



ŻYWNOŚĆ

Nauka
Technologia
Jakość

Nr 4(49)

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 prof. AE
(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
Czarnecki, 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 Naczk (Kanada), prof. dr Jan Pokorny
(Czechy), prof. dr Roman Przybylski (Kanada), dr Andrzej Sośnicki (USA), dr Leszek Stepaniak
(Norwegia), dr Alina Surmacka-Szcześniak (USA), dr John Wojciak (Kanada)

WYDAWCA:

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW 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 Wyższego

ISSN 1425-6959
ISBN 978-83-89541-90-1

ADRES REDAKCJI:

31-425 KRAKÓW, AL. 29 LISTOPADA 46

Nakład: 750 egz.

SKŁAD I DRUK:



Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków

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

e-mail: wn@akapit.krakow.pl

ŻYWNÓŚĆ

Organ naukowy PTTŻ – kwartalnik

Nr 4 (49)

Kraków 2006

Rok 13

SPIS TREŚCI

Od Redakcji	3
TERESA FORTUNA, DOROTA GAŁKOWSKA: Wpływ dodatku sacharydów na właściwości reologiczne skrobi modyfikowanych.....	5
EWA ZDYBEL: Właściwości preparatów skrobi ziemniaczanej poddanej modyfikacjom chemicznym i prażeniu	18
KATARZYNA SAMBORSKA: Wpływ dodatków stabilizujących na kinetykę inaktywacji cieplnej α -amylazy z <i>Aspergillus oryzae</i>	32
MICHAŁ WOLNIAK, STANISŁAW KALISZ: Wpływ pektyn niskometylowanych na zawartość antocyjanów i polifenoli ogółem oraz ich aktywność przeciwrodnikową oznaczoną EPR w sokach truskawkowych	39
KATARZYNA SKUPIEŃ, BARBARA WÓJCIK-STOPCZYŃSKA: Ocena jakości przecierów z truskawek odmiany Kent.....	47
AGNIESZKA SZAJDEK, EWA DĄBKOWSKA, EULALIA J. BOROWSKA: Wpływ obróbki enzymatycznej miazgi owoców jagodowych na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą soku	59
IWONA ŚCIBISZ, MARTA MITEK: Aktywność przeciwutleniająca i zawartość związków fenolowych w suszach z owoców borówki wysokiej (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.)	68
ELŻBIETA DŁUŻEWSKA, ARKADIUSZ SZTERK: Wpływ wybranych przeciwutleniaczy na stabilność barwy napojów bezalkoholowych z dodatkiem β -karotenu.....	77
DARIUSZ KOWALCZYK, MAŁGORZATA STRYJECKA, BARBARA BARANIAK: Porównanie wpływu acetylacji na właściwości funkcjonalne hydrolizatów białkowych otrzymanych z nasion roślin strączkowych	90
KATARZYNA KYCIA, MAŁGORZATA ZIARNO: Wzrost i przeżywalność bakterii jogurtowych w retentatach UF mleka	100
MAŁGORZATA ZIARNO, SŁAWOMIR WIĘCŁAWSKI: Wpływ dodatku mleczanu wapnia na rozwój bakterii fermentacji mlekowej w bulionie MRS i w mleku	110
DOROTA ZIELIŃSKA: Badania nad przeżywalnością bakterii <i>Lactobacillus casei</i> KN291 w napoju sojowym	120
KAROLINA POSZYTEK, ANDRZEJ LENART: Właściwości sorpcyjne modelowych odżywek sproszkowanych	128
ELWIRA WOROBIJ, RAFAŁ WOŁOSIAK, MARTA CHWALISZ: Właściwości białek preparatów części białkowej jaja w procesie utlenienia.....	136
JERZY A. BAŁEJKO: Badanie metodą dynamiczną zmian właściwości lepkości mięsa wywołanych ogrzewaniem	145
ELIZA GRUCZYŃSKA, BOLESŁAW KOWALSKI, MAŁGORZATA KOWALSKA, KRZYSZTOF ŚMIECHOWSKI: Charakterystyka wybranych majonezów oraz wpływ temperatury i czasu przechowywania na ich stabilność.....	154
KAMILA MYSZKA, KATARZYNA CZACZYK: Rola zewnątrzkomórkowych białek w procesie adhezji <i>Proteus vulgaris</i> do powierzchni stali nierdzewnej	167
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	177
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA MIERZEJEWSKA: Współczesny leksykon wiedzy o żywności	183
STANISŁAW POPEK: Nowe książki.....	185
Technolog Żywności	189
Spis treści kwartalnika „Żywność” Nr 46–49.....	193
Wykaz nazwisk Autorów w 2006 roku	201
Wykaz nazwisk Recenzentów w 2006 roku.....	204

Zamieszczone artykuły są recenzowane

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

FOOD

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

No 4 (49)

Kraków 2006

Vol. 13

CONTENTS

From the Editor	3
TERESA FORTUNA, DOROTA GAŁKOWSKA: Effect of saccharides addition on rheological properties of modified starches.....	5
EWA ZDYBEL: The properties of potato starch preparations undergone by chemical modifications and roasting	18
KATARZYNA SAMBORSKA: The influence of stabilising additives on the thermal inactivation kinetics of <i>Aspergillus oryzae</i> alpha-amylase	32
MICHAŁ WOLNIAK, STANISŁAW KALISZ: The influence of pectins on anthocyanins and total polyphenol content and its antiradical scavenging activity designated in strawberry juices	39
KATARZYNA SKUPIEŃ, BARBARA WÓJCIK-STOPCZYŃSKA: Quality estimation of 'Kent' cultivar strawberry homogenates	47
AGNIESZKA SZAJDEK, EWA DĄBKOWSKA, EULALIA J. BOROWSKA: The influence of berry fruits mash enzymatic treatment on the polyphenols content and antioxidant activity of juice.....	59
IWONA ŚCIBISZ, MARTA MITEK: Antioxidant activity and phenolics compound capacity in dried highbush blueberries (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.).....	68
ELŻBIETA DŁUŻEWSKA, ARKADIUSZ SZTERK: Effect of selected antioxidants on colour stability of soft beverages with addition of β -carotene	77
DARIUSZ KOWALCZYK, MAŁGORZATA STRYJECKA, BARBARA BARANIAK: The comparison of effect of acetylation on functional properties of protein hydrolysates obtained from legume seeds	90
KATARZYNA KYCIA, MAŁGORZATA ZIARNO: Growth and survival of yogurt bacteria in UF milk retentates	100
MAŁGORZATA ZIARNO, SŁAWOMIR WIĘCŁAWSKI: The influence of the calcium lactate addition on the growth of the lactic acid bacteria in the MRS broth and milk.....	110
DOROTA ZIELIŃSKA: <i>Lactobacillus</i> strain survival study in fermented soy beverage.....	120
KAROLINA POSZYTEK, ANDRZEJ LENART: Sorption properties of modelled powdered nutrients	128
ELWIRA WOROBIJ, RAFAŁ WOŁOSIAK, MARTA CHWALISZ: The properties of egg white protein preparations in an oxidation process	136
JERZY A. BALEJKO: Dynamic method of evaluation of changes viscoelastic properties of meat by heating effect.....	145
ELIZA GRUCZYŃSKA, BOLESŁAW KOWALSKI, MAŁGORZATA KOWALSKA, KRZYSZTOF ŚMIECHOWSKI: Characteristic of selected mayonnaise and effect of temperature and storage time on their stability	154
KAMILA MYŚKA, KATARZYNA CZACZYK: The role of extracellular proteins in <i>Proteus vulgaris</i> adhesion to the surface of stainless steel.....	167
GRAŻYNA MORKIS: Food Problems in Polish and EU Legislation.....	177
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA MIERZEJEWSKA: Food Science Lexicon – Contemporary Terms	183
STANISŁAW POPEK: Book Reviews	185
The Food Technologist.	189
Annual contents	193
Index of Authors.....	201
Index of Reviewers	204

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu kolejny 4 (49) numer naszego kwartalnika, którym zamykamy rok 2006. Wyrażamy nadzieję, że zamieszczone artykuły naukowe i materiał informacyjny spotkają się zainteresowaniem i spełnią Państwa oczekiwania.

Uprzejmie informujemy, że Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w 2007 r. przeprowadzi nową parametryzację czasopism naukowych, w ramach której będzie oceniane też nasze czasopismo. W związku z tym apelujemy do naszych Autorów o zwrócenie większej uwagi na cytowanie w innych publikacjach artykułów publikowanych w **Żywności**, co będzie miało m.in. wpływ na punktację naszego kwartalnika w przyszłości. Kryteria parametryzacji są podane na stronach internetowych Ministerstwa.

Pragniemy przypomnieć, że Polskie Towarzystwo Technologów Żywności jest organizacją pożytku publicznego w rozumieniu art. 27 ustawy z dnia 23 kwietnia 2003 r. *o działalności pożytku publicznego*. W krajowym Rejestrze Sądowym Towarzystwo jest zarejestrowane pod nr KRS 30577. W myśl przepisów ww. ustawy, każdy podatnik może 1% należnego podatku dochodowego wpłacić na konto naszego Towarzystwa z rozliczenia za rok 2006. Uprzejmie prosimy Państwa o wsparcie działalności PTTŻ darowiznami z odpisu podatkowego. Nr konta PTTŻ: 65 1020 1156 0000 7202 0008 6439.

W Nowym 2007 Roku wszystkim naszym Autorom, Czytelnikom i Przyjaciółom życzymy wszelkiej pomyślności.

Kraków, grudzień 2006 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora



POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI
i
AKADEMIA ROLNICZA
IM. HUGONA KOLŁATAJĄ W KRAKOWIE
WYDZIAŁ TECHNOLOGII ŻYWNOŚCI

zapraszają na

VIII Konferencję Naukową
z cyklu

„Żywność XXI wieku”

Żywność a choroby cywilizacyjne

Kraków, 21-22 czerwca 2007 r.

Kontakt:

Dr Ewelina Węsierska
ul. Balicka 122, 30-149 Kraków
Tel.: 012 662 48 07
Fax: 012 662 48 10
e-mail: ewesierska@ar.krakow.pl

TERESA FORTUNA, DOROTA GAŁKOWSKA

WPLYW DODATKU SACHARYDÓW NA WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE SKROBI MODYFIKOWANYCH

Streszczenie

W artykule przedstawiono wyniki badań wpływu pięcioprocentowego dodatku sacharydów na właściwości reologiczne skrobi modyfikowanych. Badaniom poddano trzy preparaty handlowych skrobi ziemniaczanych modyfikowanych: skrobię utlenioną, fosforan diskrobiowy i acetylowany adypinian diskrobiowy oraz skrobię ziemniaczaną naturalną, a użytymi sacharydami były: glukoza, fruktoza, sacharoza i laktoza. Analiza właściwości reologicznych obejmowała wyznaczanie krzywych płynięcia oraz krzywych zmian lepkości pozornej w czasie ścinania ze stałą prędkością w temp. 50°C. Doświadczalne krzywe płynięcia opisano modelem Herschela-Bulkleya.

Kleiki skrobiowe, zarówno z dodatkiem, jak i bez dodatku sacharydów, wykazywały właściwości płynów rozrzedzanych ścinaniem, z tendencją do granicy płynięcia. Obecność sacharydów, z wyjątkiem sacharozy, w układach skrobi modyfikowanych wpłynęła na zmniejszenie stopnia rozrzedzenia ścinaniem uzyskanych kleików oraz na obniżenie wartości współczynnika konsystencji. Przeciwny kierunek oddziaływania sacharydów na właściwości reologiczne kleików skrobiowych zaobserwowano w przypadku skrobi ziemniaczanej niemodyfikowanej. Pięcioprocentowy dodatek sacharydów do układów skrobi modyfikowanych nie wpłynął istotnie na stabilność reologiczną uzyskanych kleików.

Słowa kluczowe: skrobie modyfikowane, sacharydy, właściwości reologiczne

Wprowadzenie

Skrobie modyfikowane, mające status prawny dodatków do żywności, są substancjami szeroko stosowanymi do zagęszczania, stabilizacji, żelowania czy kształtowania tekstury wielu produktów spożywczych. Charakteryzują się one określonymi właściwościami fizykochemicznymi, które wyznaczają możliwe kierunki ich zastosowania w produkcji żywności [9, 16, 17]. Ze względu jednak na złożony wieloskładnikowy charakter środków spożywczych, niejednokrotnie cechy funkcjonalne danego preparatu skrobiowego, w tym właściwości reologiczne, ulegają zmianom wskutek interakcji

z innymi komponentami danego produktu [8, 11, 14, 18]. Charakter wywołanych zmian, obok innych czynników, wpływa na zachowanie produktu skrobiowego w trakcie procesu technologicznego, jak również decyduje o atrakcyjności sensorycznej gotowego wyrobu. Różnorodność zastosowań skrobi modyfikowanych w przemyśle spożywczym, oraz powszechność stosowania sacharydów jako środków słodzących, wymusza konieczność prowadzenia badań nad właściwościami funkcjonalnymi skrobi modyfikowanych w obecności sacharydów.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu dodatku wybranych monosacharydów i disacharydów na właściwości reologiczne kleików handlowych preparatów skrobiowych.

Material i metody badań

W badaniach zastosowano preparaty skrobiowe produkowane przez Wielkopolskie Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemniaczanego S.A. w Luboniu: skrobię ziemniaczaną Superior Standard, skrobię budyniową (skrobię utlenioną), Lubostat (fosforan diskrobiowy) oraz zagęstnik skrobiowy AD (acetylowany adypinian diskrobiowy), jak również następujące sacharydy: glukozę (Chempur, Piekary Śląskie), fruktozę (Riedel – de Haën, Niemcy), sacharozę (Chempur, Piekary Śląskie) i laktozę (POCh S.A., Gliwice).

