling number	[s]	269a	329b

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, A, B, a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha = 0,05$ .

a, b, A, B, a, b – mean values in the rows with different superscripts are statistically significantly different at  $\alpha = 0.05$ .

Porowatość pieczywa (rys. 2) otrzymanego z ciast fermentowanych 1,5 godz. przed procesem mrożenia wahała się od 57,4 (pieczywo uzyskane w obydwu seriach z ciasta mrożonego przez 30 dni) do 61% (pieczywo uzyskane z ciasta mrożonego przez 7 dni - II seria badań). Skrócenie fermentacji o 0,5 godz. sprzyjało wzrostowi porowatości od 6,5 do 8,5% w stosunku do prób fermentowanych najdłużej (1,5 godz.). Całkowite pominięcie fermentacji przed mrożeniem powodowało dalszy wzrost porowatości o około 5,2% (rys. 2).



Rys. 1. Objętość 100 g pieczywa w zależności od sposobu fermentacji i czasu mrożenia ciasta.

Fig. 1. The volume of 100 g of bread depending on the type of fermentation and the length of freezing dough.

Objaśnienia: / Explanatory notes:

1A-bez fermentacji, przy 7 dniach mrożenia / no fermentation, after 7 days of deep-freezing

1B-bez fermentacji, przy 14 dniach mrożenia / no fermentation, after 14 days of deep-freezing

1C-bez fermentacji, przy 30 dniach mrożenia / no fermentation, after 30 days of deep-freezing

2A-po 1h fermentacji, przy 7 dniach mrożenia / after 1 hour of fermentation and 7 days of deep-freezing

2B-po 1h fermentacji, przy 14 dniach mrożenia / after 1 hour of fermentation and 14 days of deep-freezing

2C-po 1h fermentacji, przy 30 dniach mrożenia / after 1 hour of fermentation and 30 days of deep-freezing

3A-po 1,5 h fermentacji, przy 7 dniach mrożenia / after 1,5 hour of fermentation and 7 days of deep-freezing

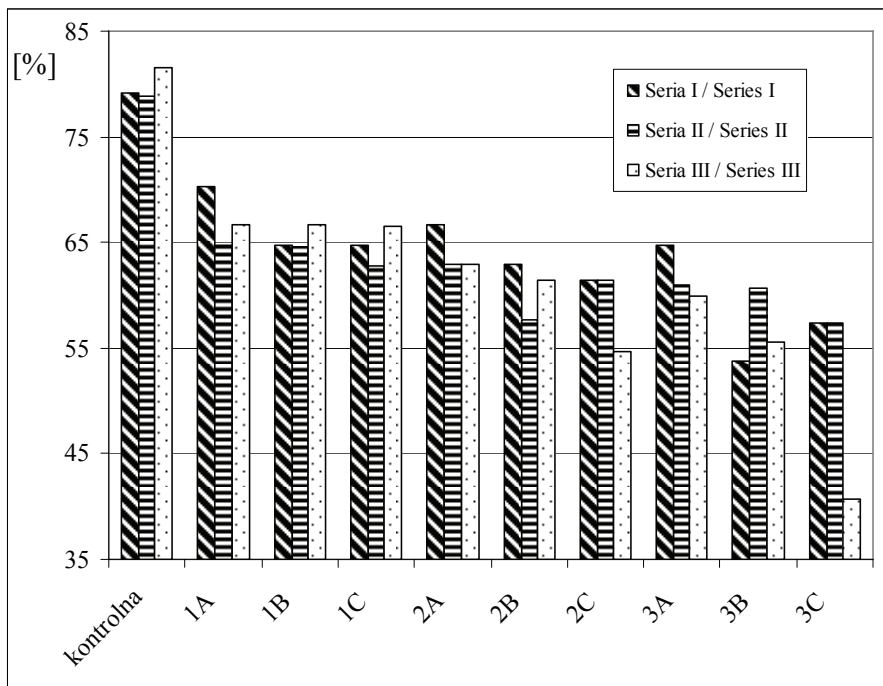
3B-po 1,5h fermentacji, przy 14 dniach mrożenia / after 1,5 hour of fermentation and 14 days of deep-freezing

3C-po 1,5h fermentacji, przy 30 dniach mrożenia / after 1,5 hour of fermentation and 30 days of deep-freezing

Równoczesny dodatek 3% polepszacza (seria III) i zwiększenie dodatku drożdży do 5% w stosunku do mąki (rys. 2) nie był korzystny i sprzyjał dalszemu zmniejszeniu porowatości miękiszu. W wyniku stosowanych dodatków pory miękiszu były mniejsze i bardziej grubościennie, a to prawdopodobnie było przyczyną zmniejszenia porowatości. Najwyższe zmniejszenie porowatości (aż o 37,2%) stwierdzono w próbach fermentowanych 1,5 godz. przed mrożeniem. Skrócenie czasu fermentacji ciasta przed jego



mrożeniem wpływało korzystnie na porowatość miększu uzyskanego chleba. Odnosiło się to do wszystkich badanych ciast, w tym również i tych z polepszaczem oraz zwiększonym dodatkiem drożdży.



Rys. 2. Porowatość miększu w zależności od sposobu fermentacji i długości czasu mrożenia ciasta.  
 Fig. 2. The crumbs porosity depending on the type of fermentation and the length of freezing dough.  
 Objasnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Na podstawie wyników badań twardości miększu można stwierdzić, że w miarę wydłużania czasu przechowywania ciasta w stanie zamrożonym wzrastała siła niezbędna do wnikięcia trzpienia pomiarowego aparatu w głąb miększu chleba (rys. 3). Może to świadczyć o mniejszej porowatości i elastyczności miększu. Według niektórych autorów [6, 8] zmiany elastoplastyczne miększu występują w trakcie całego okresu przechowywania ciasta w stanie zamrożonym, przy czym największy wzrost twardości miększu obserwuje się zwykle pomiędzy 2. i 4. tygodniem, w późniejszym okresie zmiany są już nieznaczne. Na twardość i elastyczność miększu mogła mieć wpływ struktura miększu pieczywa, powstała podczas mrożenia i rozmrażania, a wynikająca ze zmian w strukturze siatki glutenowej [9, 12]. Na takie przyczyny wskazują np. wyniki pomiaru twardości miększu próby kontrolnej (niemrożonej) i prób mrożonych (rys. 3). Twardość miększu pieczywa uzyskanego z ciast fermentowanych 1,5 godz. przed procesem mrożenia w skrajnych przypadkach mieściła się w przedziale od 23,7 do 19,4 N (odpowiednio -

próba pieczywa uzyskanego z ciasta fermentowanego 1,5 godz. przed zamrożeniem i przechowywanego przez 30 dni i z ciasta mrożonego 7 dni).

Tabela 3

Wyniki oceny sensorycznej pieczywa pszennego [pkt].  
Results of the sensoric estimation of wheat bread [scores].

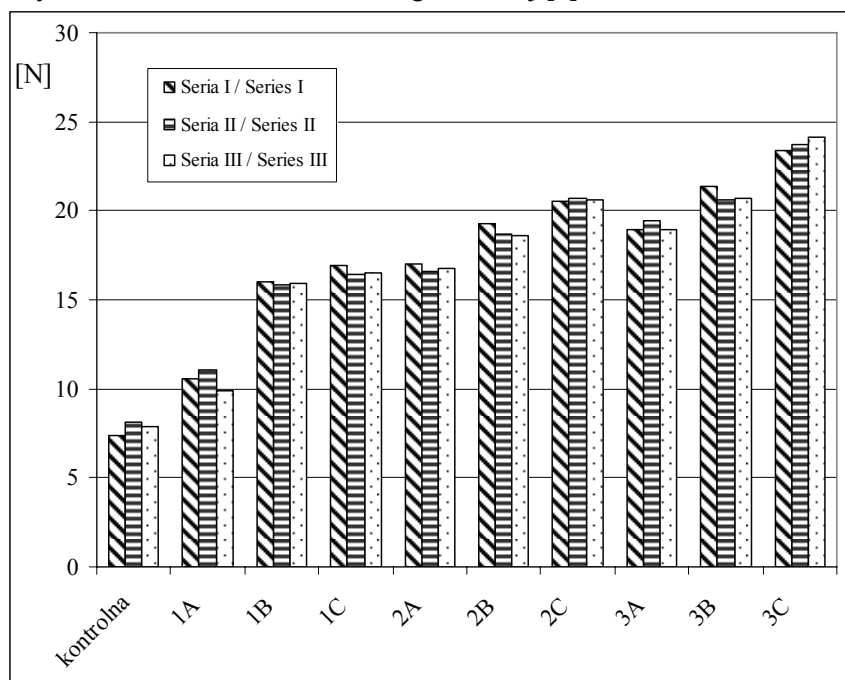
Fermentacja Fermentation	Czas mrożenia ciasta Frozen dough time	Wygląd Appearance	Smak Taste	Zapach Odour	Struktura Structure	Suma punktów Sum of scores
Próba kontrolna Control sample	0 dni 0 days	5,0	5,0	5,0	5,0	20,0
Bez fermentacji No fermentation	7 dni 7days	4,5	4,7	4,5	4,4	18,1
	14 dni 14 days	4,3	4,5	4,5	4,3	17,6
	30 dni 30 days	4,1	4,3	4,4	4,2	17,0
1 godz. fermentacji After 1 hours fermentation	7 dni 7days	4,3	4,0	4,3	4,1	16,7
	14 dni 14 days	4,2	4,1	4,2	4,0	16,5
	30 dni 30 days	3,8	4,0	4,1	3,9	15,8
1,5 godz. fermentacji After 1,5 hours fermentation	7 dni 7days	3,2	3,5	3,7	3,1	13,5
	14 dni 14 days	3,1	3,5	3,6	3,0	13,2
	30 dni 30 days	3,0	3,5	3,6	3,0	13,1

Skrócenie czasu fermentacji do 1 godz. lub jej całkowite wyeliminowanie powodowało obniżenie stopnia twardości miękiszu nawet do 11,1 N.

Zwiększenie dodatku drożdży piekarskich do ciasta i równoległe zastosowanie polepszacza (seria III) nie powodowało istotnych zmian twardości miękiszu, natomiast potwierdziło, że na cechę tę wywierał wpływ czas fermentacji ciasta przed mrożeniem oraz czas jego przechowywania po zamrożeniu (rys. 3).

Uzyskane pieczywo (tab. 3), niezależnie od czasu mrożenia, a także czasu i sposobu fermentacji, charakteryzowało się niskim poziomem jakości (maksymalna liczba punktów od 18,1 bez fermentacji, do 13,5 z 1,5 godz. fermentacją, według 5-punktowej skali). Miały na to wpływ przede wszystkim: wygląd zewnętrzny, mała objętość, nieregularne

kształty, nierównomierna porowatość, popękana skórka oraz zakalec. Badania potwierdziły, że dużo lepszej jakości pieczywo można otrzymać z ciasta poddanego rozrostowi po procesie mrożenia. Jedynym problemem jest wówczas tylko szybkie rozmrożenie ciasta. Zmiany w strukturze miększu mogły być spowodowane zmniejszeniem żywotności drożdży i zmianami w strukturze siatki glutenowej [9].



Rys. 3. Tekstura pieczywa w zależności od sposobu fermentacji i czasu mrożenia ciasta.

Fig. 3. Bread texture depending on the type of fermentation and the length of freezing dough.

Objaśnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

## Wnioski

1. Na jakość uzyskanego pieczywa zasadniczy wpływ miał czas mrożenia ciasta przed wypiekiem. Pieczywo uzyskane z ciasta mrożonego przez 7 dni charakteryzowało się lepszą jakością niż z ciasta mrożonego 30 dni. Znalazło to potwierdzenie w obydwu wykonanych seriach badań. Stwierdzono wyższą objętość chleba, twardość miększu, wyżej oceniono właściwości sensoryczne pieczywa.
2. Lepszą jakością pod względem objętości, tekstury i porowatości odznaczało się pieczywo z ciasta niefermentowanego przed mrożeniem. Prowadzenie fermentacji ciasta przed mrożeniem spowodowało obniżenie odporności komórek drożdżowych na niskie temperatury, co przejawiało się pogorszeniem porowatości pieczywa średnio o 8%.

3. Dodatki: 3% polepszacza i 5% drożdży wpłynęły korzystnie na zwiększenie objętości pieczywa o około 70%, ale nie wpłynęły korzystnie na wyniki oceny sensorycznej.

### Literatura

- [1] AACC The farinograph handbook. St. Paul MN 1972.
- [2] Ambroziak Z.: Odroczone wypiek pieczywa. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1995, **43 (2)**, 2-7.
- [3] Ambroziak Z.: *Piekarstwo i Cukiernictwo*. WNT. Warszawa 1998, s. 360-400.
- [4] Bazior A.: Pieczywo zapieczone – oszczędna i wygodna alternatywa produkcji piekarskiej. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1998, **46 (9)**, 13.
- [5] Cauvain S. P.: Improving the control of staling In frozen bakery products. *Trends Food Sci. Technol.*, 1998, **(9)**, 56-61.
- [6] Fik M., Celej A.: Zmiany jakości bułek podczas zamrażalniczego przechowywania. *Chłodnictwo*, 1992, **27 (1)**.
- [7] Hombach M.: Wprowadzenie techniki mrożenia do piekarni. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2001, **49 (10)**, 26-29.
- [8] Inoue Y., Bushuk W.: Studies of frozen doughs. II Flour quality requirements for bread production from frozen dough. *Cereal Chem.*, 1992, **69 (4)**, 423-428.
- [9] Piesiewicz H.: Zamrażanie ciasta w kontekście wymagań jakościowych dla drożdży piekarskich. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1997, **45 (12)**, 4-7.
- [10] PN-91/A - 740022. Przetwory zbożowe. Mąka pszenna.
- [11] PN-A-74108: 1996. Pieczywo. Metody badań i ocena punktowa.
- [12] Postolski J., Gruda Z.: *Zamrażanie żywności*. WNT. Warszawa 1995, s. 292-295.
- [13] Praca zbiorowa (pod redakcją T. Jakubczyk, T. Haber): *Analiza zbóż i przetworów zbożowych*. Wyd. SGGW. Warszawa 1983.
- [14] Reineke D.: Półpieczone. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2001, **49 (3)**, 31-32.
- [15] Wassermann L.: *Gefrostete Teiglinge (Basis: Wasserware): Rezepturen*. *Getreide Mehl u. Brot.*, 1990, **44 (7)**, 218-220.

### THE EFFECTS OF DEEP-FREEZING OF RAW BREAD DOUGH ON THE QUALITY OF THE FINISHED PRODUCT

#### Summary

The aim of the study was to define the influence of deep freezing of dough on the quality of the finished product. The experimental material was wheat flour of the 750 type. Batter prepared from this flour was divided into 3 portions, from which the first was not fermented, the second was fermented for an hour and the third one – for 1,5 hour. All were deep-frozen for 24 hours in  $-70^{\circ}\text{C}$ . Next, each portion was stored in the temperature of  $-18^{\circ}\text{C}$  for respectively, 7, 14 and 30 days. Moreover, a control sample without deep-freezing and a test sample with the addition of 3% of improver and 5% of yeast were prepared.

In further analysis the basic features of 750-type flour and the physical features of the obtained batter have been examined. The baked products showed a regular decrease of volume and an increase of the crumb's hardness along with the increase of the time of freezing the batter. It was noticed that the bread had a greater volume without being fermented before freezing. Furthermore, no significant increase of quality was achieved by adding improver and yeast.

The test results have showed that the best solution is the shortest possible freezing period and the fermentation after thawing.

**Key words:** wheat flour, dough, freezing, intermediate products, baker's yeast, improver 

BARTOSZ SOŁOWIEJ, WALDEMAR GUSTAW, PAWEŁ GLIBOWSKI,  
DOMINIK SZWAJGIER, TOMASZ CZERNECKI

## WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE ORAZ STRUKTURA POLIMERÓW IZOLATU BIAŁEK SERWATKOWYCH

### Streszczenie

Jedną z najważniejszych właściwości białek serwatkowych jest zdolność do tworzenia żeli. Na zachowanie białek w roztworze wodnym wpływa wartość pH, moc jonowa roztworu, temperatura, czas ogrzewania oraz stężenie samego białka.

Celem badań było określenie wpływu metody ogrzewania, stężenia chlorku sodu i chlorku wapnia na właściwości reologiczne i strukturę polimerów izolatu białek serwatkowych. Stosowano dwie metody ogrzewania roztworów izolatu białek serwatkowych (WPI). Pojedyncze ogrzewanie prowadzono przy pH 7,0 w temp. 80°C przez 30 min., zaś podwójne najpierw przy pH 8,0, a następnie po ochłodzeniu do 21°C ustalano pH na poziomie 7,0 i ponownie ogrzewano w temp. 80°C przez 30 min. Określano właściwości reologiczne otrzymanych polimerów, a także analizowano te związki z wykorzystaniem HPLC.

Ustalono, że twardość żeli rosła wraz ze wzrostem stężenia jonów metali. W przypadku dodatku chlorku sodu, najwyższy wzrost wartości modułu zachowawczego obserwowano w dyspersji o stężeniu soli 120 mM, zaś 15 mM w przypadku chlorku wapnia. W rozdzielach chromatograficznych wykazano, że dodatek soli wpływał na większy stopień spolimeryzowania białek serwatkowych.

**Słowa kluczowe:** białka serwatkowe, reologia, polimeryzacja, wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC)

### Wprowadzenie

Białka serwatkowe charakteryzują się wysoką wartością odżywczą, są źródłem aminokwasów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania i wzrostu organizmu, stanowią także źródło energii. Z uwagi na korzystne właściwości funkcjonalne, takie jak: rozpuszczalność, zdolność wiązania wody, właściwości pianotwórcze, emulgujące i żelujące oraz ze względu na bardzo dobrą przyswajalność przez organizm ludzki, znalazły one szerokie zastosowanie jako dodatek do wzbogacania i uszlachetniania

---

*Mgr inż. B. Solowiej, dr inż. W. Gustaw, dr inż. P. Glibowski, dr inż. D. Sz wajgier, mgr inż. T. Czernec-ki, Katedra Biotechnologii, Żywności Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Akademia Rolnicza, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin*

produktów żywnościowych. Białka serwatkowe odznaczają się właściwościami fizjologicznymi, odżywczymi i funkcjonalnymi [10].

Głównymi białkami serwatkowymi są  $\alpha$ -laktoalbumina ( $\alpha$ -la),  $\beta$ -laktoglobulina ( $\beta$ -lg), albumina wołowa serum (BSA) i immunoglobuliny (Ig). W skład białek serwatkowych mogą wchodzić fragmenty  $\beta$ -kazeiny (dawniej zwane proteozo-peptonami) i  $\kappa$ -kazeiny (glikomakropeptyd), laktoferyna, lizozym i laktoperoksydaza oraz białka membranowe [11].  $\beta$ -lg występuje w postaci wielu genetycznych wariantów (A, B, C, D, Dr, E, F, G, H, I, J i W) [4]. Wariant  $\beta$ -lg J wcześniej był oznaczony jako X [2]. Warianty A i B  $\beta$ -lg w sposób istotny wpływają na właściwości mleka [4]. W przypadku  $\alpha$ -la wyróżnia się warianty A, B i C;  $\alpha$ -la nie jest tylko źródłem białka w mleku, lecz pełni również funkcję regulatora produkcji laktozy [4].

Jedną z najważniejszych właściwości białek serwatkowych jest zdolność do tworzenia żeli. Na zachowanie białek w roztworze wodnym wpływa wiele czynników fizykochemicznych: pH, moc jonowa roztworu, temperatura, czas ogrzewania oraz stężenie samego białka [5, 12]. Czynniki te mają wpływ na wiązania, jakie powstają w roztworze białek.  $\beta$ -lg w decydujący sposób wpływa na żelowanie preparatów białek serwatkowych. Mechanizm żelowania  $\beta$ -laktoglobuliny pod wpływem ogrzewania jest relatywnie najlepiej poznany [18]. W neutralnym pH i temp. pokojowej  $\beta$ -lg występuje głównie w postaci dimeru. Po ogrzaniu do temp. 70°C dimery  $\beta$ -lg dysocjują do monomerów [7] częściowo rozfałdowanych [16]. Zmiany te prowadzą do wyeksponowania grup hydrofobowych [17] i wolnej grupy sulfhydrylowej [15], co skutkuje powstaniem reaktywnego monomeru.

Celem badań było określenie wpływu metody ogrzewania, stężenia chlorku sodu i chlorku wapnia na właściwości reologiczne i strukturę polimerów izolatu białek serwatkowych.

### **Material i metody badań**

Do badań użyto izolatu białek serwatkowych (whey protein isolate-WPI) o zawartości białka 93,6% (m/m), produkcji (DAVISCO Food Ingredients International; Le Sueur, MN, USA); NaCl, CaCl<sub>2</sub>, NaOH produkcji P.P.H. Polskie Odczynniki Chemiczne w Gliwicach; wzorce mas cząsteczkowych ( $\beta$ -laktoglobuliny,  $\alpha$ -laktoalbuminy, BSA) produkcji Sigma Chemical (St. Louis, MO, USA). Zawartość białka oznaczano metodą Kjejdahla [1].

*Otrzymywanie polimerów/agregatów białek serwatkowych**Pojedyncze ogrzewanie*

Roztwory białek serwatkowych o pożądanym 8% stężeniu białka otrzymywano przez jednogodzinne mieszanie WPI z wodą destylowaną w temp. 21°C przy użyciu mieszadła magnetycznego Heidolph MR 3002 (Schwabach, Niemcy) przez 2 godz. przy 300 obr./min. Ustalano pH próbki na poziomie 7,0 za pomocą 1M NaOH. Próbki ogrzewano w temp. 80°C przez 30 min, a następnie chłodzono do temp. 21°C. Otrzymany roztwór spolimeryzowanych białek serwatkowych dalej określano jako sh WPI (single heated whey protein isolate) lub sh (single heated).

*Podwójne ogrzewanie*

Roztwory białek serwatkowych otrzymywano jak wyżej. Następnie ustalano pH próbki na poziomie 8,0 za pomocą 1M NaOH. Próbki ogrzewano w temp. 80°C przez 30 min. Następnie po ochłodzeniu do 21°C i ustaleniu pH na poziomie 7,0 przy użyciu 1M HCl roztwory ponownie ogrzewano w temp. 80°C przez 30 min, a następnie chłodzono do 21°C. Otrzymany roztwór spolimeryzowanych białek serwatkowych dalej określano jako dh WPI (double heated whey protein isolate) lub dh (double heated).

*Dodatek soli*

Do otrzymanych spolimeryzowanych białek serwatkowych dodawano bezpośrednio odpowiednio stężony roztwór chlorku sodu lub chlorku wapnia i mieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego, tak aby uzyskać końcowe stężenie od 60 do 240 mM w pierwszym przypadku i od 5 do 15 mM w drugim przypadku i jednocześnie otrzymać pożądaną 8% stężenie białka. Roztwory chlorku sodu i chlorku wapnia dodawano bardzo powoli, kroplami. Układy te żelowały dopiero podczas przetrzymywania w niskiej temperaturze przy pomiarach na reometrze oscylacyjnym.

*Reometria oscylacyjna*

W badaniach oscylacyjnych pomiarów dokonywano przy użyciu reometru oscylacyjnego RS 300 (Haake, Karlsruhe, Niemcy) w układzie cylindrów współosiowych (rotor Z 41, cylinder Z 43). Wszystkich badań dokonywano w temp. 5°C po wcześniejszym umieszczeniu płynnego roztworu w cylindrze pomiarowym aparatu i przykryciu go warstwą parafiny. Czas trwania pomiaru wynosił 21 godz. Zmiany wartości modułu zachowawczego określano przy amplitudzie drgań 0,1 Hz, odkształceniu 0,05 w układzie CS, czyli kontrolowanego naprężenia. Wyniki rejestrowano komputerowo, wykorzystując program RheoWin Pro 2.91 (Haake, Karlsruhe, Niemcy).

### Analiza HPLC

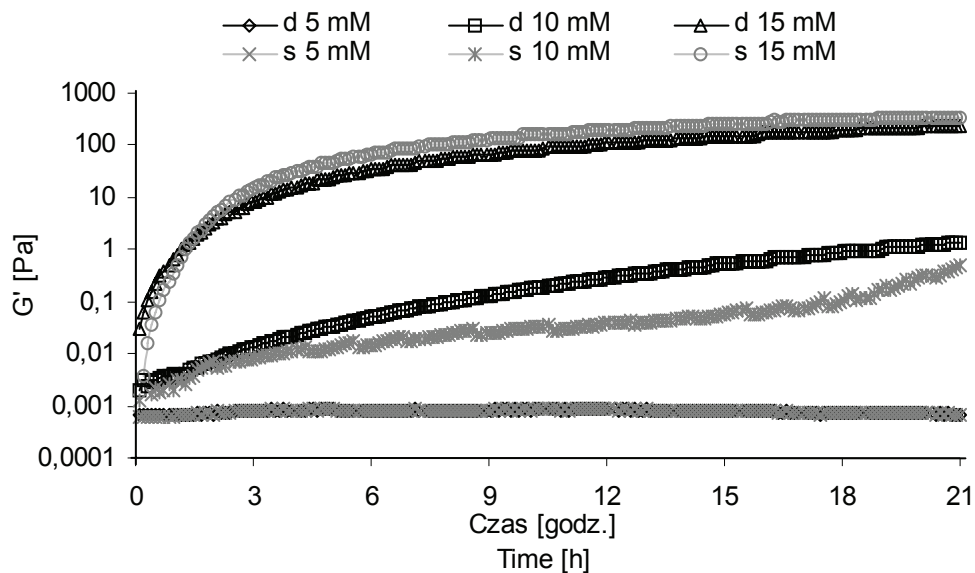
Analizę chromatograficzną prowadzono przy użyciu zestawu chromatograficznego firmy Gilson, z oprogramowaniem Unipoint, składającego się z pompy 306, miksera 811C detektorem 170 DAD i kolumną G4000SW<sub>XL</sub> z prekolumną TosoHaas (Japonia). Chromatografie wykluczenia na podstawie rozmiarów prowadzono z wykorzystaniem 0,1M roztworu Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> z dodatkiem 0,05% NaN<sub>2</sub> w trybie izokratycznym z szybkością przepływu 0,4 ml/min. Próbkę o stężeniu białka 0,1% filtrowano przez filtr 0,45 μm (Millipore, USA). Na kolumnę podawano 20 μl badanej próbki i analizowano ją przy długości fali 280 nm.