Odważoną ilość preparatu skrobiowego mieszano z odpowiednią ilością sacharydu oraz wody destylowanej, tak by stężenie skrobi w dyspersji wynosiło 5% (m/m), a stężenie sacharydu 0 lub 5% (m/m). Próbkę mieszano przy użyciu mieszadła mechanicznego z szybkością 300 obr./min przez 5 min w temp. pokojowej. Następnie otrzymaną dyspersję ogrzewano w łaźni wodnej w temp. $95 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 30 min przy ciągłym mieszaniu mechanicznym z szybkością 300 obr./min. Kleik bezpośrednio po przygotowaniu umieszczano w elemencie pomiarowym reometru rotacyjnego Rheolab MC1 (Physica Messtechnik GmbH, Niemcy), z układem współosiowych cylindrów jako systemem pomiarowym (średnica szczeliny – 2,12 mm) i termostatowano do temp. pomiaru wynoszącej $50 \pm 0,2^\circ\text{C}$ w ciągu 15 min. Wykreślono krzywe płynięcia przy wzrastającej i malejącej prędkości ścinania według następującego programu: wzrost prędkości ścinania w zakresie $1 - 300 \text{ s}^{-1}$ w ciągu 5 min, ścinanie próbki przy stałej prędkości 300 s^{-1} przez 2 min, spadek prędkości ścinania w zakresie $300 - 1 \text{ s}^{-1}$ w ciągu 5 min. Do opisu krzywych płynięcia zastosowano model Herschela-Bulkleya:

$$\tau = \tau_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n,$$

gdzie:

τ – naprężenie ścinające [Pa];

τ_0 – granica płynięcia [Pa];

$\dot{\gamma}$ – prędkość ścinania [s^{-1}];

K – współczynnik konsystencji [$\text{Pa}\cdot\text{s}^n$];

n – wskaźnik płynięcia, bezwymiarowy.

Wyznaczono również krzywe zmian lepkości pozornej w czasie ścinania ze stałą prędkością wynoszącą 50 s^{-1} . Obliczeń parametrów reologicznych dokonano za pomocą programu komputerowego US 200 (Physica Messtechnik GmbH, Niemcy). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, w której badano istotność różnic między wartościami średnimi parametrów reologicznych – zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji i obliczono wartości najmniejszej istotnej różnicy (NIR) przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

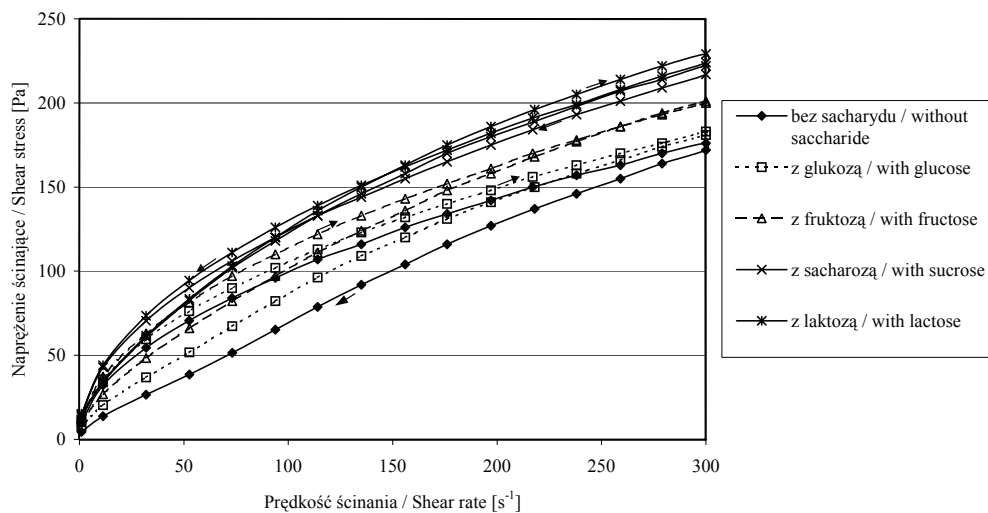
Wyniki i dyskusja

Kleiki wszystkich badanych skrobi, sporządzone zarówno z dodatkiem, jak i bez dodatku sacharydów, wykazywały właściwości płynów nienewtonowskich rozrzedzanych ścinaniem, z tendencją do granicy płynięcia (rys. 1 – 4, tab. 1). Taki charakter reologiczny kleików skrobiowych jest uznawany za typowy, o czym świadczy wiele danych literaturowych [6, 7, 12]. Właściwości pseudoplastyczne kleików skrobiowych z dodatkiem sacharydów potwierdzają również nowe badania skrobi różnego pochodzenia botanicznego [1, 4, 5, 10, 15, 20]. Występowanie zjawiska rozrzedzania ścinaniem kleików skrobiowych tłumaczy się procesem niszczenia „splątanej” sieci cząsteczek polisacharydu. Podczas ścinania próbki z coraz większą prędkością, tempo rozrywania istniejących połączeń międzycząsteczkowych przewyższa tempo ich ponownego tworzenia, co w rezultacie prowadzi do obniżania odporności skrobi na ścinanie, objawiającej się malejącymi wartościami lepkości pozornej [20].

Spośród kleików skrobiowych sporządzonych bez dodatku sacharydów, najwyższymi wartościami naprężeń ścinających w całym zakresie zastosowanych prędkości ścinania charakteryzowały się kleiki skrobi sieciowanych, tj. preparatu Lubostat oraz zagęstnika skrobiowego AD. Z kolei najniższe wartości naprężeń ścinających uzyskano w przypadku skrobi niemodyfikowanej Superior Standard, której krzywe płynięcia „w górę” i „w dół” dodatkowo tworzyły pętlę histerezy (rys. 1–4).

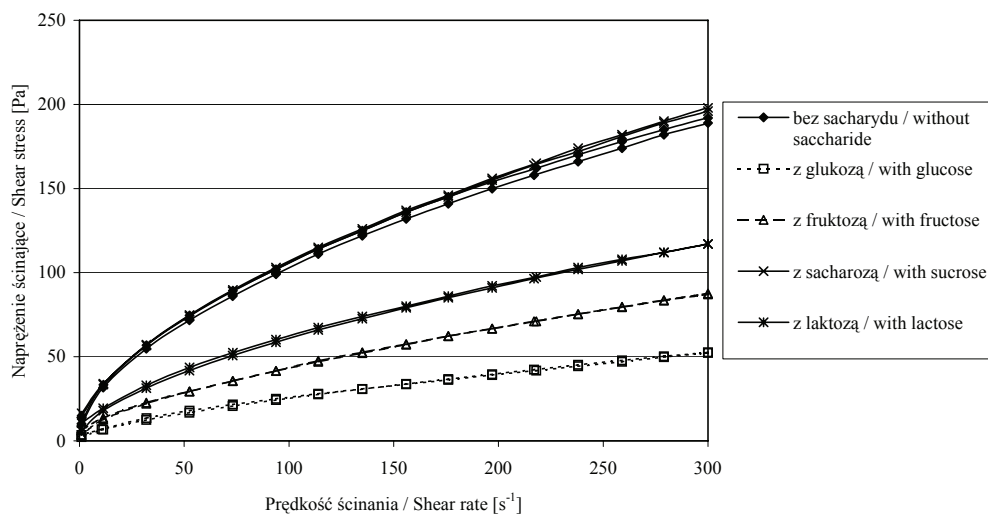
Stwierdzono, że obecność sacharozy w kleikach wszystkich badanych skrobi wpłynęła na podwyższenie wartości naprężeń ścinających w stosunku do wartości tego parametru kleików skrobiowych bez dodatku sacharydu (rys. 1–4). Wyraźne zmiany przebiegu krzywych płynięcia zaobserwowano w próbkach zagęstnika skrobiowego AD (rys. 4), skrobi ziemniaczanej Superior Standard (rys. 1) oraz preparatu Lubostat (rys. 3). Jak wynika z danych literaturowych, większe wartości naprężeń ścinających kleików skrobiowych zawierających sacharozę, w porównaniu z odpowiednimi wartościami naprężeń ścinających uzyskanych w kleikach sporządzonych bez udziału sacharydu, zostały również stwierdzone w odniesieniu do skrobi naturalnych innego pochodzenia botanicznego [3, 10, 15]. Obecność sacharozy w kleikach skrobi sieciowanych,

tj. preparatu Lubostat oraz zagęstnika skrobiowego AD, przyczyniła się do zwiększenia pola powierzchni pętli histerezy (rys. 3 i 4).



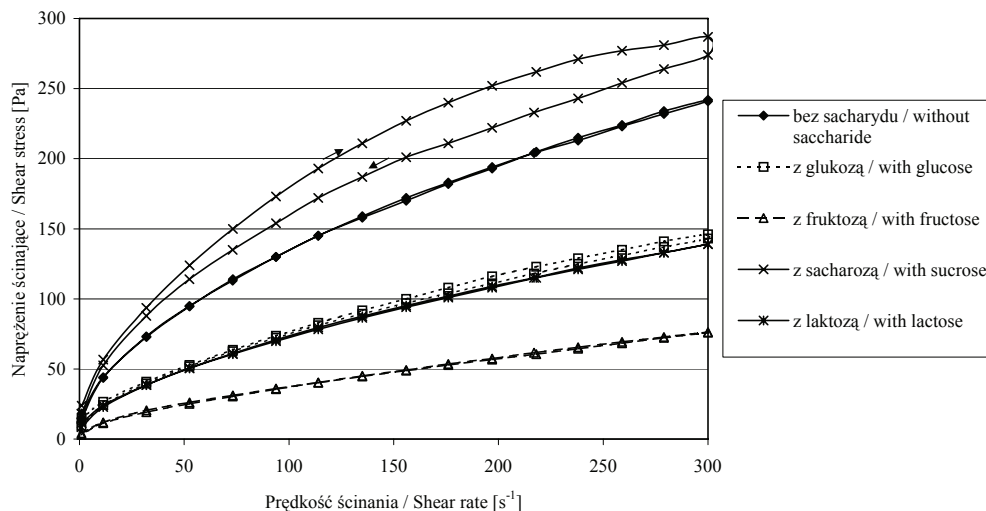
Rys. 1. Krzywe płynięcia 5% kleików skrobi ziemniaczanej Superior Standard z 5% dodatkiem sacharydów.

Fig. 1. Flow curves of 5% potato starch pastes with saccharides (5%).



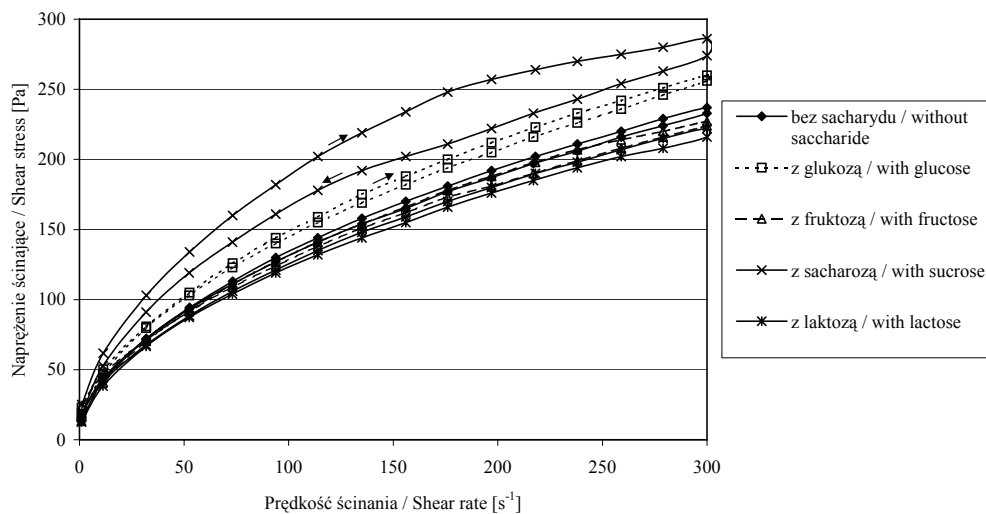
Rys. 2. Krzywe płynięcia 5% kleików skrobi budyniowej z 5% dodatkiem sacharydów.

Fig. 2. Flow curves of 5% oxidized starch pastes with saccharides (5%).



Rys. 3. Krzywe płynięcia 5% kleików preparatu Lubostat z 5% dodatkiem sacharydów.

Fig. 3. Flow curves of 5% distarch phosphate Lubostat pastes with saccharides (5%).



Rys. 4. Krzywe płynięcia 5% kleików zagęstnika skrobiowego AD z 5% dodatkiem sacharydów.

Fig. 4. Flow curves of 5% acetylated distarch adipate pastes with saccharides (5%).

Wpływ dodatku pozostałych sacharydów, tj. glukozy, fruktozy oraz laktozy, na zmianę wartości naprężeń ścinających występujących w kleikach skrobiowych w całym zakresie zastosowanych prędkości ścinania uzależniony był od rodzaju preparatu skrobiowego (rys. 1–4). W przypadku skrobi budyniowej (rys. 2) oraz skrobi Lubostat

(rys. 3) stwierdzono wyraźne obniżenie położenia krzywych płynięcia kleików zawierających wymienione powyżej sacharydy, w stosunku do położenia krzywych płynięcia kleików sporządzonych bez ich udziału. Oznacza to zmniejszenie lepkości pozornej tych układów w wyniku wprowadzenia 5% dodatku monosacharydów i laktozy. Zjawisko odwrotne, tj. zwiększenie wartości naprężeń ścinających w zadanym zakresie szybkości ścinania, zaobserwowano w próbkach skrobi ziemniaczanej Superior Standard zawierających laktozę (rys. 1) oraz w próbkach zagęstnika skrobiowego AD z dodatkiem glukozy (rys. 4). Odmienne oddziaływanie poszczególnych sacharydów w badanych układach skrobiowych może mieć związek z procesem penetrowania cząsteczek sacharydów do wnętrza ziaren skrobiowych, wpływającym na dezorganizację struktury tych ostatnich, co z kolei znajduje odzwierciedlenie we właściwościach reologicznych kleików. Kluczową rolę w powyższym procesie odgrywa zatem budowa strukturalna zarówno skrobi, jak i danego sacharydu [19]. Zaobserwowano, że dodatek fruktozy oraz sacharozy do skrobi ziemniaczanej Superior Standard spowodował zmniejszenie pola powierzchni pętli histerezy (rys. 1). Oznacza to, iż zmiany strukturalne skrobi ziemniaczanej niemodyfikowanej podczas ścinania mogą ulegać modyfikacji w obecności omawianych sacharydów.