### Wyniki i dyskusja

Na rys. 1. i 2. przedstawiono zmiany zachowań reologicznych w zależności od stężenia chlorku wapnia i chlorku sodu. Ustalono, że wraz ze wzrostem stężenia jonów metali twardość żeli rosła. Najwyższy wzrost wartości modułu zachowawczego obserwowano w dyspersjach o stężeniach soli: 120 mM chlorku sodu oraz 15 mM w przypadku chlorku wapnia. Stwierdzono również, że metoda podwójnego ogrzewania powodowała powstawanie żeli twardszych niezależnie od stężenia soli. Mleko i wsp. [13], badając proces podwójnego żelowania białek serwatkowych o zawartości 7% białka, uzyskali wzrost wartości modułu zachowawczego wraz ze wzrostem stężenia chlorku wapnia. Ju i Kilara [9], obserwując proces żelowania na gorąco w obecności 60 mM CaCl<sub>2</sub>, odnotowali 18% wzrost sprężystości roztworu WPI wraz z upływem czasu. Barbut i Foegeding [3], stosując zimne żelowanie indukowane jonami wapnia 4% roztworu WPI, również uzyskali znaczący przyrost wartości modułu zachowawczego w czasie.

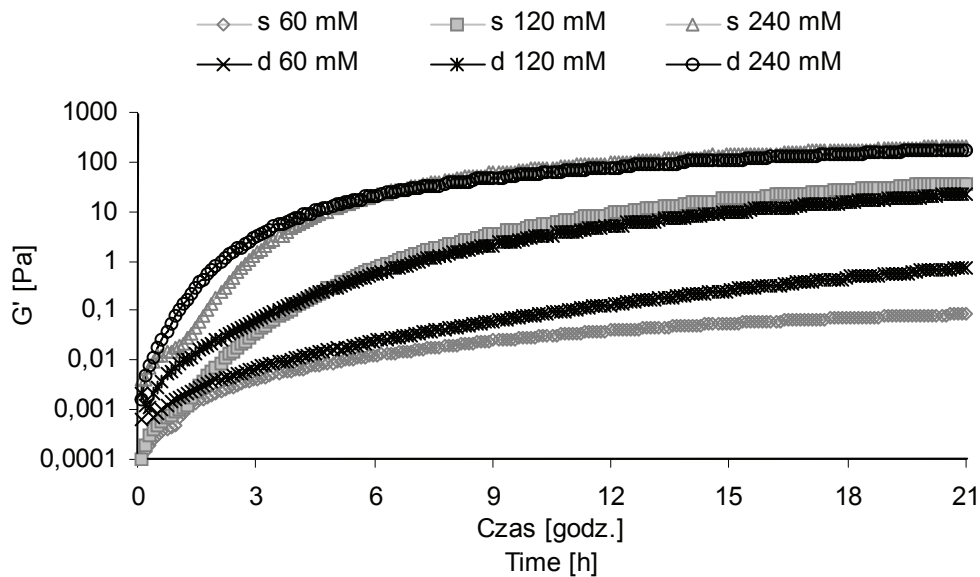
Na rys. 3. przedstawiono rozdział 0,1% roztworu WPI. Na chromatogramie można wyraźnie rozróżnić najważniejsze białka serwatkowe tj. BSA, β-laktoglobulinę, i α-laktoalbuminę. Poszczególne piki oznaczono poprzez przeprowadzenie analizy wzorców masowych poszczególnych białek serwatkowych. Zastosowanie podwójnej polimeryzacji spowodowało powstanie polimerów/agregatów o dużej masie cząsteczkowej, które były widoczne na chromatogramie po około 9,6 min (pole powierzchni piku ok. 22 mln). Część białek serwatkowych nie utworzyła polimerów/agregatów, co było widoczne w dalszej części krzywej. Podobne rozdziały chromatograficzne uzyskano we wcześniejszych badaniach [8]. Dla porównania wykonano również rozdział białek serwatkowych ogrzewanych jednostopniowo. Otrzymany rozdział jest bardzo podobny jak w przypadku białek poddanych podwójnej polimeryzacji, jednak pik obrazujący polimery/agregaty białek serwatkowych ma dużo większe pole powierzchni (ok. 38 mln), jak również piki pojedynczych białek serwatkowych są dużo słabiej zaznaczone. Może to świadczyć o tym, że podczas jednostopniowej polimeryzacji większa ilość białek serwatkowych uległa polimeryzacji/agregacji.





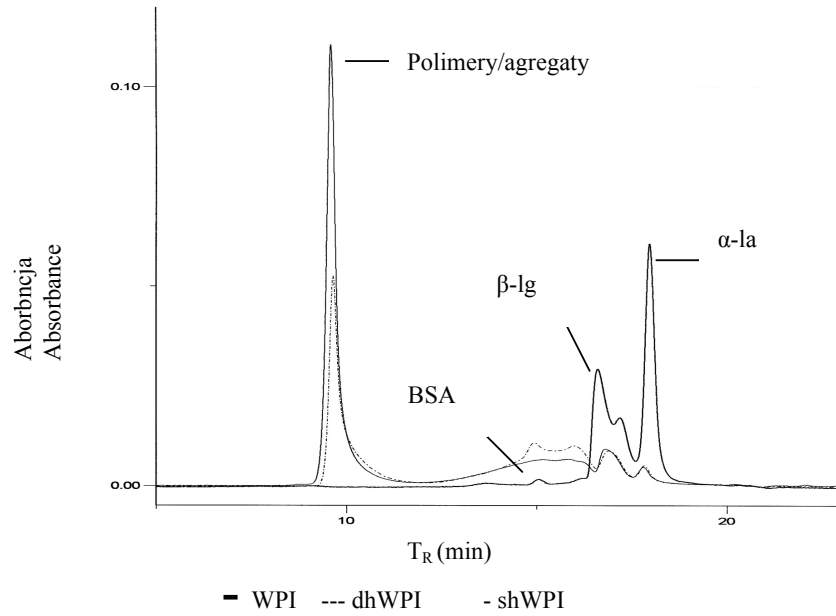
Rys. 1. Zmiany wartości modułu zachowawczego ( $G'$ ) pojedynczo (s) i podwójnie (d) ogrzewanych dyspersji WPI (8% białka) w obecności różnych stężeń chlorku wapnia.

Fig. 1. Changes of preservative modulus values ( $G'$ ) of single (s) and double heated (d) WPI dispersions (8% protein) with calcium chloride added at different concentrations.



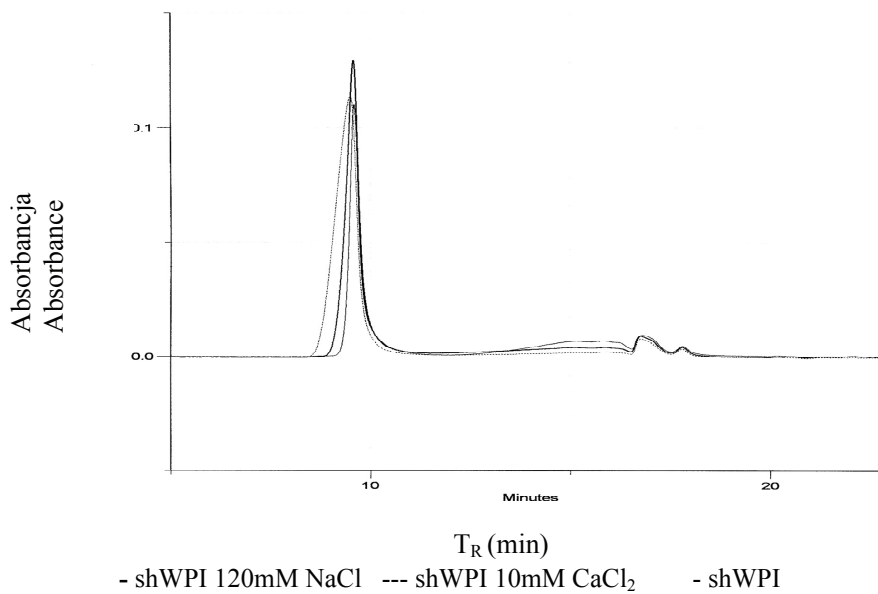
Rys. 2. Zmiany wartości modułu zachowawczego ( $G'$ ) pojedynczo (s) i podwójnie (d) ogrzewanych dyspersji WPI (8% białka) w obecności różnych stężeń chlorku sodu.

Fig. 2. Changes of preservative modulus values ( $G'$ ) of single (s) and double heated (d) WPI dispersions (8% protein) with sodium chloride added at different concentrations.



Rys. 3. Chromatogram 0,1% roztworów WPI.

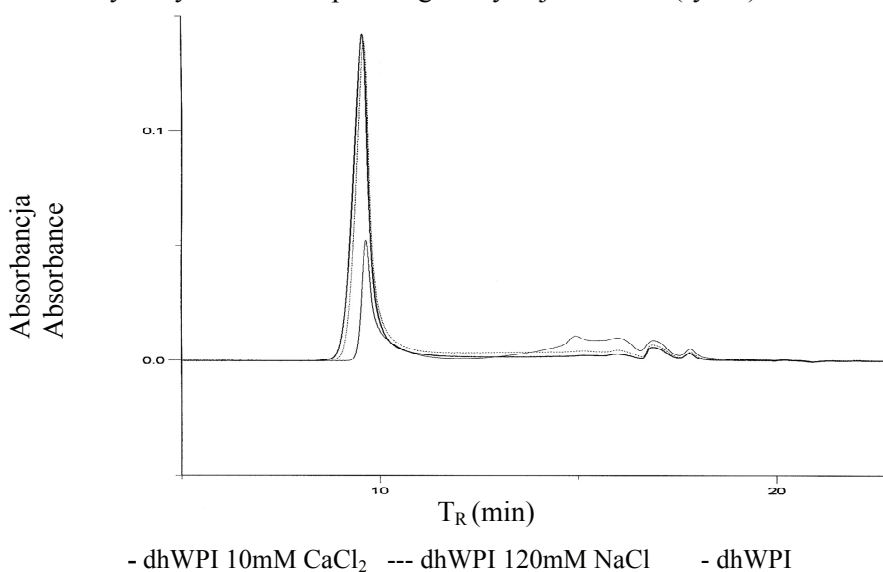
Fig. 3. Chromatograph of 0,1% WPI solutions.



Rys. 4. Wpływ dodatku soli (NaCl) na stopień polimeryzacji białek serwatkowych poddanych pojedynczemu ogrzewaniu.

Fig. 4. The salt (NaCl) addition influence on polymerization of single heated (sh) WPI.

Dodatek soli w ilości 120 mM NaCl lub 10 mM CaCl<sub>2</sub> istotnie wpłynął na stopień polimeryzacji białek serwatkowych, szczególnie w przypadku roztworów poddawanych podwójnemu ogrzewaniu (rys. 4). Otrzymane piki po czasie retencji charakterystycznym dla polimerów/agregatów białek serwatkowych (tj. około 9 min) były wyższe i miały większe pole powierzchni (63 mln w przypadku NaCl i 71 mln po dodaniu CaCl<sub>2</sub>) w porównaniu z roztworami poddanymi podwójnemu ogrzewaniu bez dodatku soli. W przypadku pojedynczo ogrzewanych roztworów po dodaniu soli nie zaobserwowano tak wyraźnych zmian w przebiegu krzywej rozdziału (rys. 5).



Rys. 5. Wpływ dodatku soli (NaCl) na stopień polimeryzacji białek serwatkowych poddanych podwójnemu ogrzewaniu.

Fig. 5. The salt (NaCl) addition influence on polymerization of double heated (dh) whey protein isolates WPI.

Ju i Kilara [8] stwierdzili, że wzrost stężenia NaCl z 20 mM do 200 mM spowodował wzrost twardości żeli, co potwierdziły wcześniejsze badania Nakamury i wsp. [14]. Natomiast większe stężenie NaCl powyżej 400 mM powodowało wolne zmniejszanie twardości [8]. Dodatek CaCl<sub>2</sub> w stężeniu 10 – 20 mM powodował niemalże liniowy wzrost twardości, natomiast większe stężenia soli powyżej 40 mM powodowały spadek twardości żeli. We wcześniejszych badaniach, nad wpływem obecności jonów wapniowych na lepkość roztworów białek serwatkowych poddanych wcześniejszej obróbce termicznej, stwierdzono że optymalne stężenie Ca<sup>2+</sup> zależy od warunków, w jakich przeprowadzono wstępne ogrzewanie i składu użytego WPI [13]. Barbut i Foegeding [3] zaobserwowali, że wzrost stężenia CaCl<sub>2</sub> (10 – 150 mM) powodował

wzrost naprężenia stycznego podczas zimnego żelowania białek serwatkowych indukowanego jonami wapnia. Dodatek  $\text{Ca}^{2+}$  do wstępnie ogrzewanych roztworów białek serwatkowych wpływał na zwiększenie intensywności oddziaływań pomiędzy utworzonymi podczas wstępnego ogrzewania polimerami/agregatami, natomiast przy wyższych stężeniach jonów wapniowych stopień agregacji białek serwatkowych wzrastał i wpływał niekorzystnie na równowagę pomiędzy siłami wewnątrz- i zewnątrzcząsteczkowymi i przez to na właściwości reologiczne otrzymanych żeli [13]. Glibowski i wsp. [6] stwierdzili że przy niskim stężeniu jonów wapnia sieć żelowa powstawała przy małym udziale mostków wapniowych, natomiast taki sposób łączenia poszczególnych cząsteczek białka dominował przy wysokich stężeniach jonów wapniowych.

### Wnioski

1. Wykorzystanie reometrii oscylacyjnej pozwala na obserwację procesu żelowania bez jednoczesnego niszczenia powstającej sieci żelu.
2. Wartość modułu zachowawczego rosła wraz ze wzrostem stężenia chlorku sodu z 60 do 240 mM, natomiast w przypadku chlorku wapnia z 5 do 15 mM.
3. Pojedyncze ogrzewanie białek serwatkowych powodowało większy stopień polimeryzacji w porównaniu z podwójnym ogrzewaniem.
4. Dodatek NaCl i  $\text{CaCl}_2$  wpływał na większy stopień spolimeryzowania białek serwatkowych.

### Literatura

- [1] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis (14<sup>th</sup> Ed.). Arlington, VA 1984.
- [2] Baranyi M., Bosze Z., Buchberger J., Krause I.: Genetic polymorphism of milk proteins in Hungarian Spotted and Hungarian Grey cattle: A possible new genetic variant of  $\beta$ -lactoglobulin. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 630–636.
- [3] Barbut S.; Foegeding E.  $\text{Ca}^{2+}$  - induced gelation of pre-heated whey protein isolate. *J. Food Sci.*, 1993, **58**, 867-871.
- [4] Farrell H. M. Jr., Jimenez-Flores R., Bleck G. T., Brown E. M., Butler J. E., Creamer L. K., Hicks C. L., Hollar C. M., Ng-Kwai-Hang K. F., Swaisgood H. E.: Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. *J. Dairy Sci*, 2004, **87**, 1641–1674.
- [5] Glibowski P., Gustaw W., Mleko S.: Żelowanie zdenaturowanych białek serwatkowych pod wpływem dodatku soli mineralnych. *Przem. Spoż.*, 2002, **5**, 48-50.
- [6] Glibowski P., Mleko S., Wesołowska-Trojanowska M.: Gelation of single heated vs. double heated whey protein isolate. *Inter. Dairy J.*, 2006, **16**, 1113-1118.
- [7] Iametti S., De Gregori B., Vecchio G., Bonomi F.: Modifications occur at different structural levels during heat denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin. *Eur. J. Biochem.*, 1996, **237**, 106-112.
- [8] Ju Z., Kilara A.: Textural properties of cold-set gels induced from heat-denatured whey protein isolates. *J. Food Sci.*, 1998, **63** (2), 288-292.
- [9] Ju Z., Kilara A.: Properties of gels induced by heat, protease, calcium salt and acidulant from, calcium ion-aggregated whey protein isolate. *J. Dairy Sci.*, 1998, **81**, 1236-1243.
- [10] Leman J.: Funkcjonalne właściwości białek serwatkowych. *Przem. Spoż.*, 1999, **5**, 45-47.
- [11] Leman J., Dołgań T.: Frakcjonowanie białek serwatkowych, *Przem. Spoż.*, 2001, **12**, 41-45.

- [12] Mleko S., Achremowicz B.: Żelowanie koncentratów białek serwatkowych, *Przem. Spoż.*, 1993, **10**, 272-274.
- [13] Mleko S., Glibowski P., Gustaw W., Janas P.: Calcium ions induced gelation of double heated whey protein isolate. *J. Food Sci. Technol.*, 2002, **39** (5), 563-565.
- [14] Nakamura T., Sato K., Koizumi S., Kawachi K., Nishiya T., Nakajima I.: Preparation and properties of salt-induced gels of whey protein. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi*, 1995, **42**, 1-6.
- [15] Prabakaran S., Damodaran S.: Thermal unfolding of  $\beta$ -lactoglobulin: characterization of initial unfolding events responsible for heat-induced aggregation. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 4303-4308.
- [16] Qi X. L., Holt C., McNulty D., Clarke D. T., Brownlow S., Jones G. R.: Effect of temperature on the secondary structure of  $\beta$ -lactoglobulin at pH 6.7, as determined by CD and IR spectroscopy: a test of the molten globule hypothesis. *Biochem J.*, 1997, **324**, 341-346.
- [17] Relkin P.: Reversibility of heat-induced conformational changes and surface exposed hydrophobic clusters of  $\beta$ -lactoglobulin: their role in heat-induced sol-gel state transition. *Inter. J. Biol. Macromol.*, 1998, **22**, 59-66.
- [18] Schokker E. P., Singh H., Pinder D. N., Norris G. E., Creamer L. K.: Characterization of intermediates formed during heat-induced aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin AB at neutral pH. *Inter. Dairy J.*, 1999, **9**, 791-800.

#### RHEOLOGICAL PROPERTIES AND STRUCTURE OF WHEY PROTEIN ISOLATE POLYMERS

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

One of the most important properties of whey protein is ability to create gels. The pH, ion power of solution, temperature, time of heating, concentration of proteins influence on behaviour of proteins in hydrous solution.

The aim of this study was to investigate the method of heating, concentration of sodium chloride and calcium chloride on rheological properties and chemical structure of whey proteins.

There were two methods of heating the WPI solutions applied. Single heating was led in pH 7,0 in temperature 80°C by 30 min., meanwhile double heating was first in pH 8,0 and after cooling to room temperature, pH was established on level 7,0 then was heated in 80°C by 30 min. The rheological properties of obtained polymers and measured by the HPLC were defined.

Hardness of gels was growing along to the concentration of metals ions. The highest growth of storage modulus was in the case of dispersions with the highest concentration of sodium chloride (120 mM) and calcium chloride (15 mM).

The chromatographic fractionation showed, that the addition of salt influenced on higher polymerization of whey proteins.

**Key words:** whey protein, rheology, polymerization, High Performance Liquid Chromatography (HPLC)



EWA SOSIŃSKA, RAFAŁ WOŁOSIAK

## AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA KOENZYMU Q<sub>10</sub>, FITOSTEROLI ORAZ GLUTATIONU W REAKCJI AUTOOKSYDACJI EMULSJI TŁUSZCZU ROŚLINNEGO

### Streszczenie

Celem niniejszej pracy było określenie aktywności przeciwutleniającej koenzymu Q<sub>10</sub>, fitosteroli oraz glutationu, której miarą było hamowanie tworzenia się wtórnych lotnych produktów utleniania, w następstwie oksydacji kwasów tłuszczowych zawartych w oleju słonecznikowym, zemułgowanym w środowisku typowym dla emulsji spożywczych. Substancje dodawano w jednakowym stężeniu (5 mg%), a utlenianie katalizowano dodatkiem jonów Fe(II) w temp. 37°C. Oznaczenie obecności głównego, wtórnego, lotnego produktu utleniania – heksanal – dokonano, stosując chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (GC-MS), poprzedzonej mikroekstrakcją do fazy stałej związków lotnych z warstwy nadpowierzchniowej emulsji (HS-SPME). Izolację fitosteroli przeprowadzono z kondensatu, pozostałości przy odwanianiu olejów roślinnych, i scharakteryzowano skład otrzymanego preparatu fitosteroli za pomocą techniki GC-MS.

Stwierdzono aktywność prooksydacyjną glutationu (do -105%) oraz fitosteroli (do -41%) przez cały okres utleniania emulsji. Natomiast koenzym Q<sub>10</sub> do 3. dnia utleniania emulsji wykazywał efekt przeciwutleniający (do 18%), potem od 7. dnia efekt prooksydacyjny (do -41%). Aktywność przeciwutleniająca (do 33%) stwierdzono przy dodatku do emulsji koenzymu Q<sub>10</sub>, fitosteroli oraz glutationu przez cały okres utleniania, stąd można sądzić o wystąpieniu synergizmu między badanymi substancjami. Tempo przyrostu ilości heksanal przez cały okres utleniania wszystkich emulsji było podobne, jedynie w emulsji z dodatkiem koenzymu Q<sub>10</sub> odnotowano szybsze jego powstawanie.

**Słowa kluczowe:** aktywność przeciwutleniająca, koenzym Q<sub>10</sub>, fitosterole, glutation, heksanal

### Wprowadzenie

Jednym z głównych procesów ograniczających trwałość przechowywanej żywności są reakcje utleniania tłuszczów, które można opóźnić m.in. poprzez dodatek substancji przeciwutleniających. Najbardziej pożądane, z punktu widzenia konsumenta, są

przeciwutleniacze naturalne, pochodzenia roślinnego, wykazujące korzystne oddziaływanie na organizm człowieka. Żywność to często skomplikowany, heterofazowy układ, stąd szczególnie korzystne może być zastosowanie przeciwutleniaczy różniących się polarnością czy oddziaływujących synergistycznie, co może wielokrotnie zwiększyć efektywność ich działania. Na podstawie wymienionych kryteriów wybrano trzy substancje: koenzym Q<sub>10</sub>, fitosterole oraz glutation. Koenzym Q<sub>10</sub> (ubichinon) to powszechnie występujący w świecie zarówno zwierzęcym, jak i roślinnym lipofilowy przeciwutleniacz. Działa on synergistycznie z witaminą E przez regenerację rodnika tokoferoksylogowego do tokoferolu [1]. Jako naturalny składnik diety występuje w znacznych ilościach w produktach pochodzenia zwierzęcego, a także w orzeszkach ziemnych i warzywach (brokuły, ziemniaki i kalafior) [2]. Fitosterole to grupa roślinnych steroidowych alkoholi o zbliżonej budowie do cholesterolu. Spośród fitosteroli, najbardziej rozpowszechnione są:  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol czy brassicasterol. Doniesienia o właściwościach przeciwutleniających dotyczą głównie  $\gamma$ -oryzanolu oraz  $\Delta^5$ -avenasterolu [3, 4]. Dostarczane z pożywieniem fitosterole i ich uwodornione pochodne – fitostanole – są istotnym czynnikiem obniżającym stężenie frakcji LDL cholesterolu we krwi. Naturalnym źródłem fitosteroli są produkty takie jak oleje (np. ryżowy), zboża, owoce, warzywa i soja, ponadto zawarte są w produktach wzbogacanych, jak margaryna czy produkty piekarskie [5]. Glutation jest jedną z najważniejszych niskocząsteczkowych substancji przeciwutleniających m.in. utrzymuje inne niskocząsteczkowe przeciwutleniacze (witaminę C i E) w formie zredukowanej [6]. Jako główne jego źródła wymieniść należy: mięso, orzechy włoskie, owoce (awokado) i warzywa (szparagi, szpinak) [7].

Celem niniejszej pracy było określenie aktywności przeciwutleniającej koenzymu Q<sub>10</sub>, fitosteroli oraz glutationu, jako inhibicji utleniania kwasów tłuszczowych zawartych w oleju słonecznikowym, której miarą było tworzenie się wtórnego produktu – heksanal. Olej słonecznikowy emulgowany był w środowisku typowym dla produktów spożywczych.

## **Material i metody badań**

### *Preparat fitosteroli*

Przeprowadzono izolację fitosteroli, jako substancji niezmydlających, z kondensatu uzyskanego przy przemysłowym odwanianiu olejów roślinnych (m.in. rzepakowego) [8]. Próbę 50 g kondensatu zmydlano za pomocą 112,5 ml roztworu KOH w etanolu (13,6 M KOH/etanol 1:8, v/v) przez 2 h w temp. 70°C pod chłodnicą zwrotną. Po ostudzeniu próbkę przenoszono do rozdzielacza, dodawano 112,5 ml mieszaniny *n*-heksan:octan etylu (1:5, v/v) i mieszano. Warstwę wodną przemywano dwukrotnie mieszaniną *n*-heksan:octan etylu. Do zebranych warstw organicznych dodawano

50 ml 0,5 M roztworu KOH, ponownie dodawano *n*-heksan:octan etylu i mieszano. Po rozdzieleniu się faz, warstwę rozpuszczalnika organicznego odparowywano w 45°C w obrotowej wyparce Büchi przy obniżonym ciśnieniu. W celu wyizolowania fitosteroli, z pozostałości po zmydłaniu, dodawano 50 ml mieszaniny *n*-heksan:aceton:metanol:woda (49,3:34:15,1:1,6, v/v), po czym preparat zagęszczano. Krystalizacja przebiegała pod strumieniem azotu na sączku, a otrzymane kryształy fitosteroli rozpuszczano w dichlorometanie.