Parametry zastosowanego do opisu krzywych płynięcia modelu Herschela-Bulkleya przedstawiono w tab 1. Powyższy model dobrze opisywał eksperymentalne krzywe płynięcia, o czym świadczą wysokie wartości współczynnika determinacji R^2 .

Z porównania wartości granicy płynięcia (τ_0) opisujących krzywe płynięcia kleików skrobiowych bez dodatku sacharydów wynika, że kleik skrobi ziemniaczanej Superior Standard charakteryzował się istotnie niższą wartością granicy płynięcia niż kleiki preparatów skrobi modyfikowanych (tab. 1). Oznacza to, że struktura wewnętrzna skrobi ziemniaczanej Superior Standard okazała się stosunkowo najmniej oporna na płynięcie. Pięcioprocentowy dodatek sacharydów do układów skrobi ziemniaczanej Superior Standard wpłynął na otrzymanie kleików skrobiowych wykazujących większe wartości granicy płynięcia w porównaniu z wartością tego parametru uzyskanego w kleiku samej skrobi. Rola sacharydów w kształtowaniu właściwości reologicznych skrobi, objawiająca się zwiększaniem wartości granicy płynięcia kleików skrobiowych została również stwierdzona przez autorów badających skrobie innego pochodzenia botanicznego [2, 3, 5, 10]. Istotne zwiększenie wartości granicy płynięcia kleików w obecności sacharydów zaobserwowano w przypadku układów zagęstnika skrobiowego AD z glukozą oraz fruktozą (tab. 1). Powyższy rezultat może oznaczać wzmocnienie wiązań wodorowych w strukturze helis polimeru, wynikające z wprowadzenia do dyspersji skrobiowej cząsteczek sacharydów [10], w budowie których występują reaktywne grupy – aldehydowa lub ketonowa. Odmienne zjawisko stwierdzono w próbce zagęstnika skrobiowego AD zawierającej pięcioprocentowy dodatek sacharozy, w której nastąpiło istotne obniżenie wartości granicy płynięcia. Kleiki skrobi

budyniowej z dodatkiem monosacharydów oraz laktozy również charakteryzowały się niższymi wartościami granicy płynięcia w porównaniu z próbką tej skrobi niezawierającą sacharydu (tab. 1). Wartości parametru τ_0 krzywych płynięcia kleików preparatu Lubostat z disacharydami nie uległy istotnym zmianom w stosunku do wartości tego parametru, oznaczonej w kleiku tej skrobi bez dodatku sacharydu. Z kolei wartość granicy płynięcia kleików preparatu Lubostat z monosacharydami istotnie się zwiększyła w przypadku dodatku glukozy, natomiast zmniejszyła się w przypadku dodatku fruktozy (tab. 1).

Z porównania wartości wskaźnika płynięcia „n” krzywych płynięcia kleików skrobiowych bez dodatku sacharydów (tab. 1) wynika, że kleiki skrobi ziemniaczanej Superior Standard były w znacznie mniejszym stopniu rozrzedzane ścinaniem niż kleiki pozostałych preparatów skrobiowych. Analizując natomiast wpływ dodatku sacharydów na charakter reologiczny preparatów skrobiowych można zauważyć, że obecność każdego z zastosowanych sacharydów, a zwłaszcza disacharydów, w kleikach skrobi niemodyfikowanej Superior Standard przyczyniła się do nadania kleikom tej skrobi charakteru bardziej rozrzedzanego ścinaniem. Odmienne zjawisko stwierdzono w przypadku skrobi modyfikowanych, których kleiki sporządzone z dodatkiem monosacharydów oraz laktozy wykazywały właściwości płynów mniej rozrzedzanych ścinaniem niż kleiki skrobiowe bez udziału sacharydów (tab. 1). Pięcioprocentowy dodatek sacharozy do układów preparatu Lubostat oraz zagęstnika skrobiowego AD skutkowało zwiększeniem stopnia rozrzedzania ścinaniem uzyskanych kleików. Zależność taka została również stwierdzona w pracach innych autorów badających układy skrobi kukurydzianej woskowej [4] oraz zwykłej kukurydzianej [13] z sacharozą. Z kolei przeciwne oddziaływanie sacharozy, tj. osłabienie charakteru rozrzedzania ścinaniem skrobi ryżowej wykazali Yoo i Yoo [20], przy czym pomiary wykonywali w temp. 25°C.

Wyznaczone wartości współczynnika „K”, będące miarą lepkości pozornej płynów, przedstawiono w tab. 1. Spośród kleików skrobiowych niezawierających dodatku sacharydów kleik skrobi ziemniaczanej Superior Standard osiągnął najmniejsze wartości tego parametru. Skrobie sieciowane – preparat Lubostat oraz zagęstnik skrobiowy AD – charakteryzowały się największą lepkością pozorną, natomiast mniejszą lepkość przejawiała skrobia budyniowa (tab. 1).

Obecność sacharydów w układach skrobi ziemniaczanej Superior Standard przyczyniła się do zwiększenia wartości współczynnika konsystencji „K” uzyskanych kleików (tab. 1). Podobne rezultaty pomiarów reologicznych uzyskali Abu-Jdayil i wsp. [1] oraz Genovese i wsp. [10], badający odpowiednio układy skrobi pszennej i skrobi kukurydzianej woskowej z sacharydami. Stwierdzone zwiększenie lepkości pozornej kleików było prawdopodobnie rezultatem powiększonej średnicy ziaren skrobiowych [1]. Przeciwnie zjawisko, tj. zmniejszenie lepkości pozornej kleików wskutek wprowa-

dzenia sacharydów do dyspersji skrobiowych zaobserwowano w przypadku skrobi budyniowej oraz preparatu Lubostat, z wyjątkiem próbek skrobi budyniowej z udziałem sacharozy, w których zmiany współczynnika konsystencji były statystycznie nieistotne. W układach zagęstnika skrobiowego AD istotne zmiany wartości współczynnika konsystencji wywołał jedynie dodatek fruktozy oraz sacharozy (tab. 1).

Tabela 1

Wartości parametrów modelu Herschela-Bulkleya
The values of parameters of Herschel-Bulkley model

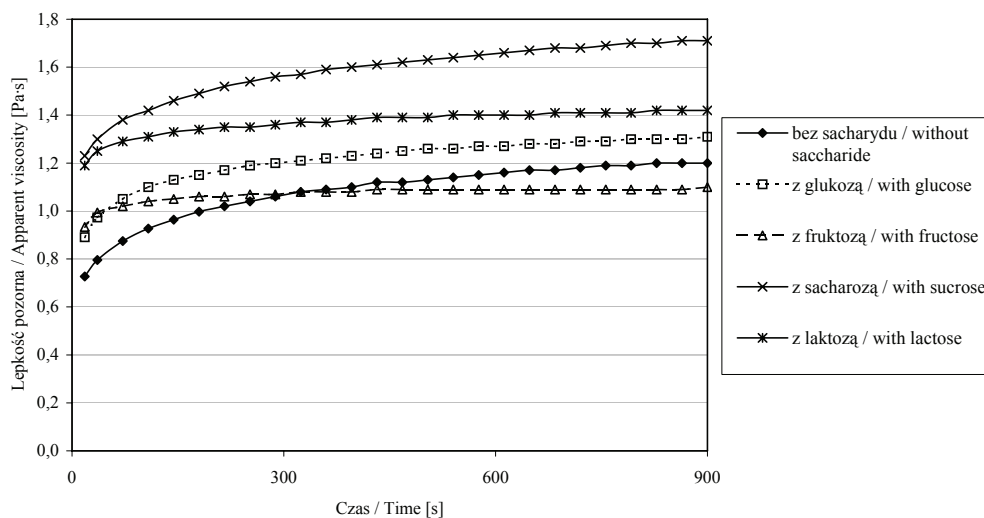
Rodzaj sacharydu Kind of saccharide	τ_0 [Pa]	n [-]	K [Pa·s ⁿ]	R ²
Skrobia ziemniaczana Superior Standard / Potato starch				
Bez sacharydu Without saccharide	3,38	0,89	1,09	0,9987
Glukoza / Glucose	5,29	0,77	2,29	0,9979
Fruktoza / Fructose	6,35 a	0,69	3,87	0,9992
Sacharoza / Sucrose	7,54 b	0,63 a	6,14 a	0,9982
Laktoza / Lactose	6,97 ab	0,64 a	6,19 a	0,9982
NIR _{0,05} / LSD _{0,05}	0,846	0,031	1,303	
Skrobia budyniowa / Oxidized starch				
Bez sacharydu Without saccharide	8,76	0,60 a	5,97 a	0,9996
Glukoza / Glucose	2,36	0,68 bc	1,03 b	0,9997
Fruktoza / Fructose	4,72	0,69 bd	1,65 b	0,9998
Sacharoza / Sucrose	10,87	0,63 ae	5,28 a	0,9999
Laktoza / Lactose	7,71	0,66 cde	2,59	0,9997
NIR _{0,05} / LSD _{0,05}	0,771	0,039	0,809	
Lubostat / Distarch phosphate				
Bez sacharydu Without saccharide	9,64 ab	0,59	8,44	0,9998
Glukoza / Glucose	11,79 c	0,69	2,75 ab	0,9997
Fruktoza / Fructose	2,09	0,62	2,08 ac	0,9987
Sacharoza / Sucrose	10,11 ac	0,55	13,06	0,9941
Laktoza / Lactose	8,04 b	0,65	3,26 bc	0,9999
NIR _{0,05} / LSD _{0,05}	1,768	0,020	1,614	

c.d. Tab. 1.

	Zagęstnik skrobiowy AD Acetylated distarch adipate			
Bez sacharydu Without saccharide	9,87 a	0,58 ab	8,56 ab	0,9995
Glukoza / Glucose	13,44	0,58 ac	9,18 a	0,9993
Fruktoza / Fructose	17,13	0,61	6,84 c	0,9985
Sacharoza / Sucrose	5,80	0,49	18,50	0,9920
Laktoza / Lactose	11,32 a	0,59 bc	7,41 bc	0,9995
NIR _{0,05} / LSD _{0,05}	1,595	0,017	1,424	

W obrębie każdej kolumny wartości średnie parametrów oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$ / Within each column, means with the same letter are not statistically significantly different at $\alpha = 0,05$; τ_0 – granica płynięcia / yield stress; n – wskaźnik płynięcia / flow behaviour index;

K – współczynnik konsystencji / consistency coefficient; R^2 – współczynnik determinacji / determination coefficient.

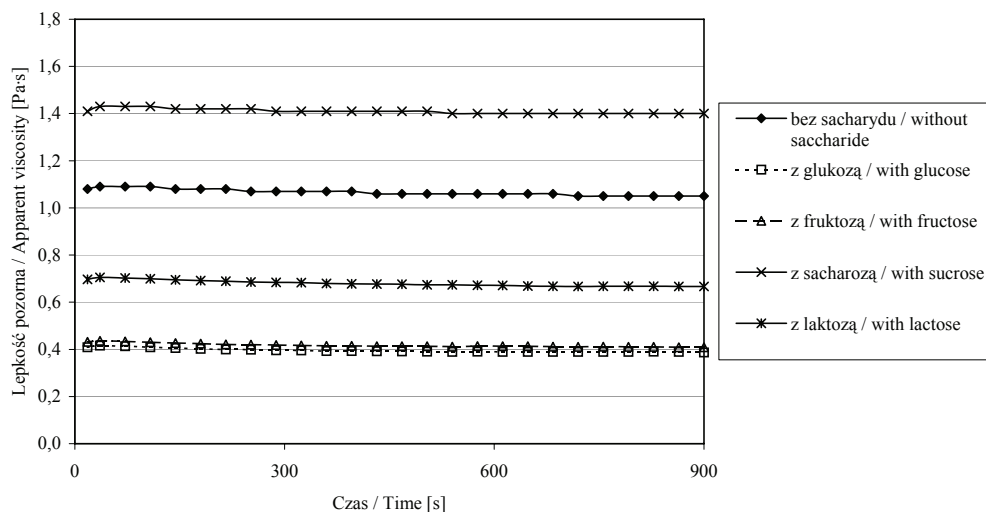


Rys. 5. Zmiany lepkości pozornej 5% kleików skrobi ziemniaczanej Superior Standard z 5% dodatkiem sacharydów w czasie stałego ścinania.

Fig. 5. Apparent viscosity versus time curves of 5% potato starch pastes with saccharides (5%).

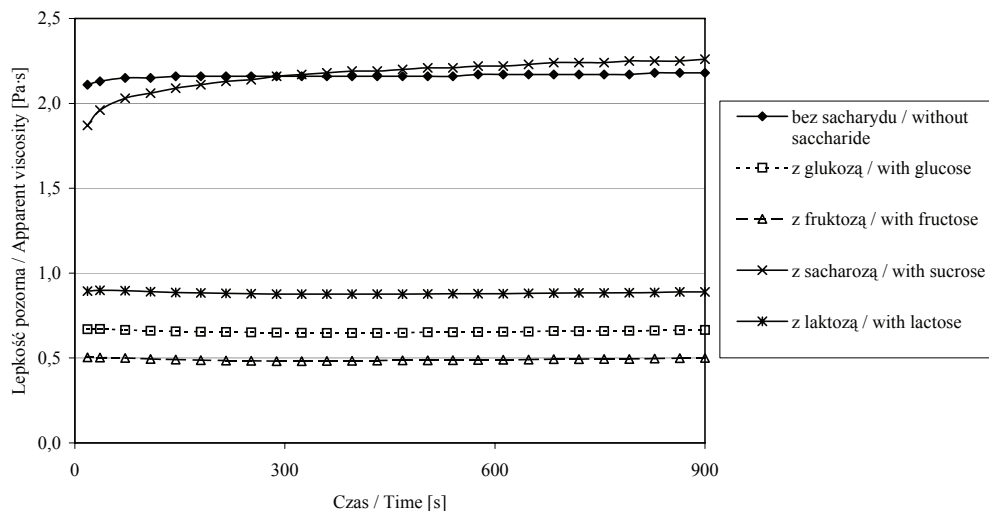
Zmiany lepkości pozornej kleików skrobiowych w czasie 15-minutowego ścinania ze stałą prędkością $\dot{\gamma} = 50s^{-1}$ przedstawiono na rys. 5–8. Spośród kleików niezawierających dodatku sacharydów największymi wartościami lepkości pozornej w badanym przedziale czasowym charakteryzowały się kleiki preparatu Lubostat oraz zagęstnika

skrobiowego AD (rys. 7 i 8). Kleiki skrobi niemodyfikowanej Superior Standard wykazywały zachowanie antytiksotropowe, które przejawiało się wzrostem lepkości pozornej w czasie ścinania ze stałą prędkością (rys. 5). Obserwowane zjawisko wynikało prawdopodobnie z procesu tworzenia indukowanej ścinaniem struktury zagregowanych łańcuchów polimerowych lub ich fragmentów. Układy pozostałych skrobi nie wykazywały zachowania antytiksotropowego, co świadczy o wpływie procesu modyfikacji chemicznej na stabilność reologiczną skrobi. Kleiki preparatów skrobiowych zawierające sacharozę charakteryzowały się wyższymi wartościami lepkości pozornej niż kleiki sporządzone w samej wodzie (rys. 5–8). Jedynie w przypadku skrobi Lubostat lepkość pozorna próbki bez dodatku sacharydu w początkowym okresie ścinania przewyższała lepkość pozorną kleiku sporządzonego z udziałem sacharozy (rys. 7). Analizując krzywe zmian lepkości pozornej skrobi budyniowej (rys. 6) oraz skrobi Lubostat (rys. 7) można zauważyć, że dodatek glukozy, fruktozy oraz laktozy do dyspersji skrobiowych spowodował obniżenie wartości lepkości pozornej uzyskanych kleików w stosunku do wartości tego parametru próbek niezawierających sacharydów. Opisany wyżej efekt oddziaływania sacharydów na lepkość pozorną kleików skrobiowych miał również miejsce w próbkach zagęstnika skrobiowego AD z fruktozą i laktozą (rys. 8). Należy jednak podkreślić, że wpływ powyższych sacharydów był najbardziej wyraźny w układach preparatu Lubostat (rys. 7). Obecność sacharydów nie wpłynęła istotnie na zmianę stabilności reologicznej kleików ziemniaczanych skrobi modyfikowanych. W przypadku skrobi niemodyfikowanej Superior Standard obecność fruktozy oraz laktozy wpłynęła na poprawę stabilności reologicznej kleików tej skrobi (rys. 5).



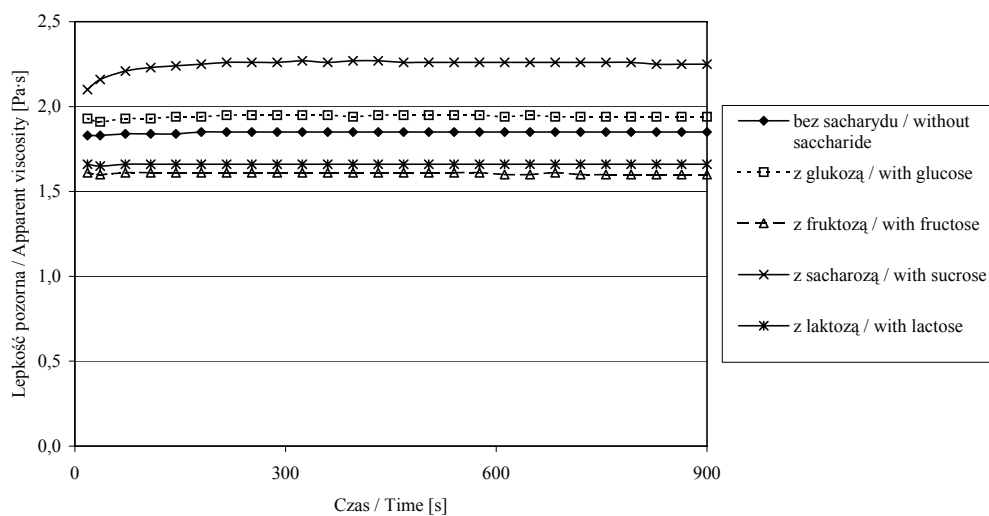
Rys. 6. Zmiany lepkości pozornej 5% kleików skrobi budyniowej z 5% dodatkiem sacharydów w czasie stałego ścinania.

Fig. 6. Apparent viscosity versus time curves of 5% oxidized starch pastes with saccharides (5%).



Rys. 7. Zmiany lepkości pozornej 5% kleików preparatu Lubostat z 5% dodatkiem sacharydów w czasie stałego ścinania.

Fig. 7. Apparent viscosity versus time curves of 5% distarch phosphate pastes with saccharides (5%).



Rys. 8. Zmiany lepkości pozornej 5% kleików zagęstnika skrobiowego AD z 5% dodatkiem sacharydów w czasie stałego ścinania.

Fig. 8. Apparent viscosity versus time curves of 5% acetylated distarch adipate pastes with saccharides (5%).

Wnioski

1. Kleiki skrobi modyfikowanych chemicznie – skrobi utlenionej, fosforanu diskrobiowego i acetylowanego adypinianu diskrobiowego – sporządzone z pięcioprocentowym dodatkiem glukozy, fruktozy, sacharozy lub laktozy wykazywały właściwości płynów nienewtonowskich rozrzedzanych ścinaniem, z tendencją do granicy płynięcia.
2. Obecność monosacharydów oraz laktozy w kleikach skrobi modyfikowanych przyczyniła się do nadania kleikom tych skrobi właściwości płynów mniej rozrzedzanych ścinaniem niż kleiki skrobiowe sporządzone bez udziału sacharydów. Efekt przeciwny – zwiększenie stopnia rozrzedzania ścinaniem kleików zawierających dodatek sacharydu – stwierdzono w przypadku skrobi ziemniaczanej niemodyfikowanej.
3. Kleiki skrobi modyfikowanych i niemodyfikowanej z dodatkiem sacharozy charakteryzowały się wyższymi wartościami lepkości pozornej niż kleiki niezawierające dodatku sacharydu. Obecność glukozy, fruktozy i laktozy wpłynęła na zmniejszenie lepkości pozornej kleików skrobi utlenionej oraz fosforanu diskrobiowego.
4. Dodatek sacharydów nie wpłynął istotnie na zmianę stabilności reologicznej kleików skrobi modyfikowanych, natomiast stabilność reologiczna kleików skrobi ziemniaczanej niemodyfikowanej uległa poprawie w obecności fruktozy lub laktozy.

Literatura

- [1] Abu-Jdayil B., Azzam M.O.J., Al-Malah K.I.M.: Effect of glucose and storage time on the viscosity of wheat starch dispersions. *Carboh. Polym.*, 2001, **46** (3), 207-215.
- [2] Abu-Jdayil B., Mohameed H., Eassa A.: Rheology of starch-milk-sugar systems: effect of heating temperature. *Carboh. Polym.*, 2004, **55** (3), 307-314.
- [3] Abu-Jdayil B., Mohameed H., Eassa A.: Rheology of wheat starch-milk-sugar systems: effect of starch concentration, sugar type and concentration, and milk fat content. *J. Food Eng.*, 2004, **64** (2), 207-212.
- [4] Acquarone V.M., Rao M.A.: Influence of sucrose on the rheology and granule size of cross-linked waxy maize starch dispersions heated at two temperatures. *Carboh. Polym.*, 2003, **51** (4), 451-458.
- [5] Al-Malah K.I., Azzam M.O.J., Abu-Jdayil B.: Effect of glucose concentration on the rheological properties of wheat-starch dispersions. *Food Hydrocoll.*, 2000, **14** (5), 491-496.
- [6] Brzeziński S., Pałka A., Kosicki S.: Badanie właściwości reologicznych skrobi modyfikowanych podchlorynem sodu. *Zesz. Nauk. PŁ. Chemia Spożywcza i Biotechnologia*, 1999, **813** (61), 29-35.
- [7] Eliasson A.-C.: Viscoelastic behaviour during the gelatinization of starch. I. Comparison of wheat, maize, potato and waxy-barley starches. *J. Text. Stud.*, 1986, **17**, 253-265.
- [8] Evans J.D., Haisman D.R.: The effect of solutes on the gelatinization temperature range of potato starch. *Starch/Stärke*, 1982, **34** (7), 224-231.
- [9] Fortuna T., Rożnowski J.: Skrobie modyfikowane chemicznie, ich właściwości i zastosowanie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **2** (31), 16-29.


- [10] Genovese D.B., Acquarone V.M., Youn K.-S., Rao M.A.: Influence of fructose and sucrose on small and large deformation rheological behaviour of heated amioca starch dispersions. *Food Sci. Technol. Int.*, 2004, **10** (1), 51-57.
- [11] Gonera A., Cornillon P.: Gelatinization of starch/gum/sugar systems studied by using DSC, NMR, and CSLM. *Starch/Stärke*, 2002, **54** (11), 508-516.
- [12] Gruchała L., Balcerek W., Bąkowska M.: Badania właściwości reologicznych modyfikatorów skrobiowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **4** (25), 99-108.
- [13] Hirashima M., Takahashi R., Nishinari K.: Changes in the viscoelasticity of maize starch pastes by adding sucrose at different stages. *Food Hydrocoll.*, 2005, **19** (4), 777-784.
- [14] Matser A.M., Steeneken P.A.M.: Rheological properties of highly cross-linked waxy maize starch in aqueous suspensions of skim milk components. Effects of the concentration of starch and skim milk components. *Carboh. Polym.*, 1997, **32** (3-4), 297-305.
- [15] Pereira L.B., Menegalli F.C.: Sucrose effect on rheological behaviour of amaranth starch. *Proc. ICEF9-2004 Int. Conf. Engineering and Food, Montpellier 2004*, p. 290.
- [16] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 23 kwietnia 2004 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu. *Dz. U.* 2004. Nr 94, poz. 933. z późn. zm.
- [17] Rutkowski A., Gwiazda S., Dąbrowski K.: *Kompendium dodatków do żywności*. Wyd. Hortimex, Konin 2003.
- [18] Schirmer M.A., Toledo M.C.F., Reyes F.G.R.: Effect of food ingredients on the viscosity of phosphate monoesters of corn starch. *Starch/Stärke*, 1986, **38** (4), 124-128.
- [19] Sikora M., Mazurkiewicz J., Tomasiak P., Pielichowski K.: Rheological properties of some starch-water-sugar systems. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 1999, **34** (4), 371-383.
- [20] Yoo D., Yoo B.: Rheology of rice starch-sucrose composites. *Starch/Stärke*, 2005, **57** (6), 254-261.

EFFECT OF SACCHARIDES ADDITION ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF MODIFIED STARCHES

Summary

The results of investigation of the effect of saccharides (5% w/w) on rheological properties of modified starches were presented in this study. Three commercial modified potato starches, i.e. oxidized starch, distarch phosphate, acetylated distarch adipate, and unmodified potato starch were investigated. Glucose, fructose, sucrose and lactose were used, as well. Study of the rheological properties involved: determination of flow curves and apparent viscosity versus time curves at temperature of 50°C. Experimental flow curves were characterised by Herschel-Bulkley model.

Starch pastes prepared with saccharides and these without saccharides showed shear-thinning flow behaviour with tendency to yield stress. The presence of saccharides in modified starch systems, except for sucrose, resulted in higher values of flow behaviour index (n) and lower values of consistency coefficient (K) compared to values of these parameters obtained in starch-water systems. The opposite effect, i.e. an increase and a decrease of values of n and K, respectively, was observed in the case of unmodified potato starch pastes containing one of saccharides. The 5% addition of saccharides to modified starch-water systems did not influence significantly the rheological stability of obtained pastes.

Key words: modified starches, saccharides, rheological properties 

EWA ZDYBEL

WŁAŚCIWOŚCI PREPARATÓW SKROBI ZIEMNIACZANEJ PODDANEJ MODYFIKACJOM CHEMICZNYM I PRAŻENIU

Streszczenie

Celem pracy było określenie właściwości preparatów skrobi uzyskanych w wyniku zastosowania modyfikacji chemicznych i następnie prażenia.

Preparaty skrobi uzyskano przez wysycanie kationami żelaza(III), ogrzewanie z glicyną lub estryfikowanie fosforanami. Działając na skrobię ziemniaczaną wymienionymi czynnikami uzyskano modyfikaty skrobiowe o odmiennych właściwościach od skrobi naturalnej.