Scharakteryzowano skład otrzymanego preparatu fitosteroli, stosując chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas przy użyciu aparatu GCMS-QP 2010 Shimadzu. Upřednio fitosterole upochodniano do eterów trimetylosililowych za pomocą TMCS/BSFTA (Supleco 3-3148), ich ilość określano na podstawie standardu wewnętrznego – cholesterolu (Supleco 47127-U); związki identyfikowano na podstawie biblioteki widm masowych. Warunki analizy - parametry GC: kolumna kapilarna, niepolarna DB-5 MS (30 m x 0,50 μm x 0,25 μm); gaz nośny - hel, przepływ 1,3 ml/min; temperatura nastrzyku (splitless): 260°C; program temperaturowy: od 50°C zmiana temp. 10°C/min, od 230°C do 250°C zmiana temp. 4,5°C/min, utrzymanie temperatury końcowej przez 20 min. Parametry MS: temp. źródła jonów 250°C; zakres przemiatania: 100-500 m/z; jonizacja elektronowa o energii 70 eV; napięcie detektora 0,8 kV.

#### *Przygotowanie emulsji oleju słonecznikowego (pH 4,5)*

Przygotowywano 100 ml emulsji, naważając 1 g emulgatora Tween 40. Roztwory koenzymu Q<sub>10</sub> oraz preparatu fitosteroli dodawano w dichlorometanie, rozpuszczalnik odparowywano. Następnie dodawano 10 g oleju słonecznikowego (dostępnego na rynku, skład kwasów tłuszczowych – oznaczony za pomocą techniki GC-FID - kwas linołowy C<sub>18:2</sub> 63,6%, oleinowy C<sub>18:1</sub> 23%, palmitynowy C<sub>16</sub> 9,3%, stearynowy C<sub>18</sub>, 4,1%, [Matias - dane niepublikowane]) oraz 85 ml 0,1 M buforu octanowego i homogenizowano przez 1 min przy 20500 obr./min. Glutation dodawano w postaci wodnego roztworu. Jako katalizator utleniania stosowano roztwór chlorku żelaza(II) - stężenie katalizatora w emulsji: 0,4 mg%. Stężenie badanych substancji w emulsji wynosiło po 5 mg%, zawartość mieszaniny tokoferoli (α-tokoferol 67%, suma β- i γ-tokoferoli 33%, zawartość oznaczona za pomocą techniki GC-MS [Wołosiak – dane niepublikowane]) naturalnie obecnej w oleju słonecznikowym to 2,3 mg%. Emulsje przygotowywano równolegle, w dwóch powtórzeniach, następnie badano obecność lotnych wtórnych produktów utleniania kwasów tłuszczowych po 1, 3, 7, 10 i 14 dniach termostatowania w temp. 37°C, bez dostępu światła, w zamkniętych butelkach o poj. 250 ml, grubość warstwy emulsji ok. 5 cm). Poszczególne parametry układu modelowego (ilość żelaza, substancji przeciwutleniających) ustalane były we wcześniejszych etapach badań m.in.



przy określaniu aktywności przeciwutleniającej wobec nadtlenków kwasów tłuszczowych oleju słonecznikowego.

#### *Oznaczenie aktywności przeciwutleniającej*

Analizę wykonywano metodą nadpowierzchniowej mikroekstrakcji do fazy stałej, stosując chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (HS-SPME-GC-MS) przy użyciu aparatu GCMS-QP 2010 Shimadzu. Oznaczenie polegało na adsorpcji związków lotnych, znajdujących się nad próbką, na włóknie (przez 30 min, w temp. 37°C) i desorpcji (przez 2 min) na kolumnę chromatografu gazowego. Parametry analizy: włókno SPME, średniopolarne 50/30  $\mu\text{m}$ , DVB/Karboksen/PDMS. Parametry GC: kolumna kapilarna, niepolarna DB -5 MS: 30 m x 0,50  $\mu\text{m}$  x 0,25  $\mu\text{m}$ ; gaz nośny - hel, przepływ 1,0 ml/min; temp. nastrzyku (split): 200°C; program temperaturowy: 3 min w 40°C, wzrost temp. 5°C/min do 180°C, utrzymanie temp. końcowej przez 10 min. Parametry MS: temp. źródła jonów 175°C; zakres przemieszczania: 30-350 m/z; jonizacja elektronowa o energii 70 eV; napięcie detektora 0,8 kV.

Jako próbkę zerową traktowano analizę składu lotnych wtórnych produktów utlenienia emulsji jedynie z mieszaniną tokoferoli zawartych naturalnie w oleju słonecznikowym, oznaczoną natychmiast po przygotowaniu emulsji, jako próbki kontrolne - wyniki analizy składu atmosfery nad powierzchnią tego układu dyspersyjnego po całkowitym okresie utleniania. Obliczeń aktywności przeciwutleniającej, wyrażonej jako inhibicja powstawania głównego wtórnego produktu utleniania kwasów tłuszczowych - heksanal - po wybranych dniach termostatowania, dokonywano według wzoru [9]:

$$A = \left[ \frac{P_K - P_{W1}}{P_K} \right] \cdot 100 [\%]$$

gdzie: A - aktywność przeciwutleniająca,

$P_K$  - pole powierzchni pod pikem [j.u.] heksanal - po danym dniu utleniania w próbce kontrolnej (z uwzględnieniem próbki zerowej),

$P_{W1}$  - pole powierzchni pod pikem [j.u.] heksanal - po danym dniu utleniania w próbce właściwej - z dodatkiem badanych substancji (z uwzględnieniem próbki zerowej).

## **Wyniki i dyskusja**

### *Charakterystyka preparatu fitosteroli*

Otrzymano następującą mieszaninę fitosteroli:  $\beta$ -sitosterol 43,8%; kampesterol 32,3%; brassicasterol 20,8% oraz stigmasterol 3,1%. Czystość preparatu wyniosła 97,9%; zanieczyszczenia: tymol i kwas palmitynowy.

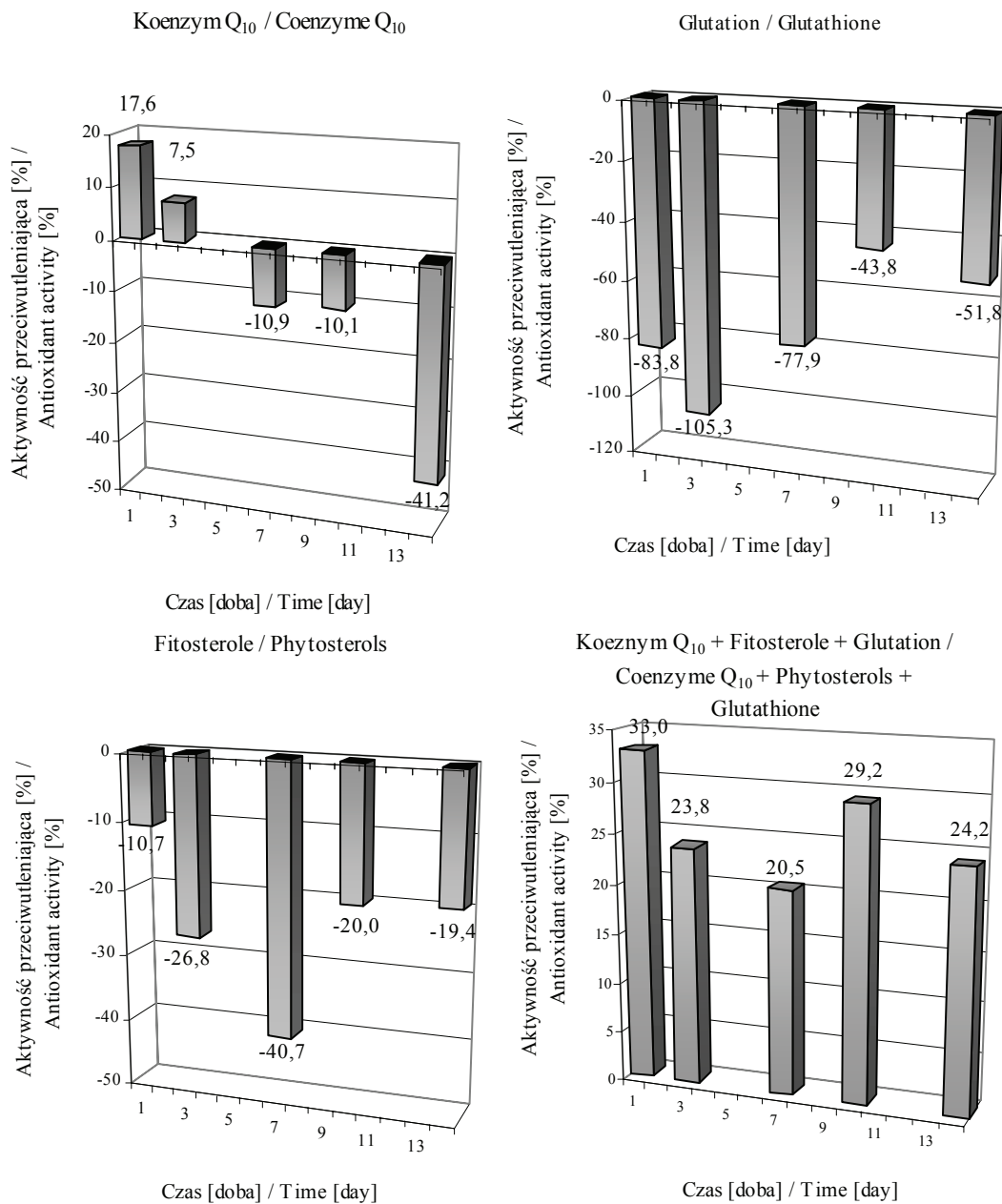
*Aktywność przeciwutleniająca*

Heksanal jest uznawany za marker zmian oksydacyjnych tłuszczu, a ponieważ stwierdzono jego najwyższą zawartość spośród lotnych wtórnych produktów utleniania w badanych układach dyspersyjnych (jego ilość wyrażona była jako pole powierzchni po pikiem w jednostkach umownych integratora) został wybrany jako wskaźnik właściwości przeciwutleniających badanych substancji w czasie utleniania emulsji - od 1 do 14 dni. Dodatek skutecznych przeciwutleniaczy do produktów zawierających tłuszcz zmniejsza ilość powstającego heksanalu [9]. Metoda mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) od kilkunastu lat stosowana jest do analizowania związków lotnych różnych produktów żywnościowych, przede wszystkim olejów i serów; a ostatnio także emulsji spożywczych, ze względu na jej prostotę, szybkość wykonania oraz brak stosowania rozpuszczalników [9, 10, 11, 12].

Stwierdzono aktywność prooksydacyjną glutationu (do -105%) oraz fitosteroli (do -41%) przez cały okres utleniania emulsji (rys. 1). Natomiast koenzym Q<sub>10</sub> do 3. dnia utleniania emulsji wykazywał efekt przeciwutleniający (do 18%), a od 7. dnia efekt prooksydacyjny (do -41%), co mogło być wynikiem wyczerpania formy zredukowanej ubichinonu. W emulsji typu o/w polarne przeciwutleniacze (glutation) są mniej skuteczne niż niepolarne – ze względu na powinowactwo do „chronionego” substratu, natomiast z każdej z tych substancji w reakcji z rodnikiem powstaje ich mniej stabilna forma (semi-ubichinon czy rodnik disulfidu glutationu), która może inicjować powstanie kolejnych rodników – stąd działanie prooksydacyjne.

Aktywność przeciwutleniającą (do 33%) stwierdzono w mieszaninie: koenzymu Q<sub>10</sub>, fitosteroli oraz glutationu przez cały okres utleniania emulsji. Pomimo właściwości prooksydacyjnych większości oddzielnie stosowanych substancji, po ich połączeniu uzyskano efekt przeciwutleniający, co może świadczyć o możliwej regeneracji, jaka wystąpiła między badanymi substancjami. W literaturze opisano wiele przykładów hamowania utleniania kwasów tłuszczowych wyrażonych zmniejszeniem powstawaniem heksanalu, m.in. Stashenko i wsp. [9] stwierdzili aktywność przeciwutleniającą witaminy E czy olejków eterycznych w emulsji oleju słonecznikowego.

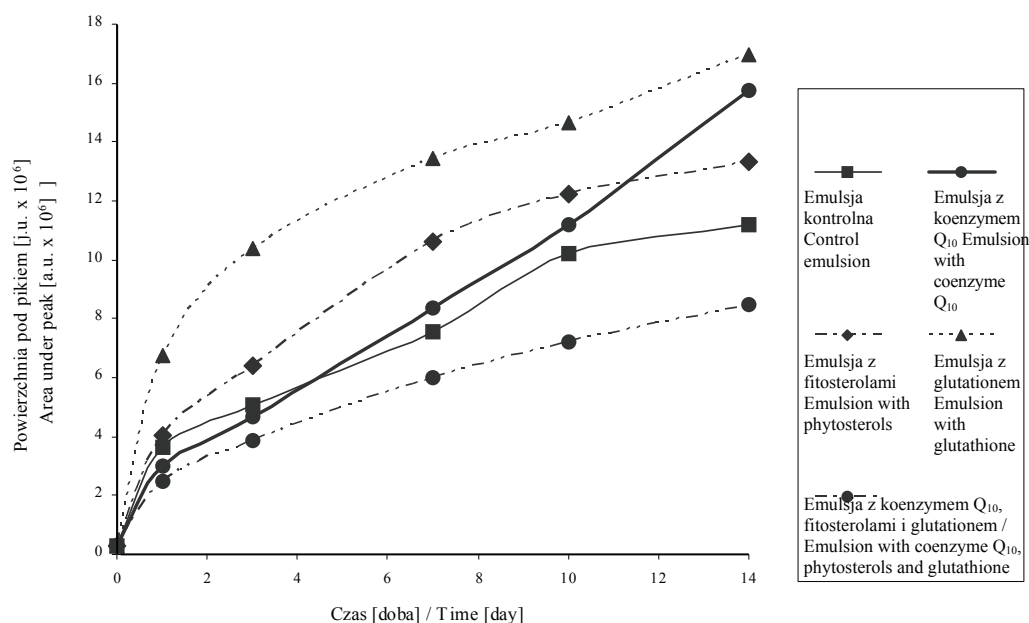
Aktywność przeciwutleniająca wyrażona jako inhibicja utleniania kwasów tłuszczowych, skutkująca pojawieniem się heksanalu, to wypadkowa stopnia utlenienia emulsji kontrolnej (bez dodatku badanych substancji biologicznie aktywnych) i emulsji właściwej (zawierającej dodatek ww. substancji), w związku z tym przeanalizowaliśmy zmiany ilości heksanalu (wyrażone jako pole powierzchni pod pikiem [j.u.]) we wszystkich emulsjach (rys. 2.). W początkowym okresie ilość heksanalu była podobna w przypadku badanych emulsji, poza tą z dodatkiem glutationu, która charakteryzowała się największą zawartością tego aldehydu już od pierwszych dni termostatowania. Przyrost zawartości heksanalu w emulsjach przez cały okres utleniania był podobny,



Rys. 1. Aktywność przeciwutleniająca badanych substancji i ich mieszaniny, wyrażona jako efektywność hamowania tworzenia się [-] heksanal, po 1, 3, 7, 10 i 14 dniach utleniania emulsji oleju słonecznikowego.

Fig. 1. Antioxidant activity of the tested substances and their mixtures represented as an effectiveness of inhibition of formation of hexanal, after 1, 3, 7, 10 and 14 days of oxidation of sunflower's oil emulsion.

ale wzajemne relacje między ilością tego aldehydu w emulsji właściwej i kontrolnej nie były jednakowe po danym okresie utleniania, stąd różnice w aktywności przeciwutleniającej (rys. 1.). Jedynie w emulsji z dodatkiem koenzymu  $Q_{10}$  stwierdzono jego szybsze powstawanie, mimo że ilość tego aldehydu była mniejsza niż w emulsji kontrolnej do 3. dnia utleniania - co wskazywało na przeciwutleniające działanie koenzymu. Natomiast w emulsji, do której dodano wszystkie badane substancje: koenzym  $Q_{10}$ , fitosterole oraz glutation przez cały czas utleniania obserwowano najmniejszą ilość heksanal.



Rys. 2. Ilość wytworzonego heksanal po 1, 3, 7, 10 i 14 dniach utleniania emulsji oleju słonecznikowego z dodatkiem badanych substancji.

Fig. 2. Amount of produced hexanal after 1, 3, 7, 10 and 14 days of sunflower oil emulsion oxidation with addition of the tested substances.

## Wnioski

1. Stosowane oddzielnie badane substancje wykazały efekt prooksydacyjny (z wyjątkiem koenzymu  $Q_{10}$ ) wobec głównego wtórnego lotnego produktu reakcji utleniania - heksanal przez cały okres utleniania oleju słonecznikowego, w układzie modelowym zbliżonym do emulsji spożywczych (pH 4,5).
2. Efekt odwrócenia aktywności stwierdzono przy mieszaniu złożonej z koenzymu  $Q_{10}$ , fitosterolu i glutationu - oddzielnie wykazujących działanie prooksydacyjne w emulsji oleju słonecznikowego - skutkujący zmianą aktywności na przeciwutleniającą.

### Literatura


- [1] Chaudière J., Ferrari-Iloioiu R.: Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem. Toxic.*, 1999, **37**, 949-962.
- [2] Pirjo-Mattila P., Kumpulainen J.: Coenzymes Q<sub>9</sub> and Q<sub>10</sub>: Contents in foods and dietary intake. *J. Food. Comp. Anal.*, 2001, **14**, 409-417.
- [3] Piironen K., Lindsay D.G., Miettinen T.A., Toivo J., Lampi A.-M.): Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80**, 939-966.
- [4] Moreau R.A., Whitaker B.D., Hicks K.B.: Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Progress in Lipid Research*, 2002, **41**, 457-500.
- [5] Winter J.: Sterols: the key to heart health. *Functional Foods & Nutraceuticals*, 2004, **11**, 40-44.
- [6] Jacob R.A.: The integrated antioxidant system. *Nutr. Res.*, 1995, **15 (5)**, 755-766.
- [7] Czczot H.: Antyoksydacyjne działanie glutationu. *Farmacja Polska*, 2003, **59 Supl.**, 4-9.
- [8] Dias A.C.P., Fernandes P., Cabral J.M.S., Pinheiro H.M.: Isolation of a biodegradable sterol-rich fraction from industrial wastes. *Bioresource Technol.*, 2002, **82**, 253-260.
- [9] Stashenko E.E., Puertas M.A., Martinez J.R.: SPME determination of volatile aldehydes for evaluation of in-vitro antioxidant activity. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, **373**, 70-74.
- [10] Arthur C.L., Pawliszyn J.: Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.*, 1990, **62**, 2145-2148.
- [11] Beltran G., Paz-Aguilera M., Gordon M.H.: Solid phase microextraction of volatile oxidation compounds in oil-in-water emulsions. *Food Chem.*, 2005, **92**, 401-406.
- [12] Guillén M.D., Cabo N., Ibargoitia M.L., Ruiz A.: Study of both sunflower oil and its headspace throughout the oxidation process. Occurrence in the headspace of toxic oxygenated aldehydes. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **54(4)**, 1093-1101.

### ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF COENZYME Q<sub>10</sub>, PHYTOSTEROLS AND GLUTATHIONE IN AUTOXIDATION REACTION OF PLANT FAT EMULSION

#### Summary

The aim of this study was the evaluation of antioxidative properties of coenzyme Q<sub>10</sub>, phytosterols and glutathione, represented as inhibition of formation of secondary oxidation products as a result of oxidation of fatty acids - present in sunflower oil which is emulsified in typical food products conditions. The tested substances were added in concentration 5 mg%, the oxidation was catalyzed by Fe(II) ions addition at 37°C. Evaluation of the main oxidation secondary product (hexanal) occurrence was performed using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) after headspace solid phase microextraction of volatile compounds (HS-SPME). Moreover, the isolation of phytosterols from plant oils deodorization distillate was carried and characterization of the phytosterols mixture was done using GC-MS.

The prooxidant activity of glutathione (up to -105%) and phytosterols (up to -41%) was observed, whereas coenzyme Q<sub>10</sub> up to third day of emulsion oxidation acted as antioxidant (up to 18%), but from 7th day acted as prooxidant (up to -41%). The antioxidant activity (up to 33%) of combination: coenzyme Q<sub>10</sub>, phytosterols and glutathione was observed, therefore there can be assumed that synergetic effect occurred. The increase rate of hexanal quantity during oxidation period for all the emulsions was similar, only in emulsion with coenzyme Q<sub>10</sub> its faster formation was observed.

**Key words:** antioxidant activity, coenzyme Q<sub>10</sub>, phytosterols, glutathione, hexanal 

HALINA STANIEK, EWELINA KRÓL, ZBIGNIEW KREJPCIO

## OCENA ZAWARTOŚCI ŻELAZA, CYNKU I MIEDZI W CAŁODZIENNYCH RACJACH POKARMOWYCH WYBRANYCH GRUP LUDNOŚCI

### Streszczenie

Celem badań było określenie podaży Fe, Zn i Cu w całodziennych racjach pokarmowych (CRP) dzieci w wieku szkolnym i osób w wieku emerytalnym. Badania przeprowadzono w maju i listopadzie 2000 r. w Domu Dziecka i w Domu Pomocy Społecznej (DPS) z rejonu północnej Wielkopolski. Stwierdzono, że CRP osób starszych były deficytowe w Zn i Cu, natomiast CRP dzieci dostarczały zbyt mało Cu. Podaż Fe w CRP pozwoliła na pokrycie zalecanej normy w obu badanych grupach. Pora roku nie miała istotnego wpływu na zawartość badanych składników mineralnych w CRP badanych grup.

**Słowa kluczowe:** żelazo, cynk, miedź, dzieci, ludzie starsi, całodziennie racje pokarmowe

### Wprowadzenie

Żelazo, cynk i miedź należą do mikroelementów niezbędnych do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania każdego organizmu. Ma to szczególne znaczenie w okresie dzieciństwa, które charakteryzuje się bardzo ruchliwym trybem życia, a jednocześnie intensywnym wzrostem i rozwojem organizmu [18]. Rozwój medycyny prewencyjnej, diagnostyki i terapii przyczyniają się do wydłużenia życia ludzkiego i wzrostu liczby ludności w wieku powyżej 60 lat w społeczeństwach rozwiniętych [2]. U ludzi starszych zmniejsza się podstawowa przemiana materii, a tym samym zmniejsza się zapotrzebowanie na energię. Utrudnia to pokrycie zapotrzebowania na wszystkie składniki pokarmowe, a szczególnie na składniki mineralne. Z licznych badań wynika, że sposób żywienia dzieci oraz osób w wieku emerytalnym wskazuje na wiele nieprawidłowości. Poziom pobrania tych składników może być zróżnicowany w zależności od populacji, regionu czy sytuacji ekonomicznej badanej grupy. W badaniach wielu autorów [1, 2, 5,

---

*Mgr inż. H. Staniek, mgr inż. E. Król, dr hab. Z. Krejpcio, Katedra Higieny Żywności Człowieka, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań*

6, 12, 17] stwierdzono zbyt niskie pobranie z diety takich składników mineralnych, jak: Ca, Mg, Fe, Zn i Cu. Świadomość, że poprzez prawidłowe żywienie można złagodzić, a nawet znacznie ograniczyć wiele niekorzystnych objawów w organizmie sprawia, że rośnie zainteresowanie problemami żywieniowymi wyżej wymienionych grup.

Celem badań było określenie podaży oraz ocena pokrycia zapotrzebowania na wybrane składniki mineralne (Fe, Zn i Cu) w całodziennych racjach pokarmowych (CRP) dzieci w wieku szkolnym oraz osób w wieku emerytalnym.

### **Material i metody badań**

Material do badań stanowiły jadłospisy dekadowe z Domu Dziecka w Trzemesznie i Domu Pomocy Społecznej w Skubarczewie, na podstawie których określano zawartość Fe, Zn oraz Cu w całodziennych racjach pokarmowych badanych grup. Przeanalizowano 10 jadłospisów z miesiąca maja i 10 jadłospisów z listopada 2000 r. Do oszacowania składników mineralnych w racjach pokarmowych posłużono się programem komputerowym „Dietetyk”. Do oceny pokrycia zapotrzebowania na wybrane składniki mineralne zastosowano „Normy żywienia człowieka” opracowane przez Ziemiańskiego i wsp. [21]. W stosunku do Fe i Zn przyjęto normę na poziomie zalecanego spożycia, natomiast Cu – średniego bezpiecznego spożycia. Normy dla dzieci ustalono jako średnią ważoną dla dwóch grup wiekowych: 7-9 lat i 10-15 lat (chłopcy i dziewczęta), a dla osób starszych jako średnia dla ludzi powyżej 60 roku życia.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Do określenia istotności różnic między wartościami średnimi zawartości składników w racjach pokarmowych w zależności od sezonu zastosowano test t-Studenta, przy poziomie istotności  $p < 0,05$ . Wszystkie obliczenia statystyczne wykonano przy użyciu programu kalkulacyjnego Exel wersja 6.0.

### **Wyniki i dyskusja**

W tab. 1. przedstawiono zawartość Fe, Zn i Cu w CRP badanych grup oraz stopień realizacji normy (RDA-*Recommended Dietary Allowances*). Średnia zawartość Fe w CRP dzieci z domu dziecka wynosiła  $15,8 \pm 2,7$  mg w okresie wiosennym, co stanowiło 121% zalecanej normy na ten pierwiastek. Jesienią natomiast CRP dostarczały  $19,0 \pm 4,2$  mg Fe, co odpowiadało 146% zalecanej normy. Z kolei podaż Fe z CRP w DPS wiosną była na poziomie  $14,1 \pm 6,4$  mg, a jesienią  $13,5 \pm 3,0$  mg, co stanowiło odpowiednio 101 i 96% zalecanej normy dla osób starszych. Zawartość Zn w CRP podawanych dzieciom w domu dziecka w maju i listopadzie wynosiła odpowiednio:  $12,5 \pm 1,8$  mg i  $15,2 \pm 3,1$  mg, pokrywając zapotrzebowanie na ten pierwiastek odpowiednio w: 104 i 127%. Analizowane CRP dla osób starszych dostarczały średnio  $12,3 \pm 3,1$  mg Zn/dobę wiosną oraz  $12,5 \pm 3,8$  mg Zn/dobę jesienią, co odpowiadało 85 i 86% realizacji zalecanej normy. Racje pokarmowe z DPS dostarczały średnio  $1,16 \pm$

0,36 mg Cu, co stanowiło tylko 51% realizacji zalecanej normy w okresie wiosennym. Jesienią CRP dostarczały  $1,24 \pm 0,26$  mg Cu jesienią, co pozwalało na pokrycie zalecanej normy dla tej grupy w 55%. Z kolei podaż Cu w diecie dzieci z domu dziecka wynosiła średnio  $1,63 \pm 0,31$  mg wiosną oraz  $1,78 \pm 0,42$  mg jesienią, co stanowiło odpowiednio 93 i 101% zalecanej normy. Analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic w podaży Fe, Zn i Cu z CRP w zależności od pory roku.

Wyniki wielu badań wartości odżywczej racji pokarmowych spożywanych przez różne grupy ludności w Polsce [1, 2, 5, 6, 12, 17] ujawniły deficyt takich składników mineralnych, jak: Ca, Mg, Fe, Zn i Cu. Wyniki niniejszych badań także wskazują na występowanie nieprawidłowości pod względem zawartości mikrośladków w CRP dzieci i ludzi starszych. Dotyczy to zwłaszcza niedoborów Cu w diecie osób starszych, dostarczana w ilościach stanowiących jedynie około połowę zalecanego dziennego spożycia. Niską podaż Cu w diecie pensjonariuszy z wielkopolskich DPS wykazali również Chalcarz i Spochacz-Przygocka [3]. Niedobory Cu w CRP kobiet i mężczyzn z regionu Wielkopolski stwierdzili w swoich badaniach także Bolesławska i wsp. [1]. Wyniki badań wielu prac krajowych i zagranicznych wskazują na niski poziom Cu w dietach wszystkich badanych grup ludności, niezależnie od wieku i płci [4, 10, 15]. Analiza badanych racji pokarmowych pod względem zawartości Zn wykazała dostateczną podaż tego pierwiastka w CRP dzieci, natomiast niedobory w diecie osób w wieku emerytalnym. Podobnie Skop i wsp. [17] stwierdzają niedostateczne spożycie Zn przez mieszkańców DPS. Znajduje to potwierdzenie również wśród innych wyników badań [1, 9, 20]. Rezultaty badań prowadzonych wśród polskiej młodzieży szkolnej [6, 7, 8, 19] wskazują na występowanie niedoborów Fe, Zn i Cu w tej populacji, niezależnie od pory roku [5].

Badane racje pokarmowe zarówno dzieci, jak i osób starszych były na ogół prawidłowo zbilansowane pod względem podaży Fe, w przeciwieństwie do większości publikowanych informacji o powszechnych niedoborach tego pierwiastka [1, 2, 6, 12, 13, 16], zawierały natomiast zbyt mało Zn i Cu. Pomimo obserwowanych, korzystnych z punktu widzenia zasad prawidłowego żywienia zmian, skład polskiej diety w dalszym ciągu nie odpowiada zaleceniom. Znajduje to potwierdzenie w licznych wynikach badań wskazujących na występowanie niedoborów składników odżywczych, w tym składników mineralnych w diecie polskiej populacji [1, 2, 6, 12, 13]. Jednym z nich jest niedostateczna zawartość składników mineralnych, których zarówno niedobory, jak i nadmiar, utrzymujące się przez dłuższy czas, mogą przyczyniać się do powstawania takich chorób cywilizacyjnych, jak: miażdżyca, nowotwory, osteoporoza czy cukrzyca [11].



Tabela 1

Zawartość oraz stopień pokrycia zalecanej dziennej podaży Fe, Zn i Cu w całodziennych racjach pokarmowych dzieci w wieku szkolnym i osób starszych w zależności od pory roku.  
Content and the realization degree of RDA for Fe, Zn and Cu in food diets of the school children and elderly people depending on the season of the year.

Parametr Parameter	Zawartość składników mineralnych w CRP [mg] Minerals content in daily food rations [mg]											
	Dzieci Children						Osoby starsze Elderly people					
	Fe		Zn		Cu		Fe		Zn		Cu	
	W*	J**	W	J	W	J	W	J	W	J	W	J
Wartość średnia ± SD Mean value ± SD	15,8 ±2,7	19,0 ±4,2	12,5 ±1,8	15,2 ±3,1	1,63 ±0,31	1,78 ±0,42	14,1 ±6,4	13,5 ±3,0	12,3 ±3,1	12,5 ±3,8	1,16 ±0,36	1,24 ±0,26
Zalecana dzienna podaż RDA	13,0		12,0		1,75		14,0		14,5		2,25	
% zalecanej dziennej podaży % of RDA	121	146	104	127	93	101	101	96	85	86	51	55
Analiza statystyczna Statistical analysis	NI		NI		NI		NI		NI		NI	

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\*W – Wiosna / Spring; \*\*J - Jesień / Autumn; NI - Różnice nieistotne statystycznie / differences statistically non-significant;

RDA - zalecana dzienna podaż /recommended dietary allowances.

## Wnioski

1. Stwierdzono dostateczną podaż Fe w diecie zarówno dzieci, jak i osób w wieku emerytalnym.
2. Pokrycie zapotrzebowania na Zn w diecie dzieci było odpowiednie, zbyt mała była natomiast podaż Cu. Z kolei w CPR osób powyżej 60 roku życia wystąpiły jednocześnie niedobory Zn i Cu.
3. Wykazano brak istotnych różnic w podaży składników mineralnych w CRP badanych grup ludności w zależności od pory roku.

## Literatura

- [1] Bolesławska I., Maruszewska M., Przysławski J.: Ocena poziomu spożycia wybranych mikroelementów występujących w całodziennych racjach pokarmowych kobiet i mężczyzn z regionu Wielkopolski. *Now. Lek.*, 2005, **74** (4), 366-368.
- [2] Bujko J., Myszkowska-Ryciak J., Nitka I.: Ocena spożycia składników mineralnych wśród studentów SGGW w Warszawie. *Żyw. Czł. Metab.*, 2005, supl. **1** cz. 1, 655-659.
- [3] Chalcarz W., Spychacz-Przygocka E.: Ocena spożycia składników mineralnych przez pensjonariuszy z wielkopolskich domów pomocy społecznej. *Now. Lek.*, 2005, **74** (4), 369-372.
- [4] Chalcarz W., Spochacz-Przygocka E.: Assessment of daily food rations in Care Homes for Older People in Poznań and the vicinity. *New Med.*, 2004, **7**, 5-7.
- [5] Czech A., Semeniuk V., Klebaniuk R.: Zawartość elementów mineralnych w dietach przedszkolnych w zależności od pory roku. *Żyw. Czł. Metab.*, 2005, supl. **1** cz.1, 617-623.
- [6] Dybkowska E., Świdorski F., Waszkiewicz-Robak B.: Spożycie składników mineralnych w polskiej diecie. *Żyw. Czł. Metab.*, 2005, supl. nr **1** cz.1, 200-204.
- [7] Iłow R., Regulska-Iłow B., Szymczak J.: Ocena sposobu żywienia chłopców ze szkół średnich z Głogowa i Lubina. Część II. Ocena ilościowa. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1999, **1**, 27-33.
- [8] Iłow R., Regulska-Iłow B., Szymczak J.: Ocena sposobu żywienia chłopców ze szkół średnich z Głogowa i Lubina. Część II. Ocena ilościowa. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1999, **1**, 43-50.
- [9] Kałuża J., Bagan A., Brzozowska A.: Ocena udziału witamin i składników mineralnych z suplementów w diecie osób starszych. *Roczn. PZH*, 2004, **55** (1), 51-61.
- [10] Ma J., Betts N.M.: Zinc and copper intakes and their major food sources for older adults in the 1994-96 Continuing Survey of Food Intakes by Individuals (CSFII). *J. Nutr.*, 2000, **130**, 2838-2843.
- [11] Matyska-Piekarska E.: Wpływ stresu oksydacyjnego na rozwój wybranych chorób na tle wadliwego żywienia. *Nowa Med.*, 1998, **21-22**, 7-8.
- [12] Olędzka R., Karpińska D., Majewska W., Bobrowska B.: Ocena spożycia żelaza, cynku i miedzi przez studentów w całodziennych racjach pokarmowych i suplementach. *Żyw. Czł. Metab.*, 2005, **1** cz.1, 455-460.
- [13] Ostrowska A., Siewczyński J., Gajewska M.: Wartość odżywcza całodziennych racji pokarmowych uczniów szkół średnich z województwa mazowieckiego. Część II. Składniki mineralne i witaminy. *Żyw. Czł. Metab.*, 2003, **1/2**, 367-371.
- [14] Sadowska J., Śliwińska U.: Ocena sposobu żywienia i stanu odżywienia osób w wieku starszym, zamieszkałych na terenach wiejskich. *Żyw. Czł. Metab.*, 2005, **3**, 187-202.
- [15] Sibai A., Zard C., Adra N., Baydoun M., Walla N.: Variations in nutritional status of elderly men and woman according to place of residence. *Gerontology*, 2003, **49**, 215-224.

- [16] Skibniewska K.A., Markiewicz K., Radzymińska M., Mozolewski W.: Dzielne pobranie żelaza i manganu przez dzieci i młodzież. Roczn. PZH, 2004, **55**, supl.47-50.
- [17] Skop A., Kowalczyk E.: Ocena sposobu żywienia i stanu zdrowia starszych mieszkańców domów pomocy społecznej. Now. Lek., 2005, **74** (4), 480-483.
- [18] Szczepaniak B., Górecka D., Jędrusek-Golińska A.: Nutritional preference among children at pre-school age. Acta Techn. Alim., 2002, **1** (2), 101-107.
- [19] Szponar L., Ołtarzewski M., Rychlik E.: Zawartość wybranych witamin i składników mineralnych w całodziennym pożywieniu Polaków. Żyw. Czł. Metab., 2002, supl. 114-118.
- [20] Wojtasiak A., Iwanow K., Rutkowska U., Kunachowicz H.: Jakość zdrowotna krajowych racji pokarmowych - Badania analityczne i ocena teoretyczna. Cz. VI. Zawartość miedzi, cynku i manganu. Żyw. Czł. Metab., 2000, **27** (2), 115-128.
- [21] Ziemiański Ś. red.: Normy żywienia człowieka. Podstawy fizjologiczne. Wyd. Lek. PZWL, 2001.

#### ASSESSMENT OF THE CONTENT OF IRON, ZINC AND COPPER IN THE DAILY FOOD DIETS IN SELECTED GROUPS OF POPULATION

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

The aim of this study was to assess the content of Fe, Zn and Cu in the daily food diets (DFR) of children at school age and elderly persons. The study was carried out in May and November 2000 in Orphanage and Social Welfare Houses from Northern Wielkopolska region. The dietary Zn content was too low in elderly people, while the Cu content was deficient in both groups. It was found that the intake of Fe covered recommended norms in both studied groups. No seasonal differences in the content of Fe, Zn and Cu in the daily food diets were observed.

**Key words:** iron, zinc, copper, children, older people, daily food diets 

KAROLINA STEMPIŃSKA, MARIA SORAL-ŚMIETANA

## SKŁADNIKI CHEMICZNE I OCENA FIZYKOCHEMICZNA ZIARNIAKÓW GRYKI – PORÓWNANIE TRZECH POLSKICH ODMIAN

### Streszczenie

Ziarniaki gryki zawierają składniki odżywcze, takie jak: białka, sacharydy, lipidy, pierwiastki oraz nieodżywcze: błonnik pokarmowy i frakcję skrobi odpornej na hydrolizę enzymatyczną. Na ich zawartość wpływa gatunek, odmiana i warunki środowiska. Celem badań była porównawcza charakterystyka ziarniaków polskich odmian gryki i wytypowanie materiału do dalszych badań.

Analizowano ziarniaki gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum* Moench) z krajowego rejestru odmian: Kora, Luba, Panda. Cechy fizyczne, masa 1000 nasion i udział okrywy nasiennej w masie ziarniaka nieznacznie różniły poszczególne odmiany. Nie różniły się natomiast zawartością skrobi i białek. Pod względem zawartości tłuszczu ziarniaki gryki tworzyły szereg malejący: Kora > Luba > Panda, a chromatograficzna analiza kwasów tłuszczowych wykazała obecność kwasów od C<sub>14</sub> do C<sub>22</sub> z ok. 90% udziałem kwasów: oleinowego (C<sub>18:1</sub>) i linolowego (C<sub>18:2</sub>). W błonniku pokarmowym określono proporcję frakcji IDF:SDF następująco: Kora i Panda 3:1, Luba 4:1, a frakcja skrobi niehydrolizowanej przez amylazę trzustkową szczególnie wyróżniała ziarniaki gryki odmiany Kora. Do dalszych badań wyselekcjonowano ziarniaki gryki odm. Kora, uwzględniając wyniki zawartości tłuszczu i skład kwasów tłuszczowych, ilość skrobi odpornej oraz frakcji rozpuszczalnej błonnika pokarmowego.

**Słowa kluczowe:** ziarniaki gryki, odmiana, składniki odżywcze i nieodżywcze o funkcji prozdrowotnej

### Wprowadzenie

Uprawa gryki przez ostatnie lata była ograniczana ze względu na zawodność plonowania tej rośliny. Jednak zainteresowanie ziarniakami gryki wzrosło, bowiem obok składników jednoznacznie odżywczych dostrzeżono również komponenty nieodżywcze, lecz o właściwościach prozdrowotnych. Ziarniaki gryki wyróżniają właściwości biologiczne, dietetyczne oraz profilaktyczno-lecznicze, jednak związki fenolowe i taniny oraz ich interakcje z białkami mogą wywoływać alergię [11]. Składniki chemiczne ziarniaków gryki są istotnym kryterium zastosowania tego surowca w przetwó-

stwie. Sacharydy osiągają w nich ok. 65% s.m. i decydują o ilości energii [13, 21], jednak ze względu na znaczący udział w skrobi ogółem frakcji odpornej na amylolizę [6], skrobię gryki zalicza się do niskoenergetycznej [2]. Zawartość białka w ziarniakach gryki, wg wielu autorów, osiąga poziom od 9-15% s.m. [20, 26], a nawet do 21% s.m. [13]. Ważny jest zbilansowany skład aminokwasowy z zawartością lizyny ok. 6 g/16 g N [13, 20, 26], która jest pierwszorzędowym aminokwasem ograniczającym w ziarniakach zbóż właściwych. Jednak szczególną cechą biochemiczną białek gryki jest znikoma frakcja prolamin i brak  $\alpha$ -gliadyny, stąd produkty uzyskane z ziarniaków gryki mogą być polecane w profilaktyce chorób przewodu pokarmowego oraz w żywieniu chorych na celiakię z pewnymi ograniczeniami w początkowej fazie diety [14].

Kryterium oceny jakości produktów spożywczych jest ich wartość odżywcza i właściwości sprzyjające zdrowiu, zatem poznanie rodzaju i ilości cennych dla organizmu człowieka składników w unikatowym krajowym surowcu wydaje się być znaczące. Stąd celem badań było uzyskanie informacji o charakterystyce fizykochemicznej ziarniaków gryki, w celu dokonania selekcji materiału w kierunku badań ich cech funkcjonalnych oraz doświadczeń żywieniowych.

### **Material i metody badań**

Badano ziarniaki polskich odmian gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum* Moench): Kora, Luba, Panda, ze zbiorów Stacji Hodowli Roślin w Palikijach w 2005 r. Analizowano nieobłuszczone ziarniaki gryki po rozdrobnieniu i uzyskaniu frakcji o cząstkach mniejszych niż 0,8 mm.

Określano cechy fizyczne ziarniaków: gęstość ziarna w stanie zsympnym [19], masę 1000 nasion oraz udział okrywy nasiennej. Analizowano: składniki białkowe metodą Kjeldahla [5, 17] z przelicznikiem 6,25; zawartość skrobi metodą polarymetryczną po wcześniejszej ekstrakcji rozpuszczalnych sacharydów [4]; ilość skrobi odpornej metodą Champ i wsp.[9]; zawartość składników mineralnych (popiół) [5, 18]. Tłuszcz surowy oznaczano w ekstrakcie eterowym. Tłuszczowce wolne wyodrębniano mieszaniną chloroform : metanol (2:1 v/v) i metylowano metodą Peiskera wg Żegarskiej i wsp. [27]. Kwasy tłuszczowe rozdzielano na kolumnie kapilarnej (długość 30 m, średnica wewnętrzna 0,32 mm), przy użyciu chromatografu Agilent Technologies 6890 N z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. Temp. detektora wynosiła 250°C, dozownika 225°C, kolumny 180°C. Fazę ciekłą stanowił Supelcowax 10, gaz nośny hel, przepływ 1cm<sup>3</sup>/min. Błonnik pokarmowy analizowano metodą grawimetryczną wg Aspa i wsp. [3].

Pomiary analityczne wykonano trzykrotnie, a z wyników liczone wartości średnie i korzystając z 2 niezależnych prób odmianowych określano odchylenie standardowe, opisanie w tabelach „±” oraz uwzględnionych na rysunkach.

## Wyniki i dyskusja

Analizę cech fizycznych, takich jak: masa 1000 nasion i gęstość ziarna w stanie zsypanym przedstawiono w tab.1., a udział okrywy nasiennej w masie ziarniaków gryki opisano na rys. 1.

Tabela 1

Cechy fizyczne ziarniaków gryki polskich odmian.  
Physical characteristics of buckwheat grains of Polish varieties.

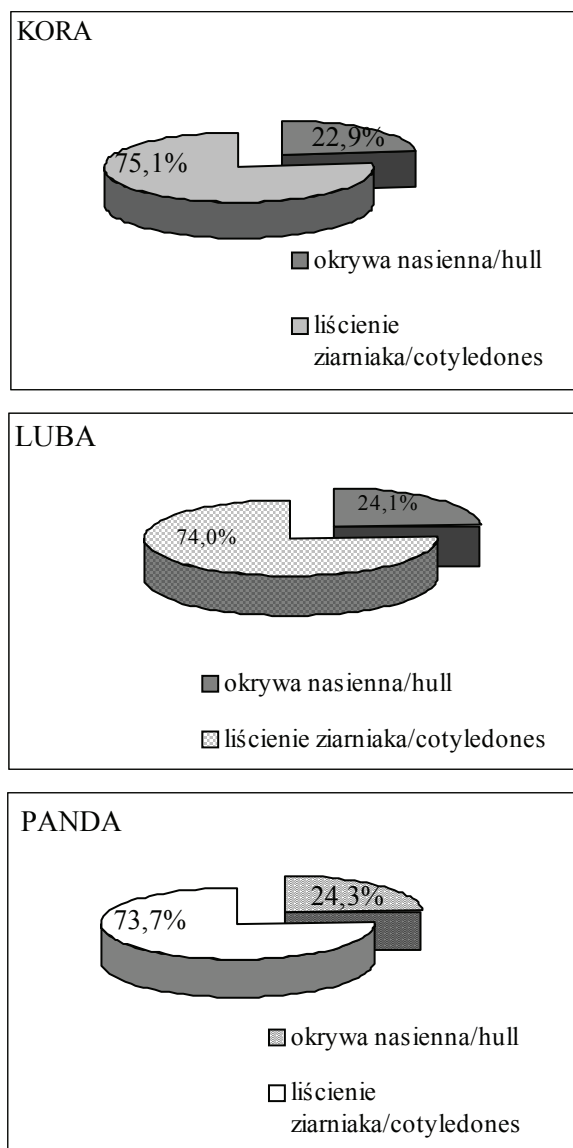
Parametr Parameter	Odmiana / Variety		
	Kora	Luba	Panda
Masa 1000 nasion [g] Weigh of thousand grains [g]	25,28 ± 0,11	26,99 ± 0,12	24,17 ± 0,34
Gęstość ziarna w stanie zsypanym [g/dm <sup>3</sup> ] Density of grain [g/dm <sup>3</sup> ]	705,03 ± 2,03	703,65 ± 2,76	652,25 ± 4,32

Masa 1000 nasion z odmian uprawianych w podobnych warunkach środowiska (zbiory 2005 r.) była zbliżona, a maksymalna różnica pomiędzy odmianami Luba i Panda wynosiła ok. 3 g (tab. 1). Potwierdzeniem najniższej masy ziarniaków gryki odmiany Panda były pomiary masy jednostki objętości wykonane w stanie zsypanym. Z kolei okrywa nasienna w tej odmianie stanowiła największy udział w masie ziarniaków (rys. 1), co znalazło odzwierciedlenie w zawartości popiołu w ziarniakach odmiany Panda (tab. 2).

Tabela 2

Podstawowe składniki chemiczne ziarniaków gryki.  
Chemical composition of buckwheat grains.

Odmiana Variety	Wilgotność Moisture [%]	Zawartość popiołu Ash content [%s.m./%d.m.]	Zawartość białek Protein content [%s.m./%d.m.]	Zawartość skrobi Starch content [%s.m./%d.m.]	Zawartość tłuszczów Lipids content [%s.m./%d.m.]
KORA	11,35 ± 0,03	2,32 ± 0,02	11,91 ± 0,19	63,64 ± 1,76	2,71 ± 0,10
LUBA	12,32 ± 0,05	2,21 ± 0,01	11,98 ± 0,05	66,00 ± 0,28	2,68 ± 0,03
PANDA	11,44 ± 0,2	3,42 ± 0,04	12,65 ± 0,05	64,23 ± 0,86	2,46 ± 0,04



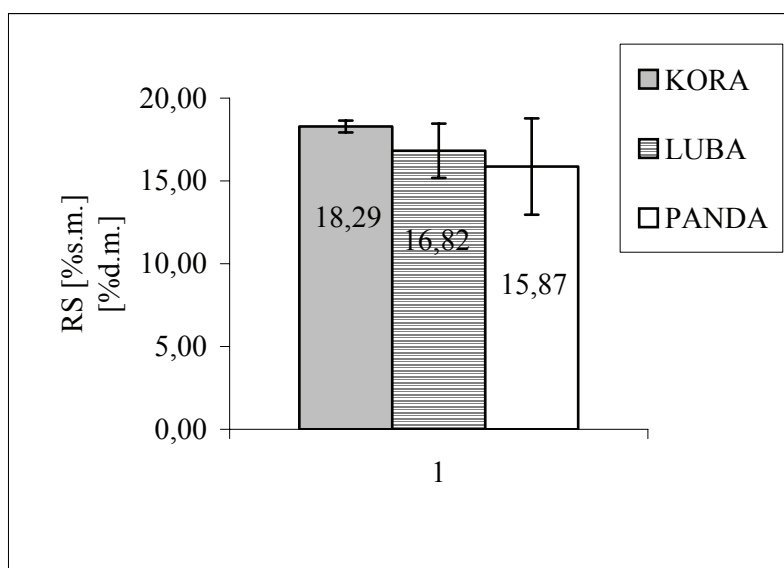
Rys. 1. Udział procentowy okrywy nasiennej w masie gryki ziarniaków.

Fig. 1. Hull Percentage in buckwheat grains mass.

Charakterystykę dalszych składników odżywczych ziarniaków gryki badanych polskich odmian przedstawiono w tab. 2. Na podstawie wyników ustalono, że zawartość białka ogółem wynosiła średnio 12,2% s.m i w analizowanych odmianach mieściła się w bardzo wąskim przedziale. O wysokiej stabilności gatunkowej gryki pod względem zawartości białek w ziarniakach, w handlowych próbach gryki polskiej

i brazylijskiej świadczy porównanie aktualnie uzyskanych wyników ze zbliżonymi otrzymanymi w Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie przed ponad 20 laty [20]. Zatem trudno się zgodzić z informacją wskazującą na bardzo duże zróżnicowanie zawartości białka w ziarniakach gryki (7 do 21%), tłumaczoną zależnością od prowadzonej uprawy i warunkami środowiska podczas wzrostu rośliny [25]. Uzyskane w niniejszych badaniach wyniki są bardziej porównywalne z prezentowanymi przez Wei i wsp. [26] w zakresie od 13,30 do 15,55%.

Badania drugiego biopolimeru w ziarniakach gryki – zawartości skrobi, wykazały także niewielkie zróżnicowanie (tab. 2), co sugeruje, że warunki klimatyczne ważne przy syntezie i gromadzeniu skrobi w przypadku tej rośliny nie mają tak dużego znaczenia. Uwagę zwraca jednak komponent, który jest frakcją skrobi, lecz nie jest hydrolizowany przez  $\alpha$ -amylazę trzustkową w górnym odcinku przewodu pokarmowego człowieka [6]. Analizując badane ziarniaki stwierdzono różnice zawartości frakcji skrobi odpornej pomiędzy poszczególnymi odmianami (rys. 2). Wyróżniały się pod tym względem ziarniaki gryki odmiany Kora.



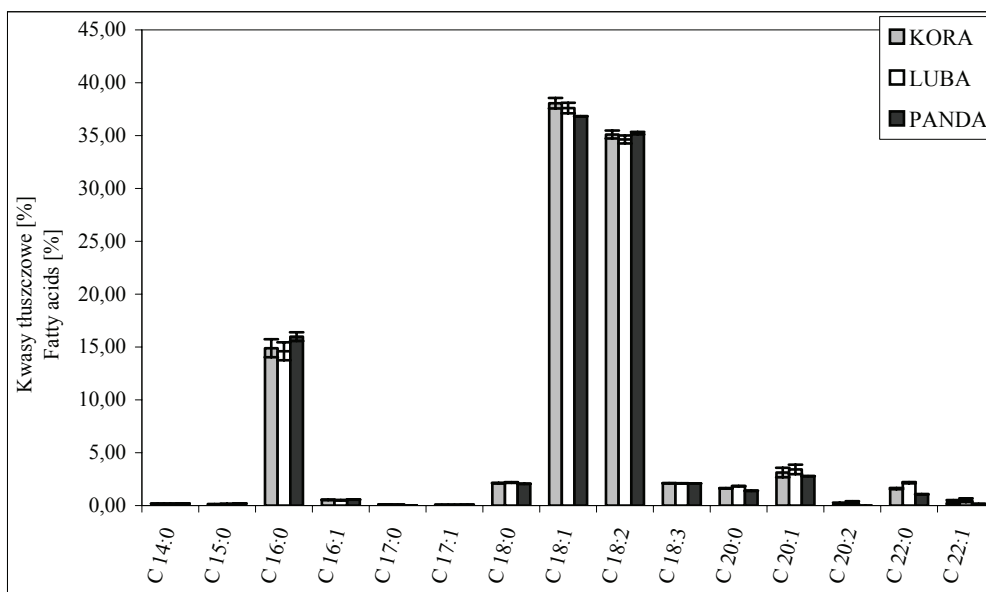
Rys. 2. Zawartość skrobi odpornej (RS) w ziarniakach gryki.