Skrobia wysycana cytrynianem żelaza charakteryzowała się wyższą lepkością 1% kleików oraz silniejszym pęcznieniem gałeczek od skrobi naturalnej i od skrobi wysycanej chlorkiem żelaza(III). Poddanie fosforanu monoskrobiowego dodatkowemu prażeniu powodowało wzrost lepkości 1% kleiku, rozpuszczalności w wodzie na zimno oraz wodochłonności. Wszystkie modyfikaty skrobi, poza fosforanem monoskrobiowym, w wyniku poddania prażeniu odznaczały się podwyższoną rozpuszczalnością w wodzie, zmniejszoną lepkością 1% kleików oraz obniżonym ciepłem przemiany fazowej. Skrobia wysycana chlorkiem żelaza(III) oraz fosforan monoskrobiowy poddane dodatkowemu prażeniu charakteryzowały się najniższą wśród przebadanych preparatów podatnością na działanie enzymów amyloリティcznych.

Słowa kluczowe: skrobia ziemniaczana, wysycanie żelazem(III), ogrzewanie z glicyną, fosforan monoskrobiowy, prażenie

Wprowadzenie

Skrobia jest naturalnym biopolimerem wykorzystywanym nie tylko w przemyśle spożywczym, ale także w wielu innych dziedzinach przemysłu. Jednym z powodów szerokiego wykorzystania skrobi jest łatwość zmieniania jej właściwości, co umożliwia dostosowanie ich do zapotrzebowania nowoczesnych technologii. Właściwości skrobi można zmieniać w szerokim zakresie, działając na nią czynnikami chemicznymi, fizycznymi, jak również enzymatycznie.

Wśród modyfikatorów skrobiowych najszersze zastosowanie w przemyśle znalazły preparaty skrobi modyfikowanej na drodze chemicznej, o zmienionych właściwościach, takich jak: ciężar cząsteczkowy, temperatura kleikowania, rozpuszczalność, lepkość, zdolność wiązania wody, stabilność temperaturowa, odporność na kwasy i enzymy [24]. Trzy główne reakcje wykorzystywane w chemicznej modyfikacji skrobi to: estryfikacja, eteryfikacja i utlenienie [15, 17]. Praktyczne zastosowanie znalazły także produkty sieciowania skrobi oraz skrobie wysycane kationami [2]. Skrobie modyfikowane czynnikami chemicznymi, które dopuszczone zostały do stosowania w przemyśle spożywczym są oznaczone symbolem „E” z odpowiednim numerem, tak jak wszystkie dodatki do żywności [23].

W skrobi ziemniaczanej występuje kwas o-fosforowy(V), związany estrowo z amylopektyną, tworząc tzw. kwas amylofosforowy [6, 25]. Może on występować w formie wolnego kwasu, jako sól jednometaliczna lub dwumetaliczna. Rodzaj kationu i stopień wysycenia nimi wpływa na właściwości otrzymanych preparatów. Zawartość fosforu w skrobi można sztucznie zwiększyć przez estryfikację.

Szeroko wykorzystywanymi preparatami uzyskanymi w wyniku estryfikacji skrobi są fosforany skrobiowe [5]. W zależności od sposobu przyłączenia fosforanów do skrobi wyróżniamy fosforany monoskrobiowe oraz fosforany diskrobiowe [4]. W fosforanach monoskrobiowych reszta kwasu fosforowego łączy się tylko z jedną grupą hydroksylową skrobi, a zawartość fosforanu wynosi maksymalnie 0,5%. Fosforan monoskrobiowy (E1410) stosowany jest jako środek zagęszczający i stabilizujący. Dodaje się go do deserów, puddingów, koncentratów spożywczych, ketchupów, sosów warzywnych, napojów mlecznych i margaryn [18].

Właściwości skrobi zmieniają się także pod wpływem działania temperatury. W wyniku ogrzewania skrobi w temp. ponad 120°C następuje depolimeryzacja i repolimeryzacja łańcuchów skrobiowych. Tworzą się wiązania pomiędzy różnymi atomami węgla w resztach glukozy, inne od naturalnie występujących w skrobi wiązań [20]. Zostało także stwierdzone, że ogrzewanie skrobi do 121°C powoduje wzrost temperatury kleikowania oraz zmniejszenie lepkości kleików [12], zmniejsza się także entalpia kleikowania, wzrasta natomiast rozpuszczalność. Efekty tego działania wrażliwe są wraz ze zwiększeniem się stosowanej temperatury i wilgotności skrobi [13].

Celem pracy było określenie właściwości preparatów skrobi uzyskanych w wyniku zastosowania modyfikacji chemicznych i następnie poddanych prażeniu.

Material i metody badań

Materiał badawczy stanowiła skrobia ziemniaczana Superior wyprodukowana przez Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemniaczanego w Niechlowie.

Skrobię ziemniaczaną wysycano kationami żelaza(III), ogrzewano z glicyną lub estryfikowano kwasem fosforowym(V), a następnie poddawano prażeniu i porówny-

wano właściwości otrzymanych preparatów z właściwościami naturalnej skrobi ziemniaczanej.

Skrobię wysycano jonami żelaza(III), przemywając ją pięcioma porcjami 1/30 molowego roztworu cytrynianu żelaza(III), a następnie wodą destylowaną do zaniku reakcji barwnej z rodankiem potasu lub przemywając 0,1 molowym roztworem chloru żelaza(III) i przepłukiwano wodą destylowaną do zaniku reakcji z azotanem srebra. Uzyskany materiał suszono w temp. 30°C, następnie rozdrabniano w moździerzu i przesiewano przez sito o średnicy otworów 0,4 mm [11].

Skrobię mieszano z roztworem glicyny (100 g glicyny w 510 ml wody na 1000 g suchej skrobi) i po wysuszeniu w temp. 30°C ogrzewano z glicyną w temp. 160°C przez 1 godz. Otrzymany materiał mielono i przesiewano przez sito o średnicy otworów 0,4 mm [9].

Estryfikację skrobi fosforanem prowadzono przy użyciu 262,7 g dwunastowodnionego wodorooortofosforanu(V) sodu $[\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ oraz 52,2 g uwodnionego diwodorooortofosforanu(V) sodu $[\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}]$, które rozpuszczano w 510 ml wody destylowanej. Uzyskany roztwór fosforanów mieszano z 1000 g skrobi. Sporządzony materiał suszono w temp. 60°C przez 24 godz., a następnie prażono w temp. 160°C przez 3 godz. Wyprażony materiał mielono. Nadmiar fosforanów usuwano przez trzykrotne przemycie 60% etanolem i jednokrotne przemycie 96% etanolem. Materiał suszono w temp. 30°C, następnie rozdrabniano w moździerzu i przesiewano przez sito o średnicy otworów 0,4 mm [22].

Uzyskane modyfikaty skrobiowe dzielono na dwie równe części, z których jedną prażono w suszarce laboratoryjnej w temp. 160°C przez 3 godz., a drugą pozostawiano bez zmian. Po ostudzeniu wszystkie próby przesiewano przez sito o średnicy otworów 0,4 mm.

W sporządzonych modyfikatach oznaczano:

- zawartość fosforu po mineralizacji z zastosowaniem wanadynianu amonu i molibdenianu amonu przy użyciu spektrometru, przy długości fali 460 [19];
- zawartość żelaza metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej po mineralizacji przy wykorzystaniu aparatu AA240FS Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometer firmy Varian, stosując parametry: długość fali – 248,3 nm; czas pomiaru – 3 s; typ płomienia – powietrze/acetylen; przepływ powietrza – 13,5 l/min; przepływ acetylenu – 2 l/min [21];
- rozpuszczalność preparatów w wodzie przez oznaczenie suchej masy supernatantu uzyskanego z odwirowanego (25000 g) 1% kleiku przetrzymywanego przez 30 min w łaźni wodnej o temp. 30 lub 80°C;
- wodochłonność preparatów określano przez oznaczenie masy osadu pozostałego po odwirowaniu supernatantu [22];

- lepkość 1% kleików po ich przetrzymywaniu przez 24 godz. w temp. 20°C. Pomiar wykonywano za pomocą aparatu HAAKE RS 50 RHEOSTRESS, stosując cylinder pomiarowy Z38, przy prędkości ścinania 50 s⁻¹ przez 120 s i przy użyciu programu 120RheoWin Pro Data Manager Version 2,61 [26];
- ciepło przemiany fazowej oraz średnie ciepło właściwe przemiany przy użyciu różnicowego kolorymetru skaningowego DSC 821 firmy Mettler Toledo, stosując szybkość ogrzewania 4°C/min., w zakresie temp. 30–100°C [1]. Średnim ciepłem właściwym przemiany nazwano w pracy ilość ciepła pobieraną przez 1 g substancji podczas przemiany fazowej zachodzącej w czasie ogrzania tej substancji o 1°C. W literaturze wielkość ta określana jest jako PHI – peak height index [27];
- pęcznienie skrobi naturalnej i wysycanej żelazem mierząc przeciętną „średnicę objętościową” gałeczek skrobi naturalnej, skrobi wysycanej cytrynianem żelaza oraz skrobi wysycanej chlorkiem żelaza(III), po ogrzaniu wodnej zawiesiny skrobi do temp. w zakresie 25 i 90°C (co 5°C), za pomocą laserowego analizatora cząstek Mastersizer 2000 firmy Malvern Instruments, stosując przystawkę pomiarową Hydro 2000MU;
- podatność na działanie enzymów: α-amylazy (Fungamyl 800 firmy Novo Nordisk, przy pH = 5,3) i glukoamylazy (AMG 300 firmy Novo Nordisk, przy pH = 4,0), przetrzymując 0,18% kleiki wraz z enzymem w temp. 37°C przez 30 i 120 min i oznaczając ilość powstałych cukrów metodą redukcyjną [7].

Wyniki badań poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu Statistica 6.1 PL [29], stosując test Duncana przy poziomie ufności $p < 0,05$. Wyniki przedstawiono w tabelach oraz na rysunkach z podaniem wartości średnich oraz najmniejszych istotnych różnic.

Wyniki i dyskusja

W pracy badano skrobię estryfikowaną fosforanami, wysycaną cytrynianem żelaza, chlorkiem żelaza lub ogrzewaną z glicyną. Modyfikaty te poddawano dodatkowemu działaniu energii cieplnej. Brak jest w literaturze danych dotyczących zmiany właściwości tych modyfikatów skrobiowych poddanych dodatkowemu działaniu wysokiej temperatury.

Zastosowany do estryfikacji fosforan naturalnie występuje w skrobi ziemniaczanej. Wraz ze wzrostem jego zawartości wzrasta rozpuszczalność i uwodnienie skrobi, osłabieniu natomiast ulegają wewnętrzne wiązania stabilizujące jej struktury krystaliczne [4]. Można sztucznie zwiększać ilość kwasu fosforowego w skrobi poprzez dodatkową chemiczną estryfikację. W wyniku zastosowanej w badaniach estryfikacji, zawartość fosforu, zgodnie z danymi literaturowymi [4], wzrosła ponad dziesięciokrotnie w stosunku do skrobi naturalnej (tab. 1).

Tabela 1

Zawartość żelaza i fosforu w skrobi naturalnej i preparatach skrobiowych.
The content of phosphate and iron in native starch and starch preparations.

Rodzaj preparatu Type of preparation	Zawartość fosforu Content of phosphate [mg P/100 g]	Zawartość żelaza Content of iron [mg Fe/100g]
Skrobia naturalna Native starch	80,0	1,2
Skrobia wysycana cytrynianem żelaza(III) Starch saturated with iron citrate	nieoznaczono / not indicated	33,2
Skrobia wysycana chlorkiem żelaza(III) Starch saturated with iron chloride	nieoznaczono / not indicated	70,4
Skrobia ogrzewana z glicyną Starch heated with the glycine	nieoznaczono / not indicated	1,2
Fosforan(V) monoskrobiowy Monostarch phosphate	864,7	0,9

Tabela 2

Lepkość 1% kleików wykonanych ze skrobi naturalnej oraz z preparatów skrobiowych.
Viscosity of 1 % pastes obtained from native starch and starch preparations.

Rodzaj preparatu Type of preparation	Lepkość 1% kleików Viscosity of 1% pastes [mPa s]	
	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting
Skrobia naturalna Native starch	134,00	2,74
Skrobia wysycana cytrynianem żelaza(III) Starch saturated with iron citrate	176,13	0,10
Skrobia wysycana chlorkiem żelaza(III) Starch saturated with iron chloride	7,76	0,10
Skrobia ogrzewana z glicyną Starch heated with the glycine	0,10	0,10
Fosforan(V) monoskrobiowy Monostarch phosphate	39,38	68,60

Według danych literaturowych, fosforany monoskrobiowe odznaczają się obniżoną podatnością na działanie α -amylazy [28], dobrze wiążą wodę, charakteryzują się podwyższoną rozpuszczalnością i tworzą kleiki o niższej lepkości od kleików ze skrobi naturalnej [4, 16]. Badania sporządzonych w pracy fosforanów monoskrobiowych potwierdzają te dane. Lepkość kleiku sporządzonego z fosforanu monoskrobiowego była niższa od lepkości kleiku ze skrobi naturalnej (tab. 2). Fosforan skrobiowy charakteryzował się także bardzo wysoką rozpuszczalnością w wodzie i wodochłonnością już w temp. 30°C (tab. 3 i 4), co jest ważną cechą funkcjonalną fosforanu monoskrobiowego, stosowanego w przemyśle jako środek stabilizujący i zagęszczający [18]. Okazało się, że poddanie fosforanu monoskrobiowego dodatkowemu prażeniu zwiększyło jego wodochłonność, rozpuszczalność w wodzie oraz lepkość, poprawiły się więc jego właściwości funkcjonalne. Możliwe, że dzięki temu stosując w przemyśle fosforan poddany dodatkowemu prażeniu będzie można zmniejszyć jego dodatek przy zachowaniu wymaganych cech gotowego produktu.