Fig. 2. Content of resistant starch in buckwheat grains.

Spośród dalszych składników odżywczych w ziarniakach gryki analizowanych odmian ustalono, że łączna zawartość tłuszczu w ekstrakcie eterowym kształtowała się w przedziale 2,4 - 2,7% s.m. (tab. 2). Jednak należy podkreślić, że także ten składnik wyróżniał odmianę Kora. Porównanie uzyskanych wyników w niniejszej pracy z opisanymi przez Krkošková i Mrázová [13] wskazało, że analizowane ziarniaki nieznacz-



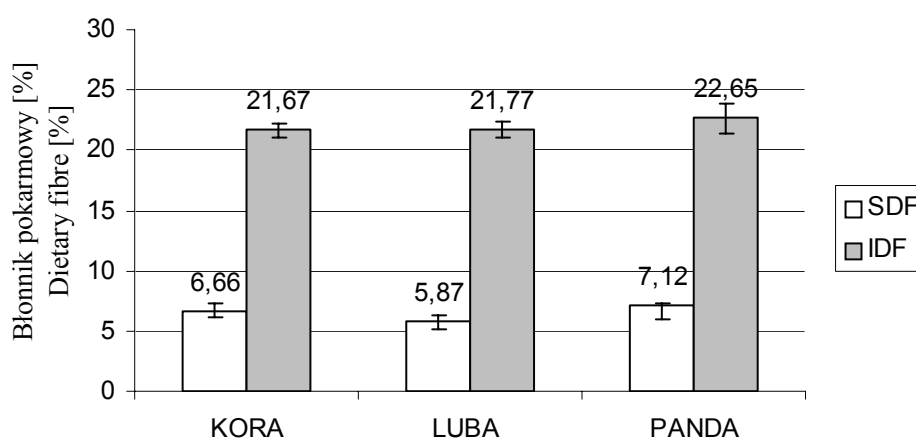
nie przewyższają tę uśrednioną wartość. Choć ilość składnika nie jest duża, ważne są kwasy tłuszczowe tworzące pulę tłuszczowców neutralnych. Triacyloglicerole są głównym komponentem neutralnej frakcji lipidowej ziarniaków gryki, zawierającej kwasy tłuszczowe od  $C_{12:0}$  do  $C_{22:0}$ , z przeważającym udziałem kwasów: oktadekanowego n-9 (oleinowego  $C_{18:1}$ ), oktadekatrienowego n-6 (linolowego  $C_{18:2}$ ) oraz heksadekanowego (palmitynowego  $C_{16:0}$ ) [22]. Skład kwasów tłuszczowych neutralnej frakcji lipidowej badanych ziarniaków gryki przedstawiono na rys. 3. Zaobserwowano dominujący udział nienasyconych kwasów tłuszczowych: oktadekanowego n-9 (oleinowego  $C_{18:1}$ ), oktadekatrienowego n-6 (linolowego  $C_{18:2}$ ) oraz nasyconego kwasu heksadekanowego (palmitynowego  $C_{16:0}$ ) w przypadku każdej odmiany. Różnice zawartości kwasów tłuszczowych pomiędzy odmianami nie były znaczące, jednak odmiana Kora dominowała nad pozostałymi badanymi. Otrzymane wyniki są zbliżone do przedstawionych przez Soral-Śmietanę i wsp.[22] oraz Bonafaccia i wsp.[7]. Ponieważ wielonienasycone kwasy tłuszczowe (WNKT) są niezbędne do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania organizmu człowieka szczególnie dlatego, że stanowią budulec błon komórkowych oddziałujący na ich barierowość, aktywność hormonalną i immunologiczną [15], ale również są źródłem prostaglandyn o działaniu przeciwmiażdżycowym i zmniejszają ryzyko chorób układu krążenia oraz zaburzeń na tle zapalnym i immunologicznym[12], stąd ich znaczenie w żywności i żywieniu.



Rys. 3. Skład kwasów tłuszczowych ziarniaków gryki.

Fig. 3. Fatty acids composition of buckwheat grains.

Wśród składników pełniących funkcje fizjologiczne na uwagę zasługuje błonnik pokarmowy. Włókno powinno być znaczącym składnikiem diety stosowanym w profilaktyce chorób cywilizacyjnych i dietozależnych, jak m.in. miażdżyca, cukrzyca i otyłość [16]. nierozpuszczalna frakcja błonnika pokarmowego pobudza ruchy perystaltyczne jelit, wpływając na ich lepszą motorykę i ukrwienie [8, 28]. Analiza błonnika pokarmowego wykazała przewagę frakcji nierozpuszczalnej w stosunku do rozpuszczalnej, a proporcja kształtowała się, jak 3:1 w przypadku ziarniaków gryki odmian Kora i Panda oraz 4:1 Luba (rys. 4).



Rys. 4. Zawartość błonnika pokarmowego w ziarniakach gryki.

Fig. 4. Content of dietary fibre in buckwheat grains.

Z kolei skrobia oporna, niehydrolizowana endoenzymami amylolitycznymi, jako składnik żywności pełni funkcje zbliżone do rozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego [23, 24]. Podobnie, jak błonnik pokarmowy charakteryzuje się wieloma korzystnymi dla zdrowia człowieka właściwościami: wpływa na obniżenie ilości glukozy we krwi (profilaktyka cukrzycy), zwiększa masę treści pokarmowej, jest substratem stymulującym wzrost mikroflory jelitowej przyczyniającym się do tworzenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w procesie fermentacji w jelicie grubym [9, 10]. Stąd wg ostatnio sformułowanej definicji [1] zaliczana jest do błonnika pokarmowego w grupie określanej jako „analogi węglowodanów”. Stężenie skrobi odpornej badanych ziarniaków gryki w ogólnej zawartości skrobi stanowiło 26-28% (tab. 2, rys. 2). Jednak jako składnik diety o specyficznych funkcjach biologicznych, ważny w prawidłowym funkcjonowaniu przewodu pokarmowego [24], będzie analizowana w dalszych badaniach oddzielnie.

Podsumowując niniejsze badania w aspekcie postawionego celu należy stwierdzić, że odmiana Kora winna stanowić materiał do dalszych badań, szczególnie ze

względu na zawartość i skład tłuszczowców neutralnych, zawartości skrobi opornej oraz wielkość frakcji rozpuszczalnej błonnika pokarmowego.

### Wnioski

1. Ziarniaki gryki badanych krajowych odmian są bogatym źródłem białek, skrobi ogółem, skrobi opornej i błonnika pokarmowego, składników niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu.
2. Dominująca zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych oktadekanowego n-9 (C<sub>18:1</sub> kwas oleinowy), oktadekatrienowego n-6 (C<sub>18:2</sub> kwas linolowy) w neutralnej frakcji lipidowej wskazuje na możliwości wykorzystania tego surowca w profilaktyce chorób dietozależnych.
3. Badane ziarniaki gryki wykazują podobną charakterystykę, jednak odmiana Kora wyróżnia się ilością tłuszczowców neutralnych z kwasami nienasyconymi n-6 i n-9, udziałem skrobi opornej oraz rozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego, dlatego też została wytypowana do dalszych badań.

### Podziękowanie

*Autorki dziękują Panu mgr Szymonowi Suheckiemu ze Stacji Hodowli Roślin w Palikijach za udostępnienie materiału do badań.*

### Literatura

- [1] AACC Report, The definition of dietary fibre. Cereal Foods World, 2001, **46**, 112-126.
- [2] Amarowicz R., Fornal Ł.: Wartość odżywcza gryki., Przegł. Gastr., 1986, **4**, 16-18.
- [3] Asp N., Johansson C., Hallmer H., Siljeström M.: Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber., J. Agric. Food Chem., 1983, **31**, 476-482.
- [4] AOAC, Official Methods of Analysis. 12<sup>th</sup> ed., Washington, 1975. USA.
- [5] AOAC, Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed., Arlington, 1990. USA.
- [6] Bird A.R., Brown I.L., Topping D.L.: Starches, Resistant Starches, the gut microflora and human health. Curr. Issues Intest. Microbiol., 2000, **1**, 25-37.
- [7] Bonafaccia, G., Marocchini, M., Kreft, I.: Composition and technological properties of the flour and bran common and tartary buckwheat. Food Chem., 2003, **80**, 9-15.
- [8] Brennan Ch.S.: Dietary fibre, glycaemic response and diabetes. Mol. Nutr. Food Res., 2005, **49**, 560-570.
- [9] Champ M., Martin L., Naoh., Gratas M.: Analytical methods for resistant starch. In: Complex Carbohydrates in Food, Eds . S.Sungsoo Cho, L. Prosky, M. Dreher. Marcel Dekker, Inc. New York 1999.
- [10] Fernandez M.L., Roy S., Vergara-Jimenez M.: Resistant starch and cholestyramwspe have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. Nutr. Res., 2000, **20** (6), 817-849.
- [11] Fornal Ł.: Chemizm nasion gryki i kierunki spożywczego wykorzystania. Biul. Nauk., 1999, **4**, 7-19.

- [12] Jelińska M.: Kwasy tłuszczowe - czynniki modyfikujące procesy nowotworowe. *Biol. Wydz. Farm.*, 2005, **1**, 1-14.
- [13] Krkošková B., Mrázová Z.: Prophylactic components of buckwheat. *Food Res. Int.*, 2005, **38**, 561-568.
- [14] Kunachowicz H., Wartość odżywcza produktów i potraw. W: *Dieta bezglutenowa co wybrać?* Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2001, pp. 9-25.
- [15] Larque E., Zamora S., Gil A., Dietary fatty acids in early life: a review. *Early Human Development*, 2001, **65**, 31-41.
- [16] Marlett J.A., McBurney M.I., Slavin J.L.: American Dietetic Association Reports. *J. Americ. Diet. Associat.*, 2002, **102/7**, 993-1000.
- [17] PN-EN ISO 3188:1994. Oznaczanie zawartości azotu metodą Kjeldahla. Metoda spektrofotometryczna.
- [18] PN-EN ISO 3593:1994. Oznaczanie popiołu.
- [19] PN-R-74007:1996. Ziarna zbóż. Gryka.
- [20] Soral-Śmietana M.: Białka ziarna gryki. *Post. Nauk Rol.*, 1984, **3**, 35-46.
- [21] Soral-Śmietana M., Fornal L., Fornal J.: Characteristics of buckwheat grain starch and the effect of hydrothermal processing upon its chemical composition, properties and structure. *Starch/Stärke*, 1984, **5**, 153-158.
- [22] Soral-Śmietana M., Fornal L., Fornal J.: Characteristics of lipids in buckwheat grain and isolated starch and their changes after hydrothermal processing. *Nahrung*, 1984, **28**, (5), 483-492.
- [23] Soral-Śmietana M.: Resistant starch-nutritional or non-nutritional component of food. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2000, **9/50**, 3S, 15-21.
- [24] Soral-Śmietana M., Wronkowska M.: Resistant starch – nutritional and biological activity. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **13/54**, 51-64.
- [25] Steadman K.J., Burgoon M.S., Lewis B.A., Edwardson S.E., Obendorf R.L.: Buckwheat seed milling fraction: description, macronutrient composition and dietary fibre. *J. Cereal Sci.*, 2001, **33**, 271-278.
- [26] Wei Y., Hu X., Zhang G., Ouyang S.: Studies on the amino acid and mineral content of buckwheat protein fractions. *Nahrung/Food*, 2003, **47**, 114-116.
- [27] Żegarska Z., Jaworski J., Borejszo Z.: Ocena zmodyfikowanej metody Peiskera otrzymywania estrów metylowych kwasów tłuszczowych. *Acta Acad. Agricult. Tech. Olst.*, 1991, **24**, 25-33.
- [28] Young G.P., Dietary fibre and colorectal cancer: A model for environment- gene interactions, *Review Mol. Nutr. Food Res.*, 2005, **49**, 571-584.

#### CHEMICAL COMPOUNDS AND PHYSICOCHEMICAL ESTIMATION OF BUCKWHEAT GRAINS – COMPARISON OF THREE POLISH VARIETIES

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

Grains of buckwheat contain valuable nutrients such as: proteins, saccharides, lipids, micro-, macroelements and non - nutritional: dietary fibre and resistant starch. Species, variety and environmental conditions influence on the contents of particular components. The aim of this study was comparative characteristics of buckwheat grains of Polish varieties to perform selection of material in profile of further researches.

The analysing material were buckwheat grains (*Fagopyrum esculentum* Moench) included in national register of varieties: Kora, Luba, Panda. Analysis of physical properties such as the mass of thousand grains, and percentage content of hull in mass of grain, did not show marking differences between varie-

ties. Content of starch and proteins was similar also. Content of lipids made decreasing order: Kora > Luba > Panda, but chromatographic analysis of fatty acids showed presence of acids from C14 to C12 with about 90% part of oleic acid (C18:1) and linoleic acid (C18:2). Analysis of dietary fibre showed the ratio of dietary fibre fractions IDF:SDF, expressed properly 3:1 (v. Kora), 3:1 (v. Panda), 4:1 (v. Luba), but fraction of not hydrolyzed starch by pancreas amylase especially distinguished the buckwheat grains of Kora variety. For further stage of buckwheat grains researches of Kora variety were selected because of results of fatty acids content and composition, resistant starch and soluble dietary fibre content.

**Key words:** buckwheat grains, variety, nutrients and non- nutritional with healthy value ☒

MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ, KATARZYNA RATUSZ,  
BOLESŁAW KOWALSKI

## STABILNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA LIPIDÓW KUKURYDZY

### Streszczenie

Jedną z bardzo ważnych funkcjonalnych właściwości produktów tłuszczowych wpływających na ich jakość jest stabilność przeciwutleniająca, czyli odporność na utlenianie. Najbardziej znaną i najczęściej stosowaną metodą badania stabilności tłuszczów jest test Rancimat.

Celem pracy była charakterystyka lipidów wyekstrahowanych z ziaren kukurydzy. Zboże przechowywano przez 4 miesiące i określano zmiany, jakie zachodzą w lipidach wyekstrahowanych z ziaren po każdym miesiącu przechowywania. Zakres pracy obejmował wyekstrahowanie tłuszczu z surowca i określenie jego charakterystyki (oznaczenie liczby kwasowej i liczby nadtlenkowej, składu kwasów tłuszczowych, zawartości frakcji polarnej i niepolarnej, określenie stabilności przeciwutleniającej).

Przechowywanie ziarniaków kukurydzy powodowało niewielki wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych we frakcji lipidowej (o 2,4% po 4 miesiącach). Skład kwasów tłuszczowych po czteromiesięcznym okresie przechowywania nie uległ wyraźnej zmianie. W wyekstrahowanym tłuszczu zaobserwowano 1,5-krotny wzrost liczby nadtlenkowej po 4 miesiącach przechowywania oraz obniżenie stabilności przeciwutleniającej (1,5-krotne).

**Słowa kluczowe:** kukurydza, lipidy, stabilność przeciwutleniająca, test Rancimat

### Wprowadzenie

Kukurydza zwyczajna (*Zea mays L.*) to gatunek rośliny jednorocznej z rodziny wiechlinowatych, należącej do zbóż. Jest to roślina jadalna, pastewna i przemysłowa. Do tych celów wykorzystuje się całe rośliny, całe kolby lub tylko ziarna [2].

Ziarniaki kukurydzy zawierają: białko (9,5%), tłuszcz (4,3%), skrobię (71,7%), błonnik (9,5%) [11]. Zarodek, będący surowcem olejarskim, w stanie suchym zawiera od 50,7 do 54,0% tłuszczu. W odmianach o dużej zawartości lipidów ich ilość w całym ziarnie dochodzi do 12,0% [8].

---

*Mgr inż. M. Wirkowska, dr inż. J. Bryś, prof. dr hab. B. Kowalski, Katedra Chemii, dr inż. K. Ratusz, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

Olej z zarodków kukurydzianych jest uważany za jeden z najwartościowszych pod względem zawartości substancji biologicznie czynnych, charakteryzuje się przy tym wysoką stabilnością, lekko pomarańczową barwą i łagodnym smakiem [3]. Lipidy kukurydzy zawierają kwasy tłuszczowe o korzystnym składzie chemicznym pod względem żywieniowym. Występujące w ziarnie kukurydzy tłuszcze zbudowane są w większości z nienasyconych kwasów tłuszczowych, takich jak linolowy, linolenowy i oleinowy, stanowiących 85% ogólnej ilości kwasów tłuszczowych. Z kwasów nasyconych występują: palmitynowy (14%) i stearynowy (1%) [9, 18].

Jedną z bardzo ważnych funkcjonalnych właściwości produktów wpływających na ich jakość jest stabilność przeciwutleniająca [12, 20]. Stabilność przeciwutleniająca zależy od składu i struktury kwasów tłuszczowych oraz od struktury cząsteczek triacylogliceroli, a także od jakości i ilości substancji towarzyszących triacyloglicerolom [12].

Duże znaczenie ma jakość i ilość frakcji nietriacyloglicerolowej. Obecne w tej frakcji tokoferole i karoteny wykazują działanie przeciwutleniające, natomiast wolne kwasy tłuszczowe i niepełne acyloglicerole mogą obniżać stabilność przeciwutleniającą produktu [7]. Odporność tłuszczów na utlenianie określa się na podstawie testów, zwanych testami stabilności. Testy mogą być przeprowadzone metodami statycznymi lub dynamicznymi. Metody statyczne polegają na określeniu jakości sensorycznej oraz oznaczeniu wskaźników chemicznych, opisujących stopień utlenienia w momencie badania. Metody dynamiczne polegają na skróceniu okresu indukcyjnego. Stopień utlenienia tłuszczu w tych metodach określa się na podstawie wyników przyspieszonego testu na utlenianie. Najbardziej znaną i najczęściej stosowaną metodą badania stabilności tłuszczów jest test Rancimat, który również zastosowano w niniejszej pracy [5, 19].

Celem pracy była charakterystyka lipidów wyekstrahowanych z ziaren kukurydzy.

### **Material i metody badań**

Do badań użyto kukurydzy odmiany *Zea mays indurata* pochodzącej z Centrum Nasiennictwa w Warszawie. Odmiana ta charakteryzuje się dużymi, zaokrąglonymi, szerokimi i gładkimi ziarniakami [2]. Wilgotność ziarna nie przekraczała 15%. Bezpośrednim przedmiotem badań był tłuszcz wyekstrahowany ze świeżych ziaren kukurydzy oraz z ziaren przechowywanych przez 1, 2, 3 i 4 miesiące w temp. 10°C.

W tłuszczu wyekstrahowanym heksanem na zimno oznaczano: liczbę kwasową metodą miareczkową [16], liczbę nadtlenkową metodą miareczkową [17], zawartość frakcji polarnej metodą chromatografii kolumnowej (długość kolumny 45 cm, średnica wewnętrzna 2 cm, faza stała Silica gel 60 firmy Merck Sp. z o. o. – wielkość ziaren 0,063 – 0,200 mm tj. 70 – 230 mesh ASTM) [15] oraz stabilność przeciwutleniającą metodą Rancimat (temp. pomiaru 100°C, przepływ powietrza 10 dm<sup>3</sup>/h) [14]. Liczbę

nadtlenkową oznaczano bezpośrednio przed wykonaniem testu Rancimat. Każde oznaczenie wykonano w dwóch równoległych powtórzeniach. W wyizolowanym tłuszczu określano również skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej [13] stosując aparat firmy Shimadzu GC 17A, wyposażony w kolumnę kapilarną wypełnioną fazą stacjonarną BPX 70 o dł. 30m, Ø wewnętrznej 0,22 mm i grubości filmu 0,25 µm, jako gaz nośny stosowano azot. Warunki rozdziału estrów metylowych kwasów tłuszczowych: temp. początkowa 60°C przez 1 min; przyrost temp. od 60 do 170°C w tempie 10°C/min.; przyrost temp. od 170 do 230°C w tempie 3°C/min.; temp. końcowa 230°C przez 15 min.; temp. injektora 225°C, temp. detektora 250°C, całkowity czas analizy 47 min. Na podstawie oznaczeń liczby kwasowej, zawartości frakcji polarnej i składu kwasów tłuszczowych obliczano zawartość wolnych kwasów tłuszczowych.

### Wyniki i dyskusja

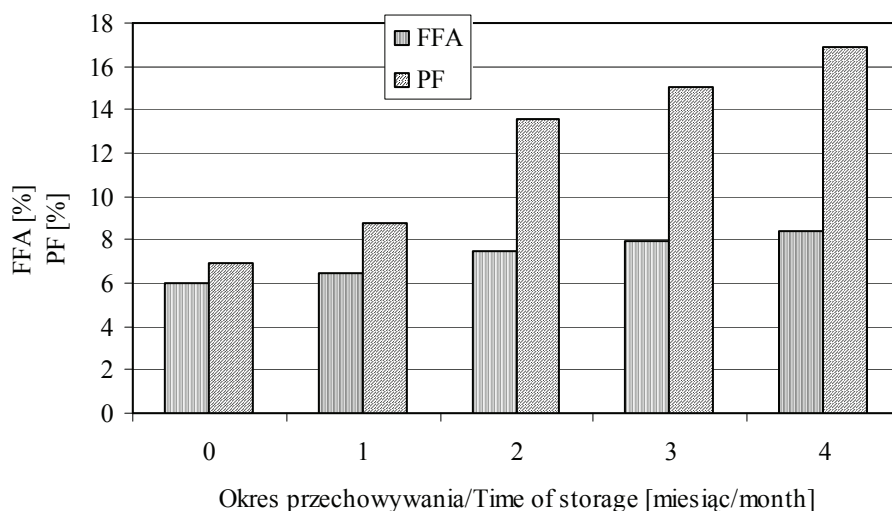
Tłuszcze naturalne są wieloskładnikową mieszaniną różnych lipidów, w której triacyloglicerole są podstawowym, lecz nie jedynym składnikiem. Poza triacyloglicerolami w tłuszczach występują również diacyloglicerole oraz monoacyloglicerole. Pozostałe lipidy, znajdujące się obok acylogliceroli, nazywane są substancjami towarzyszącymi. Ich zawartość jest zmienna i zależy m. in. od surowca tłuszczowego, sposobu wydobywania tłuszczu oraz stopnia jego rafinacji. Zawartość ta na ogół nie przekracza 1–2% [1]. Ziarna kukurydzy poddano jednokrotnej ekstrakcji. Zawartość tłuszczu w kukurydzy wynosiła około 4,7%. W wyekstrahowanym tłuszczu badano zawartość substancji towarzyszących: wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej (mono- i diacylogliceroli oraz wolnych kwasów tłuszczowych). Bezwzględna różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wolnych kwasów tłuszczowych nie przekraczała 3% średniej arytmetycznej tych wyników, co jest zgodne z Polską Normą [16]. W przypadku oznaczeń zawartości związków polarnych bezwzględne różnice pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń nie były większe niż 1%.

W trakcie przechowywania ziaren kukurydzy zaobserwowano wzrost zawartości frakcji niepełnych acylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych (rys. 1). Największy wzrost, odpowiednio o około 10 i 2,5% tych frakcji, zaobserwowano w tłuszczu wyizolowanym z ziaren kukurydzy po czwartym miesiącu przechowywania.

Tłuszcze należą do produktów nietrwałych i łatwo psujących się. Pod wpływem tlenu, powietrza, światła i temperatury oraz enzymów znajdujących się w tkankach roślinnych i zwierzęcych lub enzymów wytwarzanych przez drobnoustroje ulegają różnym przemianom. W procesach psucia się tłuszczów istotne znaczenie ma również woda. Działa ona bezpośrednio, biorąc udział w różnych reakcjach, oraz pośrednio umożliwiając działanie drobnoustrojów i enzymów [21]. Wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych może być spowodowany częściową hydrolizą wiązań estrowych

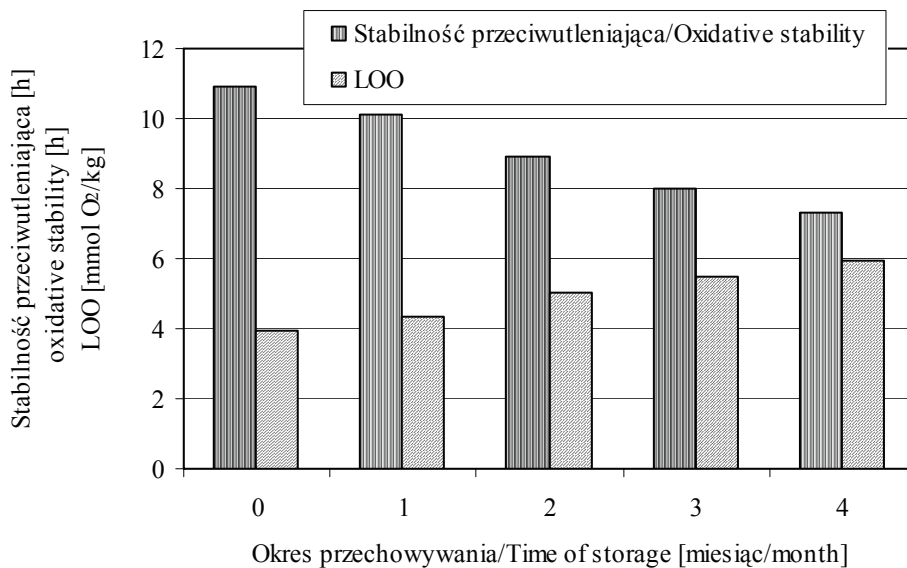


w cząsteczkach triacylogliceroli lipidów kukurydzy. Zwiększona zawartość frakcji nietriacyloglicerolowej może obniżać odporność tłuszczu na utlenianie, a także jest przyczyną strat substancji tłuszczowej [6].