Tabela 3

Rozpuszczalność w wodzie skrobi naturalnej oraz preparatów skrobiowych [%].
Solubility of native starch and starch preparations [%].

Rodzaj preparatu Type of preparation	Rozpuszczalność w temp. 30°C Solubility in temp of 30°C		Rozpuszczalność w temp. 80°C Solubility in temp of 80°C	
	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting
Skrobia naturalna Native starch	0,0	1,02	25,76	70,53
Skrobia wysycana cytrynianem żelaza(III) Starch saturated with iron citrate	0,0	92,45	32,79	99,71
Skrobia wysycana chlorkiem żelaza(III) Starch saturated with iron chloride	0,0	89,32	27,94	91,33
Skrobia ogrzewana z glicyną Starch heated with the glycine	8,28	9,18	77,08	81,27
Fosforan(V) monoskrobiowy Monostarch phosphate	33,42	45,07	68,54	62,66
NIR LSD	1,03		1,66	

Tabela 4

Wodochłonność skrobi naturalnej oraz preparatów skrobiowych [g/g].
Water holding capacity of native starch and starch preparations [g/g].

Rodzaj preparatu Type of preparation	Wodochłonność w 30°C Water holding capacity in temp of 30°C		Wodochłonność w 80°C Water holding capacity in temp of 80°C	
	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting
Skrobia naturalna Native starch	2,23	2,36	41,13	18,68
Skrobia wysycana cytrynianem żelaza(III) Starch saturated with iron citrate	2,33	0,96	55,73	0,05
Skrobia wysycana chlorkiem żelaza(III) Starch saturated with iron chloride	2,23	1,34	14,53	0,51
Skrobia ogrzewana z glicyną Starch heated with the glycine	2,36	2,76	9,61	7,57
Fosforan(V) monoskrobiowy Monostarch phosphate	32,59	44,66	51,57	57,02
NIR LSD	0,90		2,43	

Bardzo małe ciepło przemiany oraz niskie średnie ciepło właściwe przemiany oznaczone w czasie ogrzewania fosforanu(V) monoskrobiowego z wodą (tab. 5) jest prawdopodobnie spowodowane zmianami w strukturze, takimi jak zmniejszenie zawartości frakcji krystalicznej i rozpad podwójnych helis, spowodowanymi estryfikacją skrobi. Rozpad podwójnych helis wpływa na wielkość ciepła przemiany, natomiast proces zaniku struktur krystalicznych skrobi powoduje zmiany zakresu temperatury i średniego ciepła właściwego przemiany [27].

W wyniku wysycania skrobi żelazem(III) wzrastała zawartość tego pierwiastka, z tym że dwukrotnie więcej żelaza znajdowało się w skrobi wysycanej chlorkiem żelaza niż w wysycanej cytrynianem żelaza (tab. 1).

Lepkość 1% kleików skrobi wysycanej cytrynianem żelaza(III) była wyższa od 1% kleików skrobi naturalnej (tab. 2). Było to przypuszczalnie spowodowane sieciowaniem łańcuchów skrobi przez wprowadzone do jej struktury trójwartościowe jony

żelaza. Znacznie niższa lepkość 1% kleików sporządzonych ze skrobi wysycanej chlorkiem żelaza(III), od lepkości 1% kleików skrobi wysycanej cytrynianem żelaza(III), wynikała prawdopodobnie z dekstrynizacji, zachodzącej w czasie suszenia skrobi wysycanej chlorkiem żelaza(III), i depolimeryzacji, w czasie sporządzania kleików, spowodowanej ich niską wartością pH.

Tabela 5

Ciepło przemiany oraz średnie ciepło właściwe przemiany fazowej skrobi naturalnej i preparatów skrobi.
Heat and mean specific heat of phase transition of native starch and starch preparations.

Rodzaj preparatu Type of preparation	Ciepło przemiany Heat of phase transition [J/g]		Średnie ciepło właściwe przemiany Mean specific heat of phase transition [J/g°C]	
	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting
Skrobia naturalna Native starch	15,53	11,02	1,49	0,85
Skrobia wysycana cytrynianem żelaza(III) Starch saturated with iron citrate	13,12	0,00	1,17	brak przemiany
Skrobia wysycana chlorkiem żelaza(III) Starch saturated with iron chloride	15,47	0,00	1,36	brak przemiany
Skrobia ogrzewana z glicyną Starch heated with the glycine	11,90	8,46	0,89	0,6
Fosforan(V) monoskrobiowy Monostarch phosphate	0,88	0,00	0,04	brak przemiany
NIR LSD	0,91		0,07	

W celu dodatkowego porównania właściwości skrobi wysycanej cytrynianem żelaza(III) i chlorkiem żelaza(III) zbadano wielkość gałeczek tych skrobi oraz skrobi naturalnej przetrzymywanych w wodzie, w różnej temperaturze (rys. 1). Gałeczki wszystkich preparatów przed pęcznieniem charakteryzowały się jednakowymi rozmiarami i rozpoczynały pęcznienie w temp. powyżej 55°C. W wyniku ogrzewania największe rozmiary osiągnęły gałeczki skrobi wysycanej cytrynianem żelaza(III). Spo-

wodowane to było prawdopodobnie usieciowaną i wzmocnioną strukturą tej skrobi. W wyniku sieciowania, gałeczki skrobi wysycanej cytrynianem żelaza(III) chłonęły najwięcej wody i pęczniały do największych rozmiarów, zanim następowało zniszczenie ich struktury. Najmniejszą prędkością pęcznienia gałeczek oraz najmniejszym ich rozmiarem w poszczególnych wartościach temperatury charakteryzowała się skrobia wysycana chlorkiem żelaza(III). Skrobia ta charakteryzowała się także mniejszą wodochłonnością od skrobi naturalnej oraz wysycanej cytrynianem żelaza(III), co było także dowodem zachodzenia w skrobi wysycanej chlorkiem żelaza(III) procesu depolimeryzacji.

Tabela 6

Efekt scukrzenia uzyskany w wyniku działania glukoamylazy na skrobię naturalną i modyfikaty skrobiowe [%].

Saccharification degree of native starch and modified starch preparations by glucoamylase [%].

Rodzaj preparatu Type of preparation	Efekt scukrzenia po 30 min Saccharification degree after 30 min		Efekt scukrzenia po 120 min Saccharification degree after 120 min	
	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting
Skrobia naturalna Native starch	99,57	100	99,83	99,97
Skrobia wysycana cytrynianem żelaza(III) Starch saturated with iron citrate	99,90	86,07	99,90	89,34
Skrobia wysycana chlorkiem żelaza(III) Starch saturated with iron chloride	97,53	65,83	98,50	70,44
Skrobia ogrzewana z glicyną Starch heated with the glycine	95,73	92,42	98,48	96,24
Fosforan monoskrobiowy Monostarch phosphate	80,08	63,56	84,74	66,38
NIR LSD	3,66		2,44	

Tabela 7

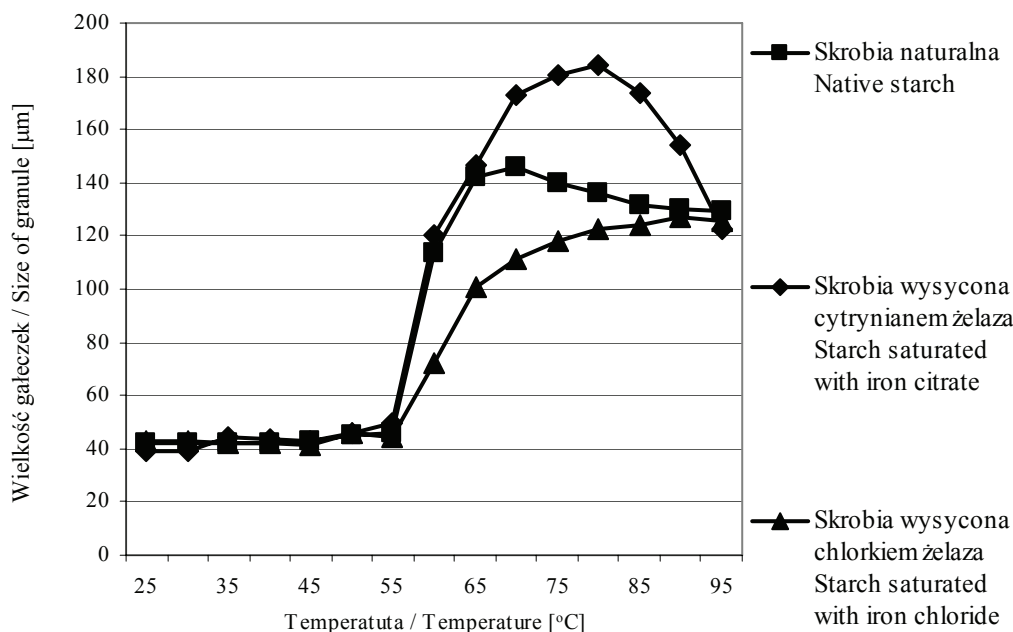
Efekt scukrzenia uzyskany w wyniku działania α -amylazy na skrobię naturalną i modyfikaty skrobiowe [%].
Saccharification degree of native starch and modified starch preparations by α -amylase [%].

Rodzaj preparatu Type of preparation	Efekt scukrzenia po 30 min Saccharification degree after 30 min		Efekt scukrzenia po 120 min Saccharification degree after 120 min	
	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting	Bez modyfikacji fizycznej Without physical modification	Prażenie Roasting
Skrobia naturalna Native starch	38,07	32,20	45,54	39,21
Skrobia wysycana cytrynianem żelaza(III) Starch saturated with iron citrate	36,51	24,69	41,54	31,20
Skrobia wysycana chlorkiem żelaza(III) Starch saturated with iron chloride	31,64	15,52	36,01	16,52
Skrobia ogrzewana z glicyną Starch heated with the glycine	33,66	31,28	40,29	37,78
Fosforan monoskrobiowy Monostarch phosphate	28,03	19,36	30,76	25,53
NIR LSD	1,93		2,63	

Prażenie skrobi wysycanej żelazem powoduje jej znaczną depolimeryzację, wynikającą ze wspomnianego niskiego pH, zachodzącą w dużo większym stopniu niż w przypadku ogrzewania skrobi naturalnej. Świadczy o tym bardzo duży wzrost rozpuszczalności, brak przemiany fazowej podczas ogrzewania z wodą preparatów poddanych prażeniu oraz duży spadek lepkości, która według danych literaturowych jest dodatnio skorelowana z długością łańcuchów skrobiowych [8].

Ogrzewanie skrobi z glicyną powoduje powstawanie związków Maillarda, dzięki reakcjom zachodzącym pomiędzy produktami depolimeryzacji skrobi a aminokwasem [9]. Związki Maillarda związane ze skrobią wpływają na jej rozpuszczalność oraz na zmniejszenie podatności skrobi na działanie enzymów amylolitycznych [10]. W prze-

przewodzonych badaniach oprócz potwierdzenia tych danych (tab. 3, 6 i 7) skrobia ogrzewana z glicyną odznaczała się wyższą rozpuszczalnością i mniejszą wodochłonnością w temp. 80°C (tab. 3 i 4). Zmiany te zwiększyły się na skutek zastosowanego prażenia.



NIR / LSD = 4,51

Rys. 1. Wielkość galeczek skrobi naturalnej i skrobi wysycanej żelazem, przetrzymywanych w wodzie o zróżnicowanej temperaturze.

Fig. 1. The granule size of native starch and starch saturated with iron in water of different temperatures.

Wszystkie badane modyfikaty charakteryzowały się obniżoną podatnością na działanie α -amylazy w stosunku do skrobi naturalnej (tab. 7), a w przypadku podatności na amyloglukozydazę jedynie wysycenie skrobi żelazem nie zmniejszało podatności na działanie tego enzymu (tab. 6). Podatność na działanie enzymów amylolitycznych wszystkich modyfikatów uległa zmniejszeniu po zastosowaniu prażenia. Świadczy to o zachodzącej podczas dodatkowego ogrzewania dekstrynizacji i repolimeryzacji, w wyniku której tworzą się wiązania niewrażliwe na działanie enzymów.

Zastosowane w pracy sposoby chemicznej i fizycznej modyfikacji skrobi stanowią nowe możliwości wytwarzania preparatów skrobi. Uzyskane modyfikaty dzięki swoim właściwościom mogą znaleźć praktyczne zastosowanie w przemyśle, np. mody-

fikaty które wykazały cechy skrobi odpornej typu RS4 [3, 14] mogą być stosowane jako dodatek do żywności zmniejszający jej kaloryczność i zwiększający zawartość błonnika pokarmowego.

Wnioski

1. Działając na skrobię ziemniaczaną czynnikami chemicznymi (fosforylacja, wysycanie żelazem(III) i ogrzewanie z glicyną) oraz wysoką temperaturą, uzyskano modyfikaty skrobiowe o odmiennych właściwościach od skrobi naturalnej.
2. Skrobia wysycana cytrynianem żelaza(III) charakteryzowała się większą lepkością 1% kleików oraz silniejszym pęcznieniem gałeczek od skrobi naturalnej i znacznie wyższymi wartościami tych parametrów od skrobi wysycanej chlorkiem żelaza(III).
3. Poddanie fosforanu monoskrobiowego dodatkowemu prażeniu powodowało wzrost lepkości 1% kleiku, rozpuszczalności w wodzie na zimno oraz wodochłonności.
4. Wszystkie modyfikaty skrobi, poza fosforanem monoskrobiowym, w wyniku poddania prażeniu odznaczały się podwyższoną rozpuszczalnością w wodzie, zmniejszoną lepkością 1% kleików oraz obniżonym ciepłem przemiany fazowej.
5. Skrobia wysycana chlorkiem żelaza(III) oraz fosforan monoskrobiowy poddane dodatkowemu prażeniu charakteryzowały się najniższą wśród przebadanych preparatów podatnością na działanie enzymów amylolitycznych.