Rys. 1. Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) i frakcji polarnej (PF) w lipidach z ziaren kukurydzy w czasie przechowywania.

Fig. 1. The content of free fatty acids (FFA) and polar fraction in lipids from corn grains during storage.



Rys. 2. Stabilność przeciwutleniająca i liczba nadtlenkowa (LOO) w lipidach z ziaren kukurydzy w czasie przechowywania.

Fig. 2. Oxidative stability and peroxide value in lipids from corn grains during storage.

Na skutek przechowywania ziaren kukurydzy stabilność przeciwutleniająca tłuszczu malała, natomiast liczba nadtlenkowa tego tłuszczu rosła (rys. 2). Znajduje to potwierdzenie w badaniach Naz i wsp. (wzrost liczby nadtlenkowej o 2 jednostki po 30 dniowym okresie przechowywania) [9, 10]. Stabilność przeciwutleniająca zależy między innymi od składu kwasów tłuszczowych. Im bardziej nienasycony jest kwas tłuszczowy, tym łatwiej ulega on utlenianiu [6]. Kwas linolowy utlenia się 10-40-krotnie szybciej niż oleinowy, natomiast linolenowy 2- 4-krotnie szybciej niż linolowy [1].

W badanych tłuszczach oznaczano skład kwasów tłuszczowych (tab. 1). W tłuszczu kukurydzianym kwasem występującym w przeważającej ilości był kwas linolowy (53,56%). Obok kwasu linolowego w znacznej ilości występował także kwas oleinowy (30,10%). Czteromiesięczne przechowywanie ziaren kukurydzy nie spowodowało znacznych zmian składu kwasów tłuszczowych. Zaobserwowano jedynie niewielkie zmniejszenie zawartości kwasów nienasyconych. Zmiany oksydacyjne zachodzące w nienasyconych kwasach tłuszczowych prowadzą do powstawania lotnych, głównie niskocząsteczkowych związków karbonylowych. Związki te przyczyniają się do powstawania niepożądanego zapachu, także w produktach zawierających małe ilości tłuszczu [4].

Tabela 1

Skład kwasów tłuszczowych w lipidach z ziaren kukurydzy, oznaczany w czasie przechowywania.

Fatty acid compositions in lipids from corn grains determined during storage.

Kwas tłuszczowy Fatty acid	Okres przechowywania [miesiąc] / Time of storage [month]				
	Próbka kontrolna Control sample	1	2	3	4
14:0	0,06	0,05	0,03	0,03	0,02
16:0	12,03	13,44	14,59	14,97	14,87
16:1	0,14	0,10	0,09	0,10	0,09
17:0	0,04	0,07	0,06	0,07	0,08
18:0	2,38	2,31	2,30	2,54	2,21
18:1 cis	30,10	29,27	28,93	28,32	28,89
18:2	53,56	53,12	52,40	52,38	52,30
$\gamma$ -linolenowy	0,93	0,92	0,88	0,91	0,87
20:1 cis	0,41	0,41	0,41	0,39	0,39
18:3	0,24	0,18	0,18	0,17	0,17
22:1	0,11	0,13	0,13	0,12	0,11
20:4	0,11	0,11	0,12	0,11	0,13

## Wnioski

1. Przechowywanie ziarniaków kukurydzy powoduje niewielki wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej w wyekstrahowanym tłuszczu.
2. W czasie przechowywania ziaren kukurydzy stabilność przeciwutleniająca tłuszczu wyekstrahowanego z tych ziaren maleje, natomiast liczba nadtlenkowa wzrasta.
3. Skład kwasów tłuszczowych po czteromiesięcznym okresie przechowywania nie uległ znaczącej zmianie. Zaobserwowano jedynie niewielkie zmniejszenie zawartości kwasów nienasyconych.

## Literatura

- [1] Drozdowski B.: Lipidy. W: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. WNT. Warszawa 1994, s. 167 – 188; 206–229.
- [2] Gąsiorowski H.: Kukurydza. Wiadomości ogólne. Część 1. Przegl. Zboż. Młyn., 2005, **10**, 31–33.
- [3] Jurga R.: Możliwości wykorzystania produktów przemiału kukurydzy. Przegl. Zboż. Młyn., 2003, **10**, 2–5.
- [4] Klensporf D., Jeleń H.: Analysis of volatile aldehydes in oat flakes by SPME – GC/MS. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2005, **4 (14/55)**, 389–395.
- [5] Kowalski B., Ratusz K., Kowalska D., Bekas W.: Determination of the oxidative stability of vegetable oils by Differential Scanning Calorimetry and Rancimat methods. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2004, **106**, 165–169.
- [6] Ledóchowska E., Datta I.: Wpływ frakcji nietriacyloglicerolowej na stabilność oksydacyjną tłuszczu przeestryfikowanego chemicznie i enzymatycznie. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1999, **18 (1)**, 15–24.
- [7] Małecka M.: Składniki frakcji nietriacyloglicerolowej olejów roślinnych jako przeciwutleniacze. Tłuszcze Jadalne, 1995, **30 (3)**, 123–130.
- [8] Michalski T.: Konsumpcyjne i przemysłowe zastosowanie kukurydzy. Przegl. Zboż. Młyn., 2003, **10**, 5–7.
- [9] Naz S., Sheikh H., Siddiqi R., Sayeed S.A.: Oxidative stability of olive, corn and soybean oil under different conditions. Food Chem., 2004, **88**, 253–259.
- [10] Naz S., Siddiqi R., Sheikh H., Sayeed S.A.: Deterioration of olive, corn and soybean oil due to air, light, heat and deep – frying. Food Res. Inter., 2005, **38**, 127–134.
- [11] Niewiadomski H.: Surowce tłuszczowe. WNT. Warszawa 2004, s. 178 – 180.
- [12] Płatek T.: Metoda określania stabilności oksydacyjnej olejów i tłuszczów w aparacie Rancimat. Tłuszcze Jadalne, 1995, **30 (1)**, 25–34.
- [13] PN-EN ISO 5508: 1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [14] PN-ISO 6886: 1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie stabilności oksydacyjnej (test przyspieszonego utleniania).
- [15] PN-EN ISO 8420: 1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości związków polarnych.
- [16] PN-ISO 660:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [17] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej.

- [18] Singh J., Singh N., Saxena S.K.: Effect of fatty acids on the rheological properties of corn and potato starch. *J. Food Eng.*, 2002, **52**, 9–16.
- [19] Szukalska E., Drozdowski B.: Metoda manostatyczna badania stabilności oksydatywnej tłuszczów. *Przem. Spoż.*, 1993, **4**, 108–110.
- [20] Wirkowska M., Bryś J., Kowalski B.: Stabilność przeciwutleniająca przeestryfikowanych miesznin tłuszczu mlekowego z olejem rzepakowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (43) Supl.**, 265–274.
- [21] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J. *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1991, s. 103–115.

### OXIDATIVE STABILITY OF THE LIPIDS FROM THE CORN GRAINS

#### S u m m a r y

Oxidative stability (resistance on oxidation) is very important functional specificity of fatty product. The most popular and most applied method to research of oxidative stability is Rancimat test.

The aim of this study was to examine the lipids in corn grains. Grains have been stored for 4 months. Changes which appear in the lipids from this grain after every month of storage have been monitored. The study included the separation of the fat from the grains and the characterization of separated fat (acid and peroxide values, fatty acids content, polar and nonpolar fraction contents, oxidative stability).

The storage of the corn grains caused a slight increase in the free fatty acids content in lipid fraction (about 2,4% after 4 months). The composition of the fatty acids after the four month of storage has not changed in any serious way. In extracted lipids a 1.5 times increase in peroxide value has been observed after 4 months of storage as well as a decrease in the oxidative stability (1.5 times).

**Key words:** corn, lipids, oxidative stability, Rancimat test 

MAŁGORZATA WRONIAK, JOANNA RAMOTOWSKA, MONIKA  
MATUSZEWSKA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI

## MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA OZNACZANIA IZOMERÓW TRANS KWASÓW TŁUSZCZOWYCH I 3,5-STIGMASTADIENU DO BADANIA AUTENTYCZNOŚCI OLEJÓW TŁOCZONYCH NA ZIMNO

### Streszczenie

Celem pracy była ocena autentyczności olejów nierafinowanych tłoczonych na zimno na podstawie oznaczenia izomerów trans kwasów tłuszczowych i zawartości 3,5-stigmastadienu metodą chromatografii gazowej. Materiałem badawczym było 30 olejów handlowych, dostępnych na rynku warszawskim: tłoczone na zimno z nasion, oliwy z oliwek: extra virgin, sansa, pomace, light, extra light i oleje rafinowane.

Wykazano, że obiektywną ocenę autentyczności olejów tłoczonych na zimno można wykonać na podstawie zawartości izomerów trans kwasów tłuszczowych i 3,5-stigmastadienu. Wyniki tych analiz mogą być kryterium do stwierdzenia zafałszowania olejów tłoczonych na zimno olejami rafinowanymi tego samego gatunku. Skład kwasów tłuszczowych analizowanych olejów był charakterystyczny dla poszczególnych gatunków olejów. W przypadku trzech olejów z nasion i sześciu oliw z oliwek wykryto izomery trans kwasów tłuszczowych na poziomie 0,1-0,6%. Tylko w oleju arachidowym nie oznaczono 3,5-stigmastadienu. Oliwy extra virgin charakteryzowały się niską zawartością 3,5-stigmastadienu (0,13 do 1,12 mg/kg). Szczególnie dużą zawartość tego związku (6,54 do 52,94 mg/kg) oznaczono w olejach z pestek winogron i słonecznikowym, tłoczonych na zimno oraz oliwach z oliwek typu sansa, pomace, light i extra light. Trzy spośród jedenastu przebadanych olejów z nasion deklarowanych jako tłoczone na zimno mogły być poddane rafinacji bądź zostały zafałszowane przez zmieszanie z olejami rafinowanymi (wykryto w nich zarówno obecność izomerów trans kwasów tłuszczowych, jak i 3,5-stigmastadienu).

**Słowa kluczowe:** oleje roślinne, oleje tłoczone na zimno, oliwy z oliwek, autentyczność, zafałszowanie, skład kwasów tłuszczowych, izomery trans, 3,5-stigmastadien

### Wprowadzenie

W ostatnich latach obserwuje się wzrost spożycia olejów jadalnych tłoczonych na zimno. Przyczynia się do tego pogląd, że oleje te znacznie przewyższają pod względem

---

*Dr inż. M. Wroniak, mgr inż. J. Ramotowska, mgr inż. M. Matuszewska, Katedra Technologii Żywności, prof. dr hab. M. Obiedziński, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa*

wartości odżywczej oleje rafinowane [5]. Bez wątplenia na pogląd ten ma również wpływ dobra opinia o tłoczonych na zimno oliwach z oliwek extra virgin, powszechnie uważanej za szlachetną i zdrową. Bardzo ważne jest, aby oleje charakteryzowały się wysoką jakością i były autentyczne. Szczególnie ta ostatnia cecha jest istotna ze względu na znane od wielu lat próby handlu zafałszowanymi olejami, a szczególnie oliwą z oliwek [1, 5, 10].

W Unii Europejskiej obowiązuje rozporządzenie 2568/91, zmienione rozporządzeniem 1989/2003 [13], w którym określone zostały metody oceny jakości oliwy z oliwek. Ma ono na celu zabezpieczenie wysokiej jakości i m.in. autentyczności oliw na rynku europejskim. W Polsce prowadzone są prace nad wdrażaniem tych metod w praktyce, do kontroli jakości importowanych oliw z oliwek, zgodnie z regulacjami UE [13]. Brakuje jednak krajowych i zagranicznych przepisów, które regulowałyby sprawę jakości innych olejów tłoczonych na zimno i gwarantowałyby ich bezpieczeństwo spożywania i autentyczność.

Do określania autentyczności olejów jadalnych może posłużyć analiza wielu związków chemicznych występujących w olejach, m. in. analiza składu kwasów tłuszczowych, w tym izomerów trans, składu steroli, triacylogliceroli, ECN 42, zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych w pozycji n-2 triacylogliceroli, zawartość substancji niezmydlających się, zawartość wosków, węglowodorów, alkoholi alifatycznych, triterpenowych i innych [1, 3, 13]. Do tego celu wykorzystuje się nowoczesne techniki chromatograficzne, głównie chromatografię gazową i cieczową, spektrometryczne: spektrometria masy, spektrometria magnetycznego rezonansu jądrowego, spektroskopia w podczerwieni, w ultrafiolecie, chemiluminescencja i inne. Tymi metodami można badać zafałszowania olejów dziewiczych olejami rafinowanymi tego samego gatunku, jak również innymi, tańszymi gatunkami olejów roślinnych [1, 11, 14].

Celem pracy była ocena autentyczności olejów nierafinowanych tłoczonych na zimno, dostępnych na rynku warszawskim na podstawie oznaczenia izomerów trans kwasów tłuszczowych i zawartości 3,5-stigmastadienu metodą chromatografii gazowej.

### **Material i metody badań**

Materiałem badawczym było 30 olejów handlowych różnych gatunków i różnych producentów (tab. 1). Określenia olejów i oliw zostały spisane z etykiet na opakowaniach. Oleje i oliwy zakupiono w sklepach warszawskich. Szczegółowa ocena jakości sensorycznej i chemicznej większości analizowanych olejów tłoczonych na zimno z nasion i dziewiczych oliw z oliwek została przedstawiona w pracy Wroniak i wsp. [16]

Tabela 1

Charakterystyka badanych olejów.  
Characteristics of examined oils.

Lp.	Oleje (kraj pochodzenia) / Oils (country of origin)
1	Sojowy tłoczony na zimno (Polska) / Soybean cold pressed (Poland)
2	Sojowy rafinowany (Polska) / Soybean refined (Poland)
3	Sezamowy tłoczony na zimno (Polska) / Sesame cold pressed (Poland)
4	Ślonecznikowy tłoczony na zimno nr 1 (Polska) / Sunflower cold pressed no 1 (Poland)
5	Ślonecznikowy tłoczony na zimno nr 2 (Niemcy) / Sunflower cold pressed no 2 (Germany)
6	Ślonecznikowy rafinowany (Polska) / Sunflower refined (Poland)
7	Rzepakowy tłoczony na zimno (Polska) / Rapeseed cold pressed (Poland)
8	Rzepakowy rafinowany (Polska) / Rapeseed refined (Poland)
9	Kukurydziany tłoczony na zimno (Polska) / Maize cold pressed (Poland)
10	Arachidowy tłoczony na zimno nr 1 (Polska) / Peanut cold pressed no 1 (Poland)
11	Arachidowy tłoczony na zimno nr 2 (Polska) / Peanut cold pressed no 2 (Poland)
12	Z pestek dyni tłoczony na zimno (Austria) / Pumpkin cold pressed (Austria)
13	Z pestek winogron nr 1 (Hiszpania) / Grapeseed no 1 (Spain)
14	Z pestek winogron nr 2 (Włochy) / Grapeseed no 2 (Italy)
15	Oliwa extra virgin nr 1 (Włochy) / Olive extra virgin no 1 (Italy)
16	Oliwa extra virgin nr 2 (Włochy) / Olive extra virgin no 2 (Italy)
17	Oliwa extra virgin nr 3 (Włochy) / Olive extra virgin no 3 (Italy)
18	Oliwa extra virgin nr 4 (Włochy) / Olive extra virgin no 4 (Italy)
19	Oliwa extra virgin nr 5 (Włochy) / Olive extra virgin no 5 (Italy)
20	Oliwa extra virgin nr 6 (Grecja) / Olive extra virgin no 6 (Greece)
21	Oliwa extra virgin nr 7 (Francja) / Olive extra virgin no 7 (France)
22	Oliwa extra virgin nr 8 (Hiszpania) / Olive extra virgin no 8 (Spain)
23	Oliwa extra virgin nr 9 (Hiszpania) / Olive extra virgin no 9 (Spain)
24	Oliwa extra virgin nr 10 (Hiszpania) / Olive extra virgin no 10 (Spain)
25	Oliwa extra virgin nr 11 (Włochy) / Olive extra virgin no 11 (Italy)
26	Oliwa sansa nr 12 (Włochy) / Olive sansa no 12 (Italy)
27	Oliwa sansa nr 13 (Włochy) / Olive sansa no 13 (Italy)
28	Oliwa pomace nr 14 (Grecja) / Olive pomace no 14 (Greece)
29	Oliwa light nr 15 (Hiszpania) / Olive light no 15 (Spain)
30	Oliwa extra light nr 16 (Hiszpania) / Olive extra light no 16 (Spain)

W celu oceny autentyczności olejów oznaczano skład kwasów tłuszczowych, w tym izomerów trans, metodą chromatografii gazowej [12]. Rozdział chromatograficzny estrów metylowych kwasów tłuszczowych wykonywano w kolumnie polarnej BPX 70 (50 m x 0,2 mm x 0,25 µm). Zastosowano programowany wzrost temperatury kolumny w zakresie od 140 do 210°C ze wzrostem w tempie 1,5°C/min. Temp. dozownika wyno-

siła 210°C, a detektora FID 220°C. Jako gaz nośny zastosowano hel. Analizę wykonywano przy użyciu chromatografu firmy Hewlett Packard 5890 Series II. Jako wynik oznaczenia podano procentową zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych.

Oznaczenie zawartości 3,5-stigmastadienu polegało na izolacji niezmydlających się składników zawartych w olejach, wydzieleniu frakcji sterolowej metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym dezaktywowanym 2% wody dejonizowanej i zebraniu odpowiednich frakcji, które po zagęszczeniu poddawano analizie metodą chromatografii gazowej [6, 8]. Dokładne postępowanie opisano w pracy Matuszewskiej i Obiedzińskiego [10]. Analizę chromatograficzną wykonano przy użyciu chromatografu firmy Hewlett Packard 5890 Series II wyposażonym w kolumnę z fazą niepolarną HP-1 (25 m x 0,2 mm x 0,2 µm) w następujących warunkach: temp. dozwolnika 300°C, detektora FID 320°C. Temperatura kolumny była programowana w zakresie od 235 do 285°C ze wzrostem w tempie 2°C/min. Na podstawie powierzchni pików i znanej ilości dodanego wzorca (3,5-cholestadienu) obliczano zawartość 3,5-stigmastadienu w mg/kg.

### Wyniki i dyskusja

Skład kwasów tłuszczowych w badanych olejach był typowy dla danych gatunków olejów [4] (tab. 2). W większości olejów tłoczonych na zimno nie wykryto izomerów trans kwasów tłuszczowych, z wyjątkiem trzech olejów: słonecznikowego nr 1 i dwóch olejów z pestek winogron. Nie wykryto ich również w żadnej z dziewiczych oliw z oliwek. Natomiast izomery trans kwasów tłuszczowych, w łącznych ilościach od 0,1 do 0,6%, stwierdzono w olejach rafinowanych i oliwach, które były z definicji i deklaracji na opakowaniu oliwami rafinowanymi zmieszany z oliwą dziewiczą lub oliwą z wyłoków oliwnych. Potwierdziło to zastosowanie zabiegów termicznych w wysokiej temperaturze w procesie otrzymywania tych olejów. Izomery trans kwasów tłuszczowych (oleinowego C18:1, linolowego C18:2, linolenowego C18:3) powstają, kiedy stosuje się drastyczne warunki procesu rafinacyjnego, szczególnie temp. 240°C w etapie odwaniania olejów [7, 9, 15]. Oznaczona ilość izomerów trans nie przekroczyła wartości, określonych w rozporządzeniu UE. Suma izomerów trans wszystkich kwasów tłuszczowych w oliwach rafinowanych nie powinna być wyższa niż 0,5%, w oliwach z wyłoków 0,75%, a w dziewiczych 0,1% [13].

W analizowanych olejach tłoczonych na zimno oznaczono również zawartość 3,5-stigmastadienu (tab. 2). Zawartość 3,5-stigmastadienu to parametr jakości, powszechnie stosowany w Europie do oceny autentyczności oliw z oliwek [13]. We wcześniejszych badaniach Matuszewskiej i Obiedzińskiego [10] oznaczenie 3,5-stigmastadienu pozwoliło na określenie stosowanej technologii, na przykładzie badania olejów rzepakowych na poszczególnych etapach produkcji oraz określenie zafałszowania oliwy dziewiczej przez dodatek oliwy rafinowanej.







Obecność stigmastadienów (suma wszystkich izomerów) w olejach tłoczonych na zimno świadczy o zafałszowaniu ich olejami rafinowanymi lub oddziaływaniu temperatury w procesie technologicznym np. o suszeniu surowca. Związki te powstają przez dehydratację  $\beta$ -sitosterolu w procesach rafinacyjnych. Największe ilości 3,5-stigmastadienu występują w olejach rafinowanych, czyli poddanych zarówno obróbce chemicznej, jak i termicznej. Do powstawania dużych ilości stigmastadienów przyczyniają się szczególnie procesy bielenia i odwaniania [2, 3, 5]. W oliwach dziewiczych stwierdza się śladowe ilości tych związków, mniej niż 0,01 mg/kg. W oliwach uzyskanych z surowca suszonego zawartość ta może wzrosnąć do 3 mg/kg. W oliwach rafinowanych w zależności od zastosowanych warunków rafinacji zawartość stigmastadienów może wahać się od 1 do 120 mg/kg [2, 6, 10]. Codex Alimentarius [4] i przepisy UE [13] określają maksymalną ilość stigmastadienów w oliwach dziewiczych na poziomie 0,15 mg/kg.

Analiza uzyskanych wyników wykazuje, że tylko w przypadku oleju arachidowego tłoczonego na zimno nie stwierdzono obecności 3,5-stigmastadienu, podobnie jak to miało miejsce w badaniach Verleyen i wsp. [14] oraz De Panfilis i wsp. [5]. Natomiast w pozostałych olejach wykryto pewne ilości 3,5-stigmastadienu. Oliwy extra virgin charakteryzowały się niską zawartością 3,5-stigmastadienu od 0,13 do 1,12 mg/kg. Szczególnie dużą zawartość tego związku nawet do 52,94 mg/kg wykryto w olejach z pestek winogron i słonecznikowym, tłoczonych na zimno oraz oliwach z oliwek *salsa*, *pomace*, *light* i *extra light*.

Stwierdzono, że szeroko stosowane w praktyce laboratoryjnej, rutynowe oznaczenia jakości olejów jadalnych mogą być pomocne przy ocenie autentyczności badanych olejów. Uzyskane w niniejszej pracy wyniki potwierdziły bowiem przypuszczenia wynikające z wcześniejszych badań [16], że znajdujące się na rynku oleje z pestek winogron były olejami rafinowanymi. W olejach tych stwierdzono zarówno obecność izomerów trans kwasów tłuszczowych, jak i 3,5-stigmastadienu (tab. 2). Analizowane oleje z pestek winogron charakteryzowały się, w badaniach Wroniak i wsp. [16], jasną barwą, delikatnym smakiem i zapachem, miały niską liczbę kwasową oraz wysoką liczbę anizydynową.

## Wnioski

1. Skład kwasów tłuszczowych analizowanych olejów był charakterystyczny dla poszczególnych gatunków olejów.
2. Ocenę autentyczności olejów tłoczonych na zimno można wykonać na podstawie oznaczania zawartości izomerów trans w składzie kwasów tłuszczowych i zawartości 3,5-stigmastadienu. Wyniki tych analiz mogą być kryterium do stwierdzenia zafałszowania olejów tłoczonych na zimno olejami rafinowanymi tego samego gatunku.

3. Trzy spośród jedenastu przebadanych olejów z nasion deklarowanych jako tłoczony na zimno mogły być poddane rafinacji, bądź zostały zafalszowane przez zmieszanie z olejami rafinowanymi. Oznaczono w nich zarówno izomery trans kwasów tłuszczowych, jak i 3,5-stigmastadien.
4. Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych, w tym izomerów trans, można uznać za proste i łatwe, w porównaniu z oznaczaniem 3,5-stigmastadienu, ze względu na nieskomplikowane przygotowanie próbki i wykonanie analizy. Potwierdzono, że szeroko stosowane w praktyce laboratoryjnej, rutynowe oznaczenia jakości olejów jadalnych mogą być pomocne przy ocenie autentyczności olejów.

### Literatura

- [1] Aparicio R., Aparicio –Ruiz R.: Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *J. Chromatogr.*, 2000, **881**, 93-104.
- [2] Cert A., Lanzon A., Carelli A., Albi T.: Formation of stigma 3,5 –diene in vegetable oils., *Food Chem.*, 1994, **49**, 287-296.
- [3] Cert A., Moreda W., Perez-Camino M.C.: Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. *J. Chromatogr.*, 2000, **881**, 131-148.
- [4] Codex Alimentarius FAO/WHO: Fat, Oils and Related Products, The Codex Alimentarius, vol. 8, Rome 2001.
- [5] De Panfilis F., Toschi G. T., Lecker G.: Quality control for cold-pressed oils. *INFORM*, 1998, **9**, 212-221.
- [6] Dobarganes M.C., Cert A., Dieffenbacher A.: The determination of stigmastadienes in vegetable oils. *IUPAC, Pure & Appl. Chem.*, 1999, **71**, 349-359.
- [7] Gogolewski M., Nogala-Kałużka M., Szeliga M.: Changes of tocopherol and fatty acid contents in rapeseed oil during refining. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2000, **120**, 618-623.
- [8] IOOC COI/ T.20/Doc. no. 11/Rev.2. (2001). Method of analysis: Determination of stigmastadienes in vegetable oils.
- [9] Lee D.S., Noh B.S., Bae S.Y., Kim K.: Characterization of fatty acids composition in vegetable oils by gas chromatography and chemometrics. *Analitica Chimica Acta*, 1998, **358**, 163-175.
- [10] Matuszewska M., Obiedziński M.W.: Określenie autentyczności oliw z oliwek za pomocą składu kwasów tłuszczowych oraz zawartości 3,5-stigmastadienu. *Tłuszcze Jadalne*, 2001, **36**, 3-4, 137-146.
- [11] Morenda.W., Perez-Camino M.C., Cert A.: Gas and liquid chromatography of hydrocarbons in edible vegetable oils. *J. Chromatogr.*, 2001, **936**, 159-171
- [12] PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [13] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1989/2003 z 6 listopada 2003 r. zmieniające rozporządzenie (EWG) nr 2568/91 w sprawie właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wytlóczyn oliwek oraz w sprawie odpowiednich metod analizy, Dz. U. 2003 Nr 295, s. 0057-0077.
- [14] Verleyen T., Szulczewska A., Verhe R., Dewettinck K., Huyghebaert A., Greyt W.: Comparison of steradiene analysis between GC and HPLC. *Food Chem.*, 2002, **78**, 267-272.
- [15] Wagner K. H., Auer E., Elmadfa I.: Content of trans fatty acids in margarines, plant oils, fried products and chocolate spreads in Austria. *Eur Food Res. Technol.*, 2000, **210**, 237-241.
- [16] Wroniak M., Kwiatkowska M., Krygier K.: Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2006, **47**, 46-58.

**THE POSSIBILITIES OF USAGE OF TRANS IZOMERS OF FATTY ACIDS AND  
3,5-STIGMASTADIENE INDICATION TO THE INVESTIGATION OF AUTHENTICITY  
OF COLD PRESSED OILS**

S u m m a r y

The aim of this study was to investigate the authenticity of cold pressed oils on the ground of content of trans isomers of fatty acids and 3,5- stigmastadiene by gas chromatography method. 30 accessible on the Warsaw market trade oils: cold pressed from seeds and for comparisons refined and olive oils: extra virgin, sansa, pomace, light, extra light were the investigative material.

It was shown, that the determination of authenticity of cold pressed oils was possible to execute on the ground of the analyses of trans isomers of fatty acids and the determination of 3,5-stigmastadiene. Results of these analyses can be the criterion of adulterations cold pressed oils by refined oils of the same kind. The fatty acid composition of analysed oils was characteristic for individual species of oils. In the case of three oils from seeds and in six olive oils trans isomers of fatty acids on the level 0,1-0,6% were detected. Only in peanut oil 3,5-stigmastadiene was not detected. Extra virgin olive oils had low content of 3,5-stigmastadiene (0,13 to 1,12 mg/kg). Particularly large content of this compound (6,54 to 52,94 mg/kg) was detected in the grapeseed oils, sunflower cold pressed oil and olive oils of type sansa, pomace, light, and extra light. Three oils from among eleven from the seeds which were declared as cold pressed could be subjected by refinement or become falsified by confusion by refined oils. In both the presence of trans isomers of fatty acids and 3,5- stigmastadiene was detected.

**Key words:** vegetable oils, cold-pressed oils, olive oil, authenticity, adulteration, fatty acid composition, trans isomer, 3,5-stigmastadiene ☒

ANNA ŻBIKOWSKA, KATARZYNA MARCINIAK-ŁUKASIAK,  
KRZYSZTOF KRYGIER

## WPLYW ZAWARTOŚCI IZOMERÓW TRANS W TŁUSZCZACH NA JAKOŚĆ CIASTEK FRANCUSKICH Z MAK O RÓŻNEJ WARTOŚCI TECHNOLOGICZNEJ

### Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu dodatku tłuszczu, w zależności od zawartości izomerów trans nienasyconych kwasów tłuszczowych, na wybrane cechy jakościowe ciastek francuskich wypieczonych z mąk o różnej wartości wypiekowej.

Zakres pracy obejmował ocenę jakości sześciu roślinnych, stuprocentowych tłuszczów różniących się składem kwasów tłuszczowych, a zwłaszcza zawartością izomerów trans (od 4,1% do 54,2%). Skład kwasów tłuszczowych oznaczono metodą chromatografii gazowej. Zastosowano dwie mąki różniące się liczbami glutenowymi (LG = 34 i LG = 49). Określono, po 24 godz. od wypieku, objętość oraz jakość sensoryczną ciastek francuskich otrzymanych z udziałem badanych tłuszczów.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że wzrost zawartości izomerów trans w tłuszczach nie podnosi znacząco jakości ciastek francuskich otrzymanych z mąki o niskiej wartości wypiekowej. Wzrost zawartości form trans w tłuszczach nie wpływa na wzrost objętości ciastek francuskich z mąki o niskiej wartości liczby glutenowej. Przy zastosowaniu tłuszczów z udziałem izomerów trans na poziomie średnim (9,9 do 27,7%) wykazano poprawę walorów sensorycznych ciastek francuskich z mąki o niższej wartości liczby glutenowej, w porównaniu z ciastkami z mąki o wyższej LG.

**Słowa kluczowe:** izomery trans nienasyconych kwasów tłuszczowych, liczba glutenowa, jakość ciastek francuskich

### Wprowadzenie

Do produkcji ciast francuskich stosowane są bardzo duże dodatki tłuszczów, które mogą stanowić nawet 40% składu recepturowego [4, 9].

Ze względu na charakter tych ciast, tłuszcze do ich produkcji muszą mieć stałą konsystencję. Stała konsystencja wiąże się z wysoką temperaturą topnienia tłuszczów

---

*Dr inż. A. Żbikowska, dr inż. K. Marciniak-Łukasiak, prof. dr hab. K. Krygier, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Technologii Żywności Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C 02-776 Warszawa*

i wysoką zawartością fazy stałej. Na te cechy fizyczne decydujący wpływ ma skład kwasów tłuszczowych. Wysoką temp. topnienia charakteryzują się kwasy tłuszczowe nasycone i izomery trans. Produkty z ciasta francuskiego stanowią istotne źródło kontrowersyjnych pod względem żywieniowym izomerów trans, jak również nasyconych kwasów tłuszczowych. Izomery trans mogą zwiększać ryzyko powstawania chorób serca, łatwo są wbudowywane w błony fosfolipidowe i wówczas funkcje tych błon mogą ulegać zmianom prowadzącym m.in. do powstawania nowotworów. Nie ma jednak jednoznacznych dowodów, które potwierdziłyby właściwości kancerogenne tych związków [2, 7].

Z drugiej strony izomery trans mogą pozytywnie wpływać na cechy fizyczne czy też sensoryczne tzw. ciast ciężkich [16]. Z badań przedstawianych przez Daniewskiego [5] czy Balasa [1] wynika, że zdecydowana większość producentów wyrobów ciastkarskich stosuje tłuszcze zawierające duże ilości izomerów trans. Producenci takich wyrobów, przy wyborze tłuszczu, powinni kierować się nie tylko właściwościami technologicznymi surowca [9, 16], czy też panującymi opiniami o tych tłuszczach, ale również względami żywieniowymi [2, 7].

Celem pracy było określenie możliwości podwyższenia jakości ciastek francuskich z mąki o niskiej wartości wypiekowej poprzez dodatek tłuszczów o różnej zawartości izomerów trans.

### **Material i metody badań**

Praca swym zakresem obejmowała ocenę właściwości sześciu roślinnych tłuszczów piekarskich, o konsystencji stałej i zawartości izomerów trans od 4,1 do 54,2% oraz ocenę wybranych cech jakościowych ciastek francuskich otrzymanych z dwóch mąk różniących się znacząco liczbą glutenową (LG = 34 i LG = 49).

W pracy zastosowano tłuszcze wytwarzane w skali przemysłowej:

- w Zakładach Przemysłu Tłuszczowego w Warszawie: 1 – palmowy, o zawartości 70% frakcji ciekłej i 30% utwardzonej frakcji stałej; 2 – palmowo-kokosowy; 4 – roślinny „Wars”; 6 – uwodorniony rzepakowy;
- importowane ze Szwecji: 3 – roślinny „Akobake M”; 5 – roślinny „Akobake K”.

Wyższy numer tłuszczu oznacza jednocześnie wyższą zawartość izomerów trans kwasów tłuszczowych.

Ciasto francuskie przygotowano wg zaleceń Ambroziaka [14]. Ciasto podstawowe sporządzono z mąk pszennych typu 500 - 287,5 g; jaj - 31,3 g; wody 125 g i soli - 1,8g. Dodatek tłuszczu wynosił 250 g i stanowił 36% składu recepturowego. Ciastka wypiekano w piecu konwekcyjno-parowym (Electrolux AR 85) w temp. 200°C przez 15 min.

W tłuszczach oznaczano skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej (GC) zgodnie z normami [10, 11]. Badanie wykonano przy użyciu chromogra-

fu gazowego HP 6890, wyposażonego w kolumnę kapilarną o długości 60 m i średnicy zewnętrznej 0,22 mm.

Po 24 godz. od wypieku określano objętość ciastek francuskich oraz ich jakość sensoryczną, wg PN [13] stosując współczynniki ważkości: jednolitość partii – 0,10; wygląd zewnętrzny – 0,15; tekstura – 0,35; smak i zapach 0,40 [3].

Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu komputerowego Statgraphics Plus 4.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi wykonano testem Duncana, przy  $p < 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

### Charakterystyka surowca tłuszczowego

Zgodnie z założeniami pracy wszystkie tłuszcze zastosowane do wytworzenia ciast francuskich różniły się istotnie statystycznie pod względem zawartości izomerów trans kwasów tłuszczowych (TFA) przy  $p < 0,05$  (tab.1). Tak duże zróżnicowanie ilości TFA w tłuszczach stosowanych do wyrobów ciastkarskich jest typowe, zarówno w kraju, jak i za granicą [1, 6].

W przypadku ciast francuskich niezbędna jest stała konsystencja tłuszczu, który dzięki wysokiej temperaturze topnienia zapobiega sklejanemu się warstw ciasta podczas wałkowania i wypieku [16].

Wszystkie tłuszcze różniły się statystycznie istotnie również pod względem zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA). Największymi zawartościami SFA, wynoszącymi 53,9 i 52,7%, charakteryzowały się tłuszcze o najmniejszej zawartości TFA (tab. 1).

Tabela 1

Charakterystyka badanych tłuszczów.  
Characteristic of examined fats.

Cechy tłuszczów Parameter of fats	Rodzaj tłuszczu / Brand of fats					
	1	2	3	4	5	6
TFA [%] NIR/ LSD =0,50	4,1a	9,9b	16,2c	24,3d	27,7e	54,2f
SFA [%] NIR/LSD =0,66	53,9f	52,7e	36,4d	26,0b	27,6c	21,2a
SFC [%] 5°C NIR / LSD =0,71	54,7a	77,4e	57,4c	56,2b	67,0d	81,5f
SFC [%] 25°C NIR / LSD =0,40	9,5a	36,6e	22,1c	15,1b	22,3c	35,1d
tt [°C] / SMP NIR / LSD = 0,50	30,4a	35,1c	34,9c	33,4b	35,6d	40,2e



W związku z tym, że ciasto surowe wytwarzano w temp. 23°C i schładzano w 5°C, w tab. 1. zamieszczono zawartości fazy stałej (SFC) w zbliżonej temp. Wszystkie tłuszcze różniły się statystycznie istotnie pod względem SFC w temp. 5°C. Zawartość fazy stałej w temp. 25°C wahała się od 9,5% (tłuszcz 1) do 36,6% (tłuszcz 2). Poza tłuszczami 3. i 5. wszystkie pozostałe różniły się statystycznie istotnie pod tym względem. Zdaniem Świderskiego [15], tłuszcze o zawartości SFC powyżej 35% kruszą się i z tego powodu mogą przyczyniać się do powstawania nieprawidłowego ciasta francuskiego. Tłuszcze o najwyższej zawartości fazy stałej w temp. 5 i 25°C to jednocześnie tłuszcze o największych łącznych zawartościach TFA i SFA (tab. 1).

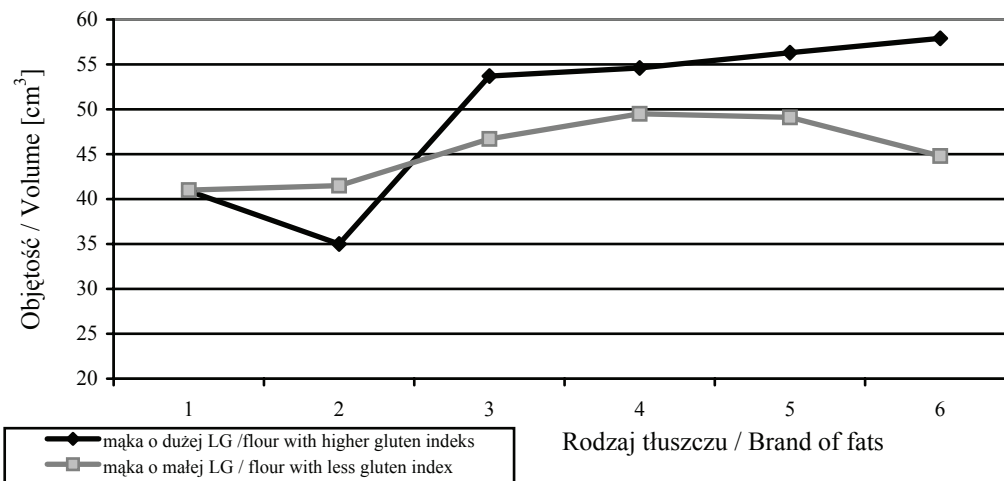
Temp. topnienia (tt) to ważny parametr charakteryzujący tłuszcz i określający jego przydatność do ciasta francuskiego. Według PN [12] tłuszcze piekarskie i cukiernicze powinny charakteryzować się temp. topnienia powyżej 10°C, wymóg ten spełniały wszystkie badane tłuszcze (tab.1). Wszystkie tłuszcze, poza 2. i 3., różniły się statystycznie istotnie pod względem tt. Zastosowanie tłuszczów o tt powyżej 43°C może być przyczyną powstawania nieprzyjemnego posmaku w ustach podczas konsumpcji ciastek na zimno [8]. Najniższą tt charakteryzował się tłuszcz palmowo-kokosowy (1), o najmniejszej zawartości TFA (4,1%), co może być przyczyną powstawania ciasta surowego mokrego, a to z kolei powoduje zlepianie się warstw i powstawanie produktu o nieprawidłowej strukturze. Niska tt może być również przyczyną wycieku tłuszczu podczas wypieku [16].

#### *Porównanie jakości ciastek w zależności od wartości technologicznej użytej mąki*

Ciastka otrzymane z udziałem tłuszczów o małej zawartości izomerów trans, z mąki o wysokiej liczbie glutenowej (LG), cechowały się mniejszą objętością niż ciastka z mąki o niskiej LG. W pozostałych wariantach (tłuszcze o średniej i dużej zawartości TFA) ciastka z mąki o wysokiej LG uzyskały większe objętości od ciastek z mąki o niskiej liczbie glutenowej (rys. 1). Ogólnie można stwierdzić, że większą objętość uzyskały ciastka z mąki o dużej LG przy zastosowaniu tłuszczów o średnich i dużych zawartościach TFA.

Ciastka z mąki o niskiej wartości liczby glutenowej, z tłuszczami o najmniejszych zawartościach TFA, pod względem smaku i zapachu były oceniane wyżej od ciastek z mąki o wysokiej LG.

Przy zawartości TFA w tłuszczach od 16,2 do 27,7%, w ocenie smaku i zapachu ciastek francuskich nie występowały wyraźne różnice. Natomiast w przypadku tłuszczu o najwyższej zawartości TFA, otrzymane z jego udziałem ciastka z mąki o małej wartości LG były oceniane zdecydowanie niżej w porównaniu z ciastkami z mąki o wysokiej wartości liczby glutenowej (rys. 2).



Rys. 1. Objętość ciastek francuskich w zależności od rodzaju tłuszczu i wartości LG.

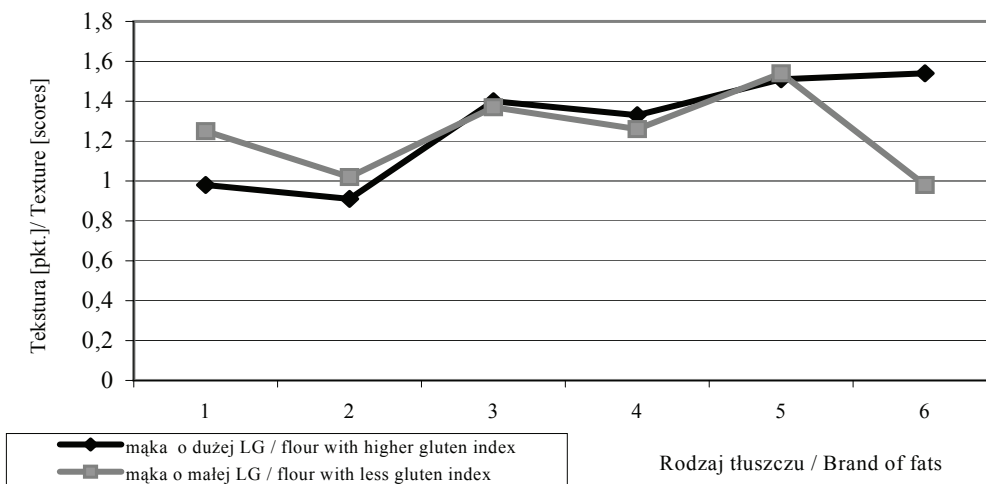
Fig. 1. Volume of puff-pastries cakes depended on fats and gluten index.



Rys. 2. Ocena smaku i zapachu ciastek francuskich w zależności od rodzaju tłuszczu i wartości LG.

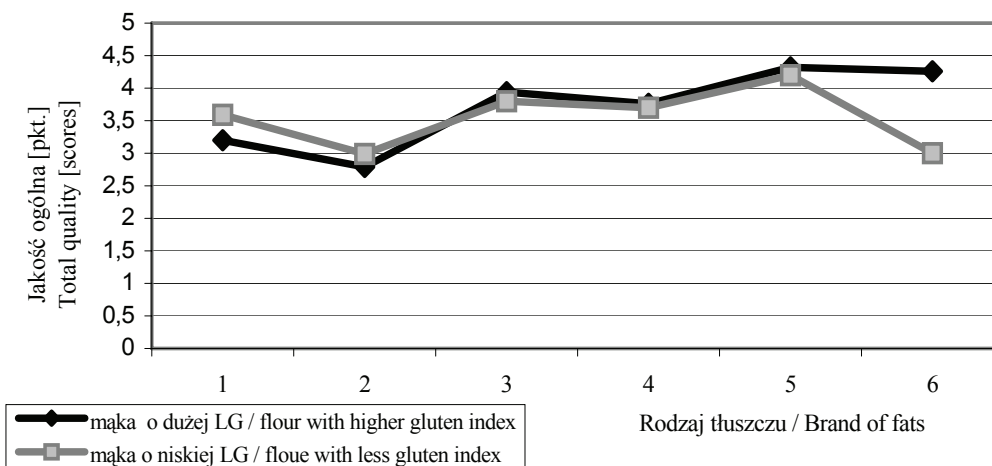
Fig. 2. Taste and aroma of puff-pastries cakes depended on fats and gluten index.

W wyrobach z ciasta francuskiego tekstura odgrywa bardzo ważną rolę, gdyż w sposób istotny wpływa na akceptację produktu przez konsumenta. Ciastka z mąki o małej wartości LG, z tłuszczami o mniejszych zawartościach TFA (4,1 oraz 9,9%) pod względem tekstury zostały ocenione wyżej od ciastek z mąki o dużej LG z tymi samymi tłuszczami. Przy zawartości TFA 16,2 i 24,3%, w ocenie tekstury produktów gotowych z mąk o różnych wartościach LG nie występowały wyraźne różnice. Natomiast w przypadku tłuszczów o najwyższej zawartości TFA otrzymane z ich udziałem ciastka z mąki o małej LG były oceniane bardzo nisko pod względem tekstury (rys. 3).



Rys. 3. Sensoryczna ocena tekstury ciastek francuskich w zależności od rodzaju tłuszczu i wartości LG.  
Fig. 3. Sensory quality of texture of puff-pastries cakes depended on fats and gluten index.

Ciastka z mąki o niższej wartości LG, z tłuszczami o najmniejszych zawartościach TFA uzyskały wyższe noty jakości ogólnej od ciastek z mąki o wysokiej LG. Przy zawartości TFA od 16,2 do 27,7% w tłuszczach w ocenie jakości ogólnej produktów nie występowały różnice. Natomiast w przypadku tłuszczów o najwyższych zawartościach TFA otrzymane z ich udziałem ciastka z mąki o małej LG uzyskały dużo niższe noty (rys. 4).



Rys. 4. Jakość ogólna ciastek francuskich w zależności od rodzaju tłuszczu i wartości LG.  
Fig. 4. Total quality of puff-pastries cakes depended on fats and gluten index.

Generalnie produkty finalne przy zastosowaniu tłuszczu o zawartości TFA powyżej 16% były lepszej jakości niezależnie od zastosowanej mąki. Należy zwrócić uwagę na fakt, że w przypadku jakości sensorycznej różnice pomiędzy ciastkami bez względu na wartość wypiekową mąki były niewielkie.

### Wnioski

1. Wzrost zawartości izomerów trans w tłuszczach nie podwyższał znacząco jakości ciastek francuskich otrzymanych z mąki o niskiej wartości wypiekowej.
2. Wzrost zawartości izomerów trans w tłuszczach nie wpływał na zwiększenie objętości ciastek francuskich z mąki o niskiej wartości liczby glutenowej.
3. Przy zastosowaniu tłuszczów z udziałem izomerów trans na poziomie średnim (9,9 do 27,7%) stwierdzono poprawę walorów sensorycznych ciastek francuskich z mąki o niskiej liczbie glutenowej, w porównaniu z ciastkami z mąki o wysokiej liczbie glutenowej
4. Najwyższą jakością charakteryzowały się ciastka francuskie z tłuszczami o największej zawartości izomerów trans kwasów tłuszczowych (54,2%) i z mąki o wysokiej wartości liczby glutenowej.

### Literatura

- [1] Balas J.: Kwasy tłuszczowe w rynkowych produktach spożywczych Cz. I. Bezpieczna Żywność, 2001, **1**, 20-21.
- [2] Bartnikowska E., Obiedziński M.: Unsaturated trans fatty acids - nutritional problem? Pol. J. Food Nutr. Sci., 1997, **6** (47), 1-20.
- [3] Baryłko-Pikielna N.: Zarys analizy sensorycznej żywności. WNT, Warszawa 1975, s. 316-321.
- [4] Brzozowska E.: Technologia ciast o strukturze kruchej, rozdz. 22. W: Podstawy technologii gastronomicznej – pod red. Zalewskiego S. WNT. Warszawa 1997.
- [5] Daniewski M., Mielniczuk E., Jacórzyński B., Pawlicka M., Balas J.: Skład kwasów tłuszczowych, w szczególności izomerów trans nienasyconych kwasów tłuszczowych, w produktach spożywczych. Żyw. Człow. Metab., 1998, **2**, 133-148.
- [6] Erp-Baart M.A., Couet C., Cuadrado C., Kafatos A., Stanley J., Poppel G.: Trans fatty acids in bakery products from 14 European countries. J. Food Comp. Anal., 1998, **11**, 161-169.
- [7] Juttelstad A.: The marketing of trans fat- free foods. Food Technology, 2004, **1** (58), 20.
- [8] Manley D.J.R.: Technology of biscuits, crackers and cookies. Elish Harwood, Market Cross House, London 2000, pp. 61-62.
- [9] Pisarek S: Ciasto francuskie. Przegl. Piek., Cuk., 2001, **10**, 48-51.
- [10] PN-EN ISO 5508:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [11] PN-ISO 5509:2000 - Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [12] PN-A-86902:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Tłuszcze cukiernicze i piekarskie.
- [13] PN-A-74252:1998. Wyroby i półprodukty ciastkarskie. Metody badań.

- [14] Praca zbiorowa.: Ciastkarstwo także dla piekarzy. Receptury, normy, porady i przepisy prawne - red. Ambroziak Z. Wyd. Spółdzielcze, Warszawa 1994.
- [15] Świdorski F. (red): Żywność wygodna i żywność funkcjonalna. WNT. Warszawa 1999, s. 180-189.
- [16] Żbikowska A., Rutkowska J., Krygier K.: Effects of trans-isomer content in fats on the quality of puff-pastry cakes. In: Culinary Arts and Science V. Global and National Perspectives. Ed J.S.A. Edwards, B. Kowrygo, K. Rejman, Bournemouth University and Warsaw Agricultural University 2005, pp. 279-291.

#### INFLUENCE OF TRANS ISOMERS CONTENT IN FATS ON QUALITY OF PUFF-PASTRY CAKES PRODUCED FROM DIFFERENT KINDS OF FLOUR

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

The aim of this paper was to determine the influence of fat addition, in dependence of trans isomers of fatty acids content on chosen quality features of puff-pastry cakes with different flour.

The quality of six 100% vegetable fats was determined. Examined fats differed in fatty acids composition, especially in trans isomers content (from 4,1 to 54,2%). The fatty acids content in fats was determined using a gas chromatography. Two flour were used, one with higher (IG = 34) and other with less gluten index (IG=49). Quality of puff-pastry (volume, sensory parameters) were determined after 24 hours after baked.

On base of carried research it was claimed that increase of trans isomers content has not effected in significant way on the puff-pastry cakes with flour with less gluten index. Increase of trans isomers content has no influence on volume improving of puff-pastry cakes with flour with small gluten index. During application of fats containing trans isomers (from 9,9 to 27,7%) better sensoric values of puff-pastry cakes with flour with small gluten index were noticed in comparing to cakes with high gluten index.

**Key words:** trans isomers of fatty acids, gluten index, quality of puff-pastry cakes ☒

MONIKA KĘPIŃSKA

## ANALIZA EPIDEMIOLOGICZNA ZATRUĆ POKARMOWYCH W POLSCE W PORÓWNANIU Z DANymi UNII EUROPEJSKIEJ

### Streszczenie

Celem pracy było porównanie danych epidemiologicznych dotyczących zarejestrowanych zatruc pokarmowych z dwudziestu pięciu państw członkowskich Unii Europejskiej. W celu dokonania analizy przyczyn występowania zatruc pokarmowych prześledzono informacje takie, jak: liczba osób chorych w wyniku zatruc pokarmowych, czynniki etiologiczne, rodzaj żywności związanej z konkretnym przypadkiem zatrucia pokarmowego, miejsce, gdzie żywność została spożyta lub nabyta, miejsce, gdzie żywność uległa skażeniu oraz czynniki sprawcze.