Przedstawiony artykuł jest fragmentem rozprawy doktorskiej. Praca była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszawa, 24–25 maja 2006.

Literatura

- [1] Balcerowiak W.: Różnicowa kalorymetria skaningowa. Mat. III Szkoły Analizy Termicznej SAT, 2002, s. 33-48.
- [2] BeMiller J., Lafayette W.: Starch Modification: Challenges and prospects. Starch, 1997, **49**, **4**, 127-131.
- [3] Englyst H.N., Kingman S.M., Cummings J.H.: Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. Eur. J. Clin. Nutr., 1992, **46** Supl. **2**, S33-S50.
- [4] Fortuna T.: Badania nad fosforanami skrobiowymi o niskim stopniu podstawienia fosforem. Rozprawa habilitacyjna Nr188. Zesz. Nauk. AR w Krakowie, 1994.
- [5] Fortuna T., Juszczyk L., Pałasiński M.: Fosforylacja skrobi ziemniaczanej posegregowanej pod względem wielkości ziaren. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2000, **4** (**25**) Supl., 91-98.
- [6] Gibiński M.: Wykorzystanie jonowymiennych właściwości skrobi ziemniaczanej do jej modyfikacji. Mat. IV Letniej Szkoły Skrobiowej, Zawoja, 1-5 czerwca 1992, s. 137-148.
- [7] Golachowski A., Leszczyński W.: Oznaczanie siły diastatycznej słodu i ziarna. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1980, **24**, **2**, 1-3.

- [8] Jane J., Chen J.F.: Effects of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. *Cereal Chem.* 1992, **69**, 60-65.
- [9] Kramhöller B., Pischetsrieder M., Severin T.: Maillard reaction of dextrin and starch. *Lebensm. Unters. Forsch.*, 1993, **197**, 227-229.
- [10] Kroh L.W., Schumacher D.: Untersuchungen zum Abbau von Maillard – Reaktionsprodukten durch amylolytische Enzyme. *Lebensm. Unters. Forsch.*, 1996, **203**, 385-390.
- [11] Leszczyński W.: Properties of potato starch saturated with ferric salts. *Acta Alimentaria Polonica* 1985, **Vol. XI (XXXV)**, 1, 21-34.
- [12] Leszczyński W.: Zmiany właściwości fizycznych skrobi ziemniaczanej wywołane działaniem różnych temperatur. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Technologia Żywności IV*, 1988, **163**, 89-94.
- [13] Leszczyński W.: Zmiany właściwości skrobi wywołane działaniem czynników fizycznych. *Mat. IV Letniej Szkoły Skrobiowej, Zawoja*, 1-5 czerwca 1992, s. 1-24.
- [14] Leszczyński W.: Resistant starch – classification, structure, production. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **Vol. 13/54**, SI 1, 37-50.
- [15] Lisińska G., Leszczyński W.: *Potato Science and Technology*. Elsevier Applied Science, London 1989.
- [16] Lewandowicz G.: Modyfikacja skrobi z użyciem pola magnetycznego. Rozprawa habilitacyjna Nr 276, *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 2001.
- [17] Lewandowicz G., Mączyński M.: Chemiczna modyfikacja skrobi Cz. I. Modyfikacja skrobi ziemniaczanej. *Chemik* 1990, **1**, 9-13.
- [18] Lewandowicz G., Walkowski A., Gawęcki J.: Fosforany skrobiowe – charakterystyka, funkcje technologiczne i żywieniowe. *Przem. Spoż.*, 1999, **3**, 34-36.
- [19] Marsh B.B.: The estimation of inorganic phosphate in the presence of adenosine triphosphate. *Biochem. Biophys. Acta*, 1959, **32**, 357.
- [20] Okhuma K., Matsuda I., Katta Y., Hanno Y.: Pyrolysis of starch and its digestibility by enzymem – Charakterization of indigestible dextrin. *Depun Kagaku*, 1990, **37**, 107-114.
- [21] PN-59/A-04015: Artykuły żywnościowe. Oznaczenie zawartości żelaza.
- [22] Richter M., Augustat S., Schierbaum F.: *Ausgewalthe Methoden der Starkechemie*, VEB Fachbuchverlag Leipzig, 1968.
- [23] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 kwietnia 2004 roku w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu. *Dz. U.* 2004. Nr 94, poz. 933 z późn. zm.
- [24] Röper H.: Przemysłowe produkty za skrobi – kierunki rozwoju. *Mat. VII Międzyn. Konf. Skrobiowej*, Kraków 12-14 czerwca 1996, s. 217-231.
- [25] Samec M.: *Fachzeitschrift für Erforschung, Herstellung und Verwendung von Stärke und Stärkeerzeugnissen*. *Die Staerke* 1961, **4**, 105-114.
- [26] Scheramm G.: *Reologia, Podstawy i zastosowania*. Ośrodek Wyd. Nauk. Poznań 1998.
- [27] Singh J., Singh N.: Studies on the morphological, thermal and rheological properties of starch separated from some Indian potato cultivars. *Food Chem.*, 2001, **75**, 67-77.
- [28] Sitohy M.Z., Ramadan M.F.: Degradability of different phosphorylated starches and thermoplastic film prepared from corn starch phosphomonoesters. *Starch/Stärke*, 2001, **53**, 317-322.
- [29] Stanisław A.: *Przystępny kurs statystyki w oparciu o program STATISTICA PL na przykładach z medycyny*. t. I. Statfost Polska, Kraków 2001.

THE PROPERTIES OF POTATO STARCH PREPARATIONS UNDERGONE BY CHEMICAL MODYFICATIONS AND ROASTING

S u m m a r y

The aim of the study was determination of the properties of preparations of potato starch obtained as an effect of chemical modifications and next roasting. The preparations of native starch were saturated with iron, heated with glicine or esterified with phosphates. The methods of modification of the potato starch applied in the experiment led to achieving the preparations with different properties from native starch. Starch saturated with iron citrate characterized higher viscosity of 1% gel and higher cell swelling in comparison to native starch and much higher than starch saturated with iron chloride. The subjection of the monostarch phosphate to the additional roasting increased the viscosity of 1% gel, solubility in low temperature as well as water adsorption. All the preparations of the modified starch, except the monostarch phosphate turned out to have increased solubility and decreased viscosity of 1% gel and lower heat of phase transition when they were exposed to the roasting. The starch saturated with iron chloride and roasted, and the roasted monostarch phosphate characterized the lowest susceptibility to the amylolytic enzymes action.

Key words: potato starch, iron(III) saturation, glicine heating, monostarch phosphate, roasting ☒

KATARZYNA SAMBORSKA

WPLYW DODATKÓW STABILIZUJĄCYCH NA KINETYKĘ INAKTYWACJI CIEPLNEJ α -AMYLAZY Z *ASPERGILLUS ORYZAE*

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu substancji dodatkowych na kinetykę inaktywacji cieplnej α -amylazy z *Aspergillus oryzae*. Badano, czy efekt stabilizujący alkoholi wielowodorotlenowych (mannitolu, laktitolu, sorbitolu i glicerolu) i dwucukrów (trehalozy i sacharozy) związany jest z liczbą grup hydroksylowych występujących w ich cząsteczkach lub z ogólną liczbą tych grup w roztworze.

Zastosowane dodatki we wszystkich stężeniach spowodowały wydłużenie czasu dziesięciokrotnej redukcji aktywności enzymu w temperaturze 68°C, co świadczy o ich działaniu stabilizującym na enzym. Zauważalne były różnice efektywności stabilizacji w zależności od rodzaju substancji oraz jej stężenia. Zastosowanie cukrów okazało się bardziej korzystne niż alkoholi wielowodorotlenowych, a najbardziej skutecznym dodatkiem stabilizującym była sacharoza. Na podstawie wzrastających właściwości ochronnych analizowanych związków uszeregowano je następująco: mannitol < laktitol < sorbitol < glicerol < trehaloza < sacharoza. Otrzymane wyniki nie potwierdziły hipotezy o wpływie liczby grup hydroksylowych w cząsteczce substancji dodatkowej lub całkowitej liczby grup OH w jednostce roztworu na stabilność cieplną α -amylazy. Wykazano, że większy wpływ miało stężenie i rodzaj zastosowanego związku - w systemach o tej samej zawartości grup OH czas dziesięciokrotnej redukcji różnił się w zależności od zastosowanej substancji.

Słowa kluczowe: α -amylaza, inaktywacja cieplna, dodatki stabilizujące, mannitol, laktitol, sorbitol, glicerol, trehaloza, sacharoza

Wprowadzenie

Substancje dodatkowe, takie jak cukry i alkohole wielowodorotlenowe, stosuje się w celu zwiększenia stabilności cieplnej enzymów występujących w formie ciekłej. Według Klibanova [6] dodatek tych substancji do wodnych roztworów enzymów wzmacnia

hydrofobowe interakcje pomiędzy niepolarnymi grupami aminokwasowymi, które razem z wiązaniami wodorowymi, interakcjami jonowymi i siłami van der Waalsa odgrywają istotną rolę w utrzymaniu natywnej, katalitycznie aktywnej struktury enzymów.

Combes i wsp. [3] oraz Graber i Combes [4] przedstawiają teorię na temat mechanizmu stabilizacji enzymów (α -amylazy) przez alkohole wielowodorotlenowe, według której substancje te wchodzi w bezpośrednie interakcje z cząsteczką białka, a w niewielkim stopniu wpływają na stopień organizacji wody. Graber i Combes [4] stwierdzili, że alkohole wielowodorotlenowe są inhibitorami współzawodniczącymi α -amylazy i ich interakcje z centrum aktywnym enzymu odgrywają decydującą rolę w stabilizacji tego enzymu. Ponadto, efekt stabilizacyjny jest związany z liczbą grup wodorotlenowych w cząsteczce substancji stabilizującej, jako że podobieństwo α -amylazy do alkoholi wielowodorotlenowych wzrasta wraz ze wzrostem liczby tych grup w cząsteczce.

W dostępnej literaturze sugeruje się, że efekt stabilizujący alkoholi wielowodorotlenowych i cukrów związany jest z liczbą grup OH w cząsteczce danej substancji [2, 4] lub z ogólną liczbą grup OH w danym roztworze [5, 7]. Guiavarc'h i wsp. [5] stwierdzili, że ogólna liczba grup OH w roztworach była związana z ich efektem ochronnym wywieranym na pektynoesterazę, bez względu na rodzaj substancji zapewniającej źródło grup OH. Autorzy stwierdzili, że stabilność cieplna tego enzymu może być przewidywana na podstawie znajomości liczby grup OH w danym systemie [8, 9].

Celem pracy było określenie wpływu substancji dodatkowych: mannitolu, laktitolu, sorbitolu, glicerolu, trehalozy i sacharozy na kinetykę inaktywacji cieplnej α -amylazy z *Aspergillus oryzae* oraz zbadanie czy efekt stabilizujący związany jest z liczbą grup hydroksylowych występujących w cząsteczkach substancji stabilizujących, czy też z ogólną liczbą tych grup w roztworze.

Materiał i metody badań

Podstawowym materiałem do badań był płynny preparat α -amylazy z *Aspergillus oryzae* Fungamyl 800L (Novozymes A/S). Aktywność enzymu gwarantowana przez producenta wynosiła 800 FAU/g. 1 FAU (Fungal α -Amylase Unit) jest to ilość enzymu, która rozkłada 5,26 g suchej substancji skrobi w czasie jednej godziny w warunkach standardowych (pH 4,7; temperatura 37°C).

Kinetykę inaktywacji cieplnej α -amylazy badano w obecności następujących substancji dodatkowych: mannitolu, laktitolu, sorbitolu, glicerolu, trehalozy i sacharozy. Substancje stabilizujące dodawane były do 20 mM roztworu buforowego Bis-Tris o pH równym 7,0. Ilości dodawanych substancji były dobrane tak, aby zapewnić tę samą liczbę grup OH, ale pochodzących z różnych źródeł. Stosowane stężenia substancji stabilizujących i odpowiadające im liczby grup OH w roztworach przedstawiono w tab. 1.

T a b e l a 1

Stężenia substancji dodatkowych i odpowiadające im liczby grup OH w roztworach.
Concentrations of additional substances and corresponding number of OH groups.

Liczba grup [OH/cm ³] Number of OH groups	Mannitol Mannitol [mg/cm ³]	Laktitol Lactitol [mg/cm ³]	Sorbitol Sorbitol [mg/cm ³]	Glicerol Glycerol [% (v/v)]	Trehaloza Trehalose [mg/cm ³]	Sacharoza Sucrose [mg/cm ³]
0,198 x 10 ²²	100	-	100	8,1	140	140
0,281 x 10 ²²	-	-	-	-	200	200
0,314 x 10 ²²	-	200	-	13,0	-	-
0,396 x 10 ²²	-	-	200	-	-	-
0,595 x 10 ²²	-	-	300	24,8	420	420
0,725 x 10 ²²	-	-	-	30,0	-	-
0,992 x 10 ²²	-	-	500	41,0	705	-

Inaktywację cieplną α -amylazy (a także w roztworze buforowym bez żadnych dodatków) prowadzono w łaźni wodnej o kontrolowanej temp. 68°C. Temperaturę inaktywacji dobrano uwzględniając wyniki przedstawione przez Samborską i wsp. [10] Kapilary szklane o średnicy 1,15 mm wypełnione badanym roztworem zanurzano w łaźni wodnej na określony czas, po którym przenoszono je do łaźni wodno-lodowej w celu przerwania inaktywacji cieplnej.