Stwierdzono, że zatrucia pokarmowe były najczęściej pochodzenia bakteryjnego, a ich przyczyną są pałeczki z rodzaju *Salmonella*. Wśród produktów żywnościowych wywołujących najliczniejsze masowe zatrucia pokarmowe w Polsce znajdowały się ciasta, ciastka, desery i lody (zawierające jaja), w drugiej kolejności mięso i produkty mięsne. W pozostałych krajach Unii takimi produktami były jaja, żywność zawierająca jaja, mięso i produkty mięsne (w tym drób), a na ostatnim miejscu słodczyce, ciasta, ciastka, desery i lody.

Przeanalizowane dane epidemiologiczne wskazują gospodarstwa rolne jako miejsca, w których w Polsce najczęściej dochodziło do skażenia żywności i tym samym wprowadzenia do łańcucha żywnościowego drobnoustrojów patogennych związanych z zatruciami pokarmowymi. W pozostałych krajach UE najczęstszym miejscem skażenia żywności były restauracje. Najwięcej zatruc pokarmowych, zarówno w Polsce, jak i w UE, było wynikiem spożycia w gospodarstwach domowych żywności o nieodpowiedniej jakości mikrobiologicznej. Zastosowanie zanieczyszczonych surowców pochodzenia zwierzęcego było przyczyną większości masowych zatruc pokarmowych w Polsce. W UE, w tej kategorii zatruc, domino wało przerwanie łańcucha chłodniczego w produkcji i dystrybucji żywności, a na drugim miejscu znajdowało się użycie zanieczyszczonych surowców.

Ze względu na brak możliwości prowadzenia kontroli sanitarnej w „domowej kuchni” niezbędne jest upowszechnianie wiedzy dotyczącej higieny postępowania z żywnością.

**Słowa kluczowe:** zatrucie pokarmowe, epidemiologia zatruc pokarmowych, żywność

## Wprowadzenie

Zatrucia pokarmowe są częstą przyczyną masowych zachorowań, które objawiają się ostrymi zaburzeniami przewodu pokarmowego. Zaburzenia te występują najczęściej po spożyciu żywności zawierającej czynniki szkodliwe dla zdrowia, a niekiedy nawet dla życia człowieka. Światowa Organizacja Zdrowia zaleca obecnie nazwę: choroby wywołane przez żywność i wodę (foodborne and waterborne diseases) [2].

Zarówno w krajach rozwiniętych, jak i rozwijających się, zatrucia pokarmowe są rosnącym problemem zdrowia publicznego [8]. Dane z USA wskazują, że co roku około 76 mln ludzi choruje w wyniku zatruc pokarmowych, a 5 tys. z tego powodu umiera [3].

Celem pracy było porównanie danych epidemiologicznych dotyczących zarejestrowanych zatruc pokarmowych w Polsce i w innych państwach członkowskich Unii Europejskiej.

## Material i metody badań

Material do badań stanowiły raporty z krajów europejskich zbierane w ramach WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe [6, 7, 9]. Raporty te dotyczą danych epidemiologicznych zatruc pokarmowych z okresu od 1985 do 2000 roku. Do badań wykorzystano dane pochodzące z dwudziestu pięciu obecnych państw członkowskich Unii Europejskiej, w tym Polski.

W celu dokonania analizy przyczyn występowania zatruc pokarmowych dane ujęto w sześciu następujących kategoriach:

- czynniki etiologiczne zarejestrowanych ognisk zatruc pokarmowych,
- zapadalność na choroby pokarmowe wywołane bakteriami z rodzaju *Salmonella*,
- rodzaj żywności związany z rejestrowanymi ogniskami zatruc pokarmowych,
- czynniki sprawcze,
- miejsca spożycia żywności łączone z ogniskami zatruc pokarmowych,
- miejsca gdzie żywność została zanieczyszczona.

W miarę możliwości brakujące dane dotyczące zapadalności na salmonelozę uzupełniono wykorzystując zestawienia Eurostatu [4].

## Wyniki i dyskusja

Przeprowadzona analiza danych epidemiologicznych wykazała, że zatrucia pokarmowe zarówno w Polsce, jak i w innych krajach członkowskich Unii Europejskiej były najczęściej pochodzenia bakteryjnego. Główną ich przyczyną były bakterie z rodzaju *Salmonella*. W Polsce (1993-2000), zarejestrowane ogniska zatruc pokarmowych pałeczkami *Salmonella* stanowiły 89,4% ogólnej liczby ognisk, w których czynnik etiologiczny był znany, a w UE (1987-2000) 65,1% (tab. 1).

Tabela 1

Zarejestrowane ogniska zatruc pokarmowych w wybranych krajach UE w latach 1987-2000 i w Polsce w latach 1993-2000. Podział ze względu na czynniki etiologiczne.

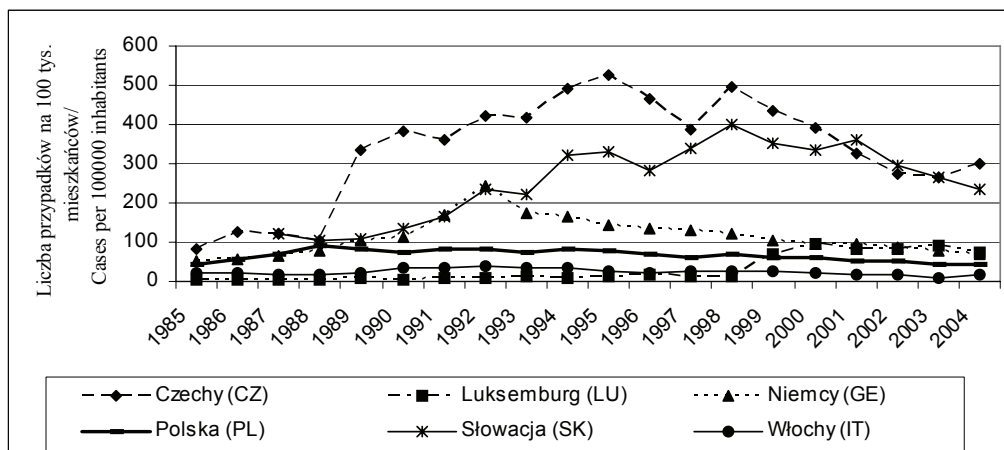
Notified foodborne disease outbreaks in some EU countries (1987-2000) and Poland (1993-2000). Distribution based on etiological factor.

Czynniki etiologiczne Etiological factor	UE 1987-2000 EU 1987-2000		Polska 1993-2000 Poland 1993-2000	
	Ogniska zatruc pokarmowych Foodborne disease outbreaks		Ogniska zatruc pokarmowych Foodborne disease outbreaks	
	Liczba Number	[% sumy] [% of sum]	Liczba Number	[% sumy] [% of sum]
<i>Salmonella spp.</i>	16573	65,1	2724	89,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	1291	5,1	102	3,35
<i>Clostridium perfringens</i>	701	2,8	-	-
<i>Clostridium botulinum</i>	252	1,0	12	0,39
<i>Bacillus cereus</i>	351	1,4	1	0,03
<i>Campylobacter</i>	288	1,1	-	-
<i>Shigella</i>	1035	4,1	58	1,90
<i>E.coli, E.coli O157</i>	232	0,9	74	2,43
<i>Brucella</i>	58	0,2	-	-
Wirusy / Viruses	276	1,1	4	0,13
Włośnica / <i>Trichinella</i>	704	2,8	41	1,34
Substancje chemiczne Chemical substances	206	1,0	2	0,07
Grzyby / Mushrooms	650	2,5	3	0,10
Naturalne toksyny (bez grzybów) Natural toxins (without mushrooms)	213	0,8	-	-
Więcej niż jeden czynnik More than 1 agent	322	1,3	-	-
Inne czynniki / Other agents	2250	8,8	28	0,92
Czynniki znane ogółem Agents known, total	25456	100,0	3049	100,00
Czynniki znane ogółem	25456	68,9	3049	93,53
Czynniki nieznanne / Agents unknown	11482	31,1	211	6,47
Razem / Total	36938	100,0	3260	100,00

Źródło: opracowanie własne na podstawie raportów WHO [6, 7, 9]

Zapadalność na zatrucia pokarmowe wywołane pałeczkami *Salmonella* w krajach członkowskich UE była bardzo zróżnicowana (rys. 1).





Rys. 1. Zapadalność na zatrucia pokarmowe wywołane pałeczkami *Salmonella* w wybranych krajach UE w latach 1985-2004.

Fig. 1. *Salmonella* foodborne incidence rate in some EU countries 1985-2004.

Wśród produktów żywnościowych będących najczęściej przyczyną zarejestrowanych ognisk zatruc pokarmowych w Polsce (1988-2000) były ciasta, ciastka, desery, lody (zawierające jaja) stanowiące 43,1% ogólnej liczby ognisk o znanych czynnikach. W dalszej kolejności znajdowały się mięso i produkty mięsne (w tym drób) 24,3% oraz wyroby typu *ready-to-serve*, czyli skomponowane lub mieszane posiłki 20,6%.

W innych krajach UE (1985-2000) produktami żywnościowymi wywołującymi największą liczbę ognisk zatruc pokarmowych były jaja, produkty z jaj, żywność zawierająca jaja - 25,9%, mięso i produkty mięsne (w tym drób) - 19,8% oraz słodkie, ciasta, ciastka, desery, lody - 14,7%.

Używanie zanieczyszczonych surowców pochodzenia zwierzęcego należało do najczęstszych przyczyn masowych zatruc pokarmowych w Polsce (1990-2000) i stanowiło 89,5% zarejestrowanych ognisk zatruc pokarmowych, o znanym czynniku sprawczym. W UE (1985-2000) w tej kategorii zatruc dominowało nieodpowiednie chłodzenie lub schładzanie przetwarzanej żywności - 21,2%, a na drugim miejscu było użycie zanieczyszczonych surowców - 16,1%.

Miejscem, w którym najliczniej dochodziło do masowych zatruc pokarmowych w wyniku spożycia żywności o nieodpowiedniej jakości mikrobiologicznej było gospodarstwo domowe, zarówno w Polsce (1990-1997), jak i w UE (1985-2000). To miejsce zatruc pokarmowych stanowiło odpowiednio 61,0 i 41,4% wszystkich ognisk zatruc pokarmowych, w których miejsce spożycia było znane.

Przeprowadzone w 1999 r. badania we Włoszech wykazują, że świadomość konsumentów z zakresu zagrożeń mogących doprowadzić do wystąpienia zatrucia pokarmowego była wysoka, jednak praktyki stosowane w trakcie przygotowywania żywno-

ści można zakwalifikować do zdecydowanie niskiego poziomu. Edukacja konsumentów z zakresu właściwego postępowania z żywnością wydaje się być ciągle potrzebna [1]. Upowszechnianie wiedzy wśród konsumentów żywności jest bardzo ważne, ale nie wystarczające. Zapobieganie infekcyjnym zatruciom pokarmowym dotyczy całego łańcucha produkcyjnego, poczynając od produkcji pierwotnej, a kończąc na odbiorcy finalnym [5].

Przeprowadzone badania wykazują, że miejscem, gdzie najczęściej dochodziło do skażenia lub niewłaściwego postępowania z żywnością w Polsce (1990-2000) były gospodarstwa rolne, a ogniska zatruc pokarmowych łączone z tym miejscem skażenia żywności stanowiły 46,2%. W krajach UE (1985-2000) takimi miejscami były restauracje - 33,1% (tab. 2).

Tabela 2

Zarejestrowane ogniska zatruc pokarmowych w wybranych krajach UE w latach 1985-2000 i w Polsce w latach 1999-2000. Podział ze względu na czynniki sprawcze.

Notified foodborne disease outbreaks by causative factors in some EU countries (1985-2000) and Poland (1999-2000).

Czynnik sprawczy Causative factor	UE 1985-2000 EU 1985-2000		Polska 1999-2000 Poland 1999-2000	
	Ogniska zatruc pokarmowych Foodborne disease outbreaks		Ogniska zatruc pokarmowych Foodborne disease outbreaks	
	Liczba Number	[% sumy] [% of sum]	Liczba Number	[% sumy] [% of sum]
Nieodpowiednie chłodzenie lub schładzanie Inadequate refrigeration or cooling	3793	21,25	1	0,16
Nieodpowiednie rozmrażanie Inadequate thawing	5	0,03	-	-
Nieodpowiednie gotowanie, ogrzewanie lub odgrzewanie Inadequate cooking, heating or reheating	1172	6,56	-	-
Nieodpowiednie przechowywanie w cieple Inadequate hot holding	83	0,46	5	0,78
Niewłaściwe magazynowanie Inappropriate storage	131	0,73	-	-
Przygotowywanie żywności z wyprzedzeniem Prepared too far in advance	2131	11,94	6	0,94
Przygotowanie dużej ilości żywności Preparation of too big quantities	257	1,44	-	-
Skazone surowce, niebezpieczne źródła żywności, konsumpcja żywności surowej Raw material contaminated, unsafe sources, consumption of raw food	2881	16,14	571	89,5
Surowce trujące (grzyby) Raw material poisonous (mushrooms)	222	1,24	-	-

c.d. Tab. 2.

Skażenia chemiczne, dodatek chemicznych lub naturalnych toksyn Chemical contamination, addition of toxic chemical or natural toxicant	2	0,01	1	0,16
Niewłaściwe przetwarzanie, przygotowywanie, obchodzenie się z żywnością Processing, preparing or handling inadequate	1508	8,45	-	-
Skażenie krzyżowe Cross contamination	351	1,97	-	-
Niewystarczająca higiena Insufficient hygiene	415	2,32	-	-
Użycie resztek żywności Left-over's usage	129	0,72	-	-
Skażenie żywności przez personel Contamination of food by personnel	1574	8,82	3	0,47
Skażenie żywności przez sprzęt Contamination of food by equipment	1031	5,77	-	-
Nieodpowiednie pomieszczenia Inadequate rooms	488	2,73	-	-
Inne czynniki Other factors	1680	9,41	51	7,99
Czynniki znane ogółem Total known factors	17853	100,00	638	100,00
Czynniki znane ogółem / Total known factors	17853	65,16	638	90,88
Czynniki nieznanne / Factors unknown	9547	34,84	64	9,12
Razem / Total	27400	100,00	702	100,00

Źródło: opracowanie własne na podstawie raportów WHO [6, 7, 9]

## Wnioski

1. Zatrucia pokarmowe zarówno w Polsce, jak i w Unii Europejskiej były najczęściej wywoływane pałeczkami z rodzaju *Salmonella*.
2. Do produktów żywnościowych, które były główną, rejestrowaną przyczyną zatruć pokarmowych w UE należały jaja i produkty z ich dodatkiem, natomiast w Polsce ciasta, ciastka, desery, lody (zawierające jaja).
3. Dominującą przyczyną zatruć pokarmowych w UE było przerwanie łańcucha chłodniczego w trakcie postępowania z żywnością, natomiast w Polsce stosowanie skażonych i zanieczyszczonych surowców pochodzenia zwierzęcego. Do skażeń dochodziło najczęściej na etapie produkcji pierwotnej.
4. Najczęściej notowanym miejscem spożywania żywności wywołującej zatrucia pokarmowe w UE okazało się gospodarstwo domowe, stąd wydaje się, że jedyną metodą zapobiegania takim zjawiskom powinna być edukacja konsumentów w zakresie zarówno higieny żywności, jak i podstawowych pojęć związanych z zatruciami pokarmowymi.

## Literatura

- [1] Angelillo I. F., Foresta M. R., Scozzafava C., Pavia M.; Consumers and foodborne diseases: knowledge, attitudes and reported behavior in one region of Italy. *Int. J Food Microbiol.*, 2001, **64**, 161-166.
- [2] Dziubek Z. (red.): *Choroby zakaźne i pasożytnicze*. Wyd. Lek. PZWL. Warszawa 2005.
- [3] Mead P. S., Slutsker L., Dietz V., McCaig L. F., Bresee J. S., Shapiro C., Griffin M., Tauxe R. V.: Food related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 1999, **5** (5), [www.cdc.gov/ncidod/eid/vol5no5/mead.html](http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol5no5/mead.html).
- [4] Reported cases of "food-borne" diseases in humans (1991-2004); <http://epp.eurostat.cec.eu.int>;
- [5] Tauxe R. V.: Surveillance and investigation of foodborne diseases; roles for public health in meeting objectives for food safety. *Food Control*, 2002, **13**, 363-369.
- [6] WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. 6-th report 1990-1992. German Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine, FAO/WHO Collaborating Centre for Research and Training in Food Hygiene and Zoonoses. Berlin 1995.
- [7] WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. 7-th report 1993-1998. German Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine (BGVV), FAO/WHO Collaborating Centre for Research and Training in Food Hygiene and Zoonoses. Berlin 2000.
- [8] WHO. Food safety and foodborne illness. Fact sheet, 2002, 237, [www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/print.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/print.html).
- [9] WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. 8-th report 1999-2000. German Federal Institute for Risk Assessment (BfR), FAO/WHO Collaborating Centre for Research and Training in Food Hygiene and Zoonoses, Berlin 2003.

### THE EPIDEMIOLOGY ANALYSIS OF FOODBORNE DISEASES DATA IN POLAND AND EUROPEAN UNION COUNTRIES

#### Summary

The comparison of epidemiological data of notified foodborne diseases from twenty five member states of European Union was the aim of this evaluation. The causes analysis of occurrences of foodborne disease information such as: number of sick persons from foodborne disease, causative agents, type of food involved in a foodborne disease incident, place where food was consumed or acquired, place where food was contaminated and factors contributing to the outbreak were traced.

The result of conducted analysis was that most of traced foodborne diseases were caused by bacterial origin especially by *Salmonella*. Cakes, pastry, desserts and ice-creams which contained eggs were the most often involved in foodborne disease outbreaks in Poland, the second were meat products. Eggs, food containing eggs, meat and meat products (including poultry) and the last sweets, cakes, cookies, deserts and ice-cream were products that caused foodborne diseases in all other European countries.

Analysed epidemiological data show that farms are places where food is contaminated most often and where foodborne pathogens are introduced into the food chain. The most often place where foodborne diseases were caused were restaurants in European countries. The biggest number of foodborne diseases were result of food consumption in private household in Poland as well as in UE where food with inadequate microbiological quality was eaten. The use of contaminated raw materials of animal origin is the

most frequent cause of mass foodborne disease notified in Poland. In this category in UE the breakage of cooling chain in production and distribution of food was the first and the second was usage of contaminated raw products.

Because of lack of possibility of leading sanitary inspections in “domestic kitchen” it is indispensable to disseminate the knowledge of food hygiene.

**Key words:** foodborne disease, epidemiology of foodborne disease, food ☒

## CONTENTS

Od Redakcji .....	5
<i>Katarzyna Marciniak-Lukasiak, Stanisław Kalisz</i> : 11th Session of Young Research Personnel of The Polish Society of Food Technologists - "Quality and healthful features of food" .....	9
<i>Monika Adamczyk, Ewa Rembiałkowska, Grażyna Wasiak-Zys</i> : The comparison of sensory quality of apples from organic and conventional production and after storage .....	11
<i>Justyna E. Bojarska, Sylwester Czaplicki, Katarzyna Zarecka, Ryszard Zadernowski</i> : Phenolic compounds in fruit of selected varieties of strawberry .....	20
<i>Joanna Bryś, Magdalena Wirkowska, Bolesław Kowalski</i> : Interesterification of milkfat with sunflower oil mixtures in presence of Novozym 435 .....	28
<i>Anna Bzducha, Mieczysław W. Obiedziński</i> : Investigation of volatile components of chosen mould cheeses by headspace solid phase microextraction and gas chromatography coupled with mass spectrometry .....	36
<i>Marta Ciecierska, Mieczysław Obiedziński</i> : Vegetable oils contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons .....	48
<i>Agnieszka Ciurzyńska, Andrzej Lenart</i> : Effect of osmotic dehydration on mechanical properties of freeze-dried strawberries .....	56
<i>Katarzyna Grzelak</i> : Onion as a source of prebiotics in autumn-winter period .....	67
<i>Monika Jarych-Szyska</i> : Influence of the nitrogen fertilization on nitrate content in potato tubers .....	76
<i>Iwona Jasińska, Piotr Kołodziejczyk, Jan Michniewicz</i> : Rye seed as a potential source of pro-health compounds in diet .....	85
<i>Stanisław Kalisz, Michał Wolniak</i> : Changes of phenolics compounds during the storage of raspberry juices .....	93
<i>Anna Kamińska, Piotr P. Lewicki</i> : Effect of osmotic pre-treatment on the process of apple freezing and thawing .....	101
<i>Joanna Kobus, Dominik Kmiecik</i> : Microbiological quality and chemical composition of raw milk from big and small farms in the wielkopolska region in 2004 .....	108
<i>Magdalena Kopera, Marta Mitek</i> : Effect of addition L-ascorbic acid in pulp on polyphenols content in pears juices .....	116
<i>Monika Kosmala, Krzysztof Kołodziejczyk</i> : Procyanidins in the most popular in Poland dessert apple varieties .....	124
<i>Hanna Kowalska</i> : Kinetic of osmotic dehydration of pumpkin .....	135
<i>Małgorzata Kowalska, Agnieszka Górecka, Krzysztof Śmiechowski, Krzysztof Krygier</i> : Physical stability of low fat emulsion in dependence on added hydrocolloids .....	143
<i>Joanna Kraszewska, Wiesław Wzorek, Iwona Wojtasik</i> : Influence of cultural conditions of <i>Lactobacillus plantarum</i> strains on their antagonistic activity .....	153

<i>Ewelina Król, Halina. Staniek, Alina Przybylska, Zbigniew Krejpcio, Danuta Olejnik:</i> Evaluation of nutritional habits based on dietary preferences among cardiovascular patients .	152
<i>Tomasz Krupa, Kazimierz Tomala:</i> Effects of storage condition on anthocyanin content and antioxidative activity in highbush blueberries fruit .....	171
<i>Maciej Kuligowski, Jacek Nowak:</i> Antibacterial activity of isolates from after growth moulds <i>Rhizopus oligosporus</i> .....	182
<i>Ewa Majewska, Ewa Bialecka-Florjańczyk, Kinga Sulowska:</i> Baker's yeast as biocatalyst of esters hydrolysis .....	190
<i>Katarzyna Maksimowicz, Kinga Grodzka, Krzysztof Krygier:</i> The estimation of influence of microcrystalline cellulose supplement as a stabiliser to fruit water ice-cream .....	198
<i>Katarzyna Marciniak-Lukasiak, Anna Żbikowska, Krzysztof Krygier:</i> Influence of use of nitrogen into oxidative stability of mixtures of rapeseed and linseed oils .....	206
<i>Lidia Markiewicz, Elżbieta Biedrzycka, Maria Bielecka:</i> Differentiation of dairy <i>Lactobacillus</i> strains using PFGE method.....	216
<i>Agata Marzec, Ewa Gondek:</i> Corellations between choosen crackers texture attributes estimated by instrumental and sensory methods .....	223
<i>Magdalena Michalczyk, Kamila Nowaczek:</i> Microbial quality of ready-to-use vegetable sold in Malopolska region .....	231
<i>Joanna Niewczas, Małgorzata Kamionowska, Marta Mitek:</i> Nitrates (V) and (III) content in new variety of giant pumpkin ( <i>Cucurbita Maxima</i> ).....	238
<i>Katarzyna Olborska, Piotr P. Lewicki:</i> Organization of diary products' packaging process and it's influence for microbiological air contamination in production's rooms.....	246
<i>Antoni Pluta, Anna Berthold, Jarosław Kielak:</i> Changes of the chosen chemical, rheological and sensorial features of dutch type cheeses of different fat content during ripening .....	255
<i>Katarzyna Ratusz, Magdalena Wirkowska:</i> Effectivness of antioxidant preparation effect on fully refined vegetable oils and their triacyloglycerols matrixes .....	262
<i>Millena Ruszkowska, Aneta Ocieczek, Piotr Palich:</i> Sorption properties of croutons in instant soups.....	271
<i>Małgorzata Rząca, Dorota Witrowa-Rajchert:</i> Radical scavenging activity of phenolic compounds contained in dried apple .....	280
<i>Katarzyna Sadowska:</i> Fruits of milk thistle as a health-enhancing additive to bakery products.....	290
<i>Urszula Samotyja, Maria Malecka, Anna Chmielnik:</i> Evaluation of oxidative changes in potato chips by the use of headspace analysis .....	297
<i>Magdalena Skotnicka:</i> Mathematical model of storing temperature affecting the reologic changes in frozen yeast cake .....	305
<i>Małgorzata Sobczyk:</i> The effects of deep-freezing of raw bread dough on the quality of the finished product .....	314
<i>Bartosz Solowiej, Waldemar Gustaw, Paweł Glibowski, Dominik Sz wajgier,</i> <i>Tomasz Czernecki:</i> Rheological properties and structure of whey protein isolate polymers...	325
<i>Ewa Sosińska, Rafał Wołosiaak:</i> Antioxidative activity of coenzyme Q <sub>10</sub> , phytosterols and glutathione in autoxidation reaction of plant fat emulsion .....	334

---

<i>Halina Staniek, Ewelina Król, Zbigniew Krejpcio</i> : Assessment of the content of iron, zinc and copper in the daily food diets in selected groups of population .....	342
<i>Karolina Stempińska, Maria Soral-Śmietana</i> : Chemical compounds and physicochemical estimation of buckwheat grains – comparison of three polish varieties.....	348
<i>Magdalena Wirkowska, Joanna Bryś, Katarzyna Ratusz, Bolesław Kowalski</i> : Oxidative stability of the lipids from the corn grains.....	358
<i>Małgorzata Wroniak, Joanna Ramotowska, Monika Matuszewska, Mieczysław Obiedziński</i> : The possibilities of usage of trans isomers of fatty acids and 3,5-stigmastadiene indication to the investigation of authenticity of cold pressed oils .....	365
<i>Anna Żbikowska, Katarzyna Marciniak-Lukasiak, Krzysztof Krygier</i> : Influence of trans isomers content in fats on quality of puff-pastry cakes produced from different kinds of flour .....	374
<i>Monika Kępińska</i> : The epidemiology analysis of foodborne diseases data in Poland and European Union countries .....	382