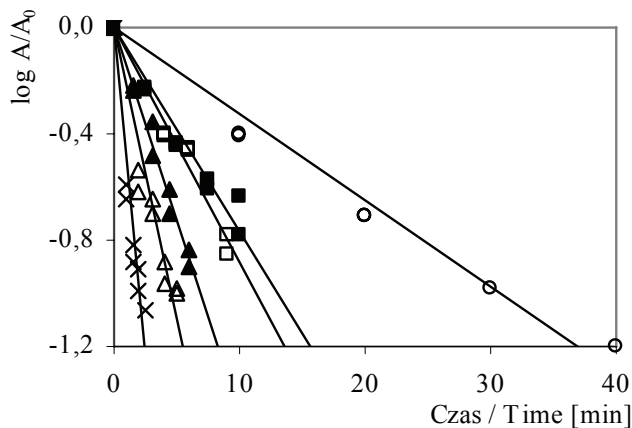
Do opisu inaktywacji enzymów zastosowano model czasu śmierci cieplnej (Thermal Death Time) [1], z którego wyprowadza się parametr kinetyczny D , nazywany czasem dziesięciokrotnej redukcji, definiowany jako czas potrzebny, w danej temperaturze, do zmniejszenia aktywności enzymu o 90% (równanie 1).

$$\log\left(\frac{A}{A_0}\right) = -\frac{1}{D} \cdot t \quad (1)$$

Wyniki i dyskusja

Kinetyka inaktywacji α -amylazy w 20 mM roztworze buforowym Bis-Tris oraz w tym roztworze z dodatkami alkoholi wielowodorotlenowych i cukrów mogła być ściśle opisana modelem czasu śmierci cieplnej. Świadczy o tym linearność zależności $\log A/A_0$ od czasu. Na rys. 1. przedstawiono przykładowy wykres kinetyki inaktywacji α -amylazy w roztworach o różnym stężeniu glicerolu. Czas dziesięciokrotnej redukcji

aktywności α -amylazy D w temp. 68°C we wszystkich roztworach o różnej zawartości dodatków stabilizujących przedstawiono w tab. 2.



Rys. 1. Kinetyka inaktywacji α -amylazy w temp. 68°C w roztworze buforowym 20 mM Bis-Tris (\times) oraz z dodatkiem glicerolu [% v/v]: 8,1 (Δ), 13,0 (\blacktriangle), 24,8 (\square), 30,0 (\blacksquare), 41,0 (\circ)

Fig. 1. Isothermal inactivation of α -amylase at 68°C in 20 mM Bis-Tris buffer (\times) and with addition of glycerol [% v/v]: 8,1 (Δ), 13,0 (\blacktriangle), 24,8 (\square), 30,0 (\blacksquare), 41,0 (\circ)

Tabela 2

Czas dziesięciokrotnej redukcji (D) inaktywacji cieplnej α -amylazy w temp. 68°C w 20 mM roztworze buforowym Bis-Tris oraz z dodatkami substancji stabilizujących.

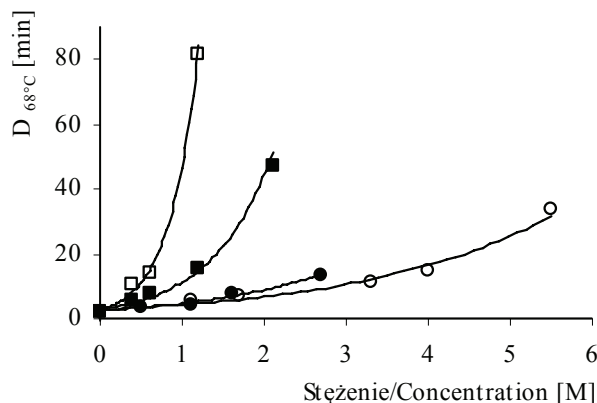
Decimal reduction time (D) for α -amylase isothermal inactivation at 68°C in 20 mM Bis-Tris buffer and with addition of stabilizing compounds.

Liczba grup OH/cm ³ * Number of OH groups*	20 mM Bis-Tris, pH 7,0	20 mM Bis-Tris, pH 7,0 z dodatkiem / with addition of:					
		mannitolu mannitol	laktitolu lactitol	sorbitolu sorbitol	glicerolu glycerol	trehalozy trehalose	sacharozy sucrose
		$D_{68^{\circ}\text{C}}$ [min]					
0	$2,4 \pm 0,2$	-	-	-	-	-	-
$0,198 \times 10^{22}$	-	$3,1 \pm 0,2$	-	$3,8 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,5$	$5,4 \pm 0,7$	$10,2 \pm 0,4$
$0,281 \times 10^{22}$	-	-	-	-	-	$7,5 \pm 0,5$	$14,2 \pm 0,4$
$0,314 \times 10^{22}$	-	-	$4,2 \pm 0,3$	-	$6,9 \pm 0,4$	-	-
$0,396 \times 10^{22}$	-	-	-	$4,5 \pm 0,2$	-	-	-
$0,595 \times 10^{22}$	-	-	-	$7,9 \pm 0,4$	$11,4 \pm 1,0$	$15,4 \pm 0,9$	$81,3 \pm 1,5$
$0,725 \times 10^{22}$	-	-	-	-	$14,5 \pm 1,2$	-	-
$0,992 \times 10^{22}$	-	-	-	$13,2 \pm 0,7$	$33,7 \pm 1,8$	$47,4 \pm 4,1$	-

* Stężenia roztworów podano w tab. 1. / *Concentrations as presented in Tab. 1.

Zastosowane dodatki we wszystkich stężeniach spowodowały wydłużenie czasu dziesięciokrotnej redukcji, co świadczy o ich działaniu stabilizującym na enzym. Zauważalne były różnice efektywności stabilizacji w zależności od rodzaju związku oraz jego stężenia. W przypadku mannitolu i laktitolu wzrost wartości D w stosunku do roztworu buforowego były niewielkie. Zastosowanie sorbitolu, glicerolu i trehalozy, zwłaszcza w wyższych stężeniach, spowodowało większy wzrost stabilności enzymu. Najbardziej skutecznym dodatkiem stabilizującym okazała się sacharoza. Zastosowanie 1,2 M roztworu (420 mg/cm^3) pozwoliło na uzyskanie ponad trzydziestokrotnego wzrostu czasu dziesięciokrotnej redukcji w porównaniu z roztworem buforowym bez żadnych dodatków. Na podstawie wzrastających właściwości ochronnych zastosowanych związków można je uszeregować następująco: mannitol < laktitol < sorbitol < glicerol < trehaloza < sacharoza. Zastosowane cukrów było bardziej korzystne niż alkoholi wielowodorotlenowych.

Pozytywny wpływ zastosowanych dodatków na odporność cieplną α -amylazy zwiększał się wraz ze wzrostem ich stężenia. Zwiększenie to, w badanym zakresie stężeń, miało charakter wykładniczy o współczynniku determinacji R^2 od 0,97 do 0,99. Wpływ stężenia dodatków stabilizujących na czas dziesięciokrotnej redukcji D w temp. 68°C przedstawiono na rys. 2. Podobną zależność między stężeniem sorbitolu a „efektem ochronnym” wywieranym na α -amylazę z *Aspergillus oryzae* podali wcześniej Graber i Combes [4].



Rys. 2. Wpływ stężenia (M) sorbitolu (●), glicerolu (○), trehalozy (■) i sacharozy (□) na czas dziesięciokrotnej redukcji D [min] w temp. 68°C .

Fig. 2. The influence of concentration of sorbitol (●), glycerol (○), trehalose (■) and sucrose (□) on the decimal reduction time D [min] at 68°C .

Wielu autorów rozważa wpływ liczby grup OH na stabilność cieplną enzymów. Sugeruje się, że efekt stabilizujący alkoholi wielowodorotlenowych i cukrów związany jest z liczbą grup OH w cząsteczce danej substancji [2, 4] lub z ogólną liczbą grup OH

w danym roztworze [5, 7]. Na podstawie pierwszej z cytowanych hipotez (liczba grup OH w cząsteczce substancji stabilizującej) należałoby spodziewać się następującego uszeregowania substancji zastosowanych w bieżącej pracy pod względem ich wzrastającego wpływu ochronnego: glicerol (3*OH) < mannitol, sorbitol, (6*OH) < trehaloza, sacharoza (8*OH) < laktitol (9*OH). Jednakże otrzymane wyniki nie potwierdzają powyższej hipotezy. Laktitol, który ma największą liczbę grup OH w cząsteczce spośród zastosowanych substancji, wykazał mniejszy wpływ na czas dziesięciokrotnej redukcji D niż inne związki. Również efekt ochronny substancji o tej samej liczbie grup OH w cząsteczce (sacharoza, trehaloza) był zróżnicowany.

W przypadku drugiej z cytowanych hipotez – o wpływie ogólnej liczby grup OH w danym roztworze – w tab. 2. przedstawiono czas dziesięciokrotnej redukcji D uzyskany po zastosowaniu różnych stężeń dodatków w odniesieniu do ogólnej liczby grup OH w danym roztworze. Można zauważyć, że w systemach o tej samej zawartości grup OH wartość D różniła się w zależności od źródła tych grup. Ogólna liczba grup OH w danym roztworze nie jest więc czynnikiem decydującym o stabilności cieplnej α -amylazy. Bardziej istotny jest rodzaj zastosowanej substancji. Istnienie zależności między ogólną liczbą grup OH w roztworze a otrzymaną wartością D podczas badania wpływu substancji dodatkowych (takich samych jak w bieżącej pracy) na kinetykę inaktywacji cieplnej pektynoesterazy (PME) wyekstrahowanej z pomidorów, stwierdzili Guiavarc'h i wsp. [5]. Ogólna liczba grup OH w roztworach była związana z ich efektem ochronnym, bez względu na rodzaj substancji zapewniającej źródło grup OH. Autorzy stwierdzili, że stabilność cieplna PME może być przewidywana na podstawie znajomości liczby grup OH w danym systemie.

Wnioski

1. Kinetyka inaktywacji cieplnej α -amylazy w roztworach z dodatkami substancji stabilizujących może być opisana modelem czasu śmierci cieplnej.
2. Wszystkie zastosowane alkohole wielowodorotlenowe oraz dwucukry wpływały na zwiększenie stabilności cieplnej α -amylazy.
3. Efekt stabilizujący nie zależy od liczby grup hydroksylowych w cząsteczce zastosowanego związku ani od ogólnej liczby tych grup w roztworze, lecz od rodzaju i stężenia substancji dodatkowej, wykazując znacznie większy wpływ na stabilność α -amylazy w przypadku dwucukrów niż w przypadku alkoholi wielowodorotlenowych.
4. Najlepszymi właściwościami ochronnymi (z zastosowanych związków) charakteryzuje się sacharoza.

Praca była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszawa, 24–25 maja 2006.

Literatura

- [1] Bigelow W.D.: The logarithmic nature of thermal death time curves. *J. Infect. Dis.*, 1921, **29** (5), 528-536.
- [2] Busto M.D., Apenten R.K., Robinson D.S., Wu Z.: Kinetics of thermal inactivation of pea seed lipoxigenases and the effect of additives on their thermostability. *Food Chem.*, 1999, **65**, 323-329.
- [3] Combes D., Auzanneau I., Zwick A.: Thermal stability of enzymes: influence of solvation medium (a Raman spectroscopy study). In: *Stability and stabilisation of enzymes* (eds. WJJ Van den Tweel, A Harder, RM Buitelaar). Elsevier, Maastricht 1992, pp. 29-36.
- [4] Graber M., Combes D.: Effect of polyols on fungal alpha-amylase thermostability. *Enzyme Microb. Technol.*, 1989, **11**, 673-677.
- [5] Guiavarc'h Y.P., Sila D., Duvetter T., Van Loey A., Hendrickx M.: Influence of sugars and polyols on the thermal stability of purified tomato and cucumber pectinmethylesterases: a basis for TTI development. *Enzyme Microb. Technol.*, 2003, **33**, 544-555.
- [6] Klibanov A.M.: Thermostabilisation of enzymes. *Adv. App. Microbiol.*, 1983, **29**, 1-29.
- [7] Noel M., Combes D.: Rhizomucor miehei lipase: differential scanning calorimetry and pressure/temperature stability studies in presence of soluble additives. *Enzyme Microb. Technol.*, 2003, **33**, 299-308.
- [8] Samborska K. Wpływ suszenia rozpyłowego na degradację preparatu α -amylazy z *Aspergillus oryzae*. Praca doktorska, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa 2004.
- [9] Samborska K., Guiavarc'h Y, van Loey A, Hendrickx M. The thermal stability of *Aspergillus oryzae* alpha-amylase in presence of sugars and polyols. *J. Food Process Eng.*, 2006, **29**, 287-303.
- [10] Samborska K, Guiavarc'h Y, van Loey A, Hendrickx M. The influence of moisture content on the thermostability of *Aspergillus oryzae* alpha-amylase. *Enzyme and Microbial Technology*, 2005, **37**, 167-174.

THE INFLUENCE OF STABILISING ADDITIVES ON THE THERMAL INACTIVATION KINETICS OF *ASPERGILLUS ORYZAE* ALPHA-AMYLASE

S u m m a r y

The aim of this study was to investigate the thermal stability of *Aspergillus oryzae* α -amylase in presence of different sugars (sucrose and trehalose) and polyols (mannitol, sorbitol, lactitol and glycerol). Additional hypothesis was tested – if it is possible to estimate the heat stability of the enzyme based on the amount of hydroxyl (OH) groups provided in a buffer solution (by different compounds).

Additives used in all concentrations caused the extension of the decimal reduction time of enzyme activity at 68°C and shows its stabilizing treatment on enzyme. The differences of effectiveness of stabilization were observed on dependence of the type of substance and its concentration. The usage of saccharides was more profitable than usage of multi hydroxyl alcohol, but the most effective additive was sucrose.

Stabilizing compounds can be classified, in terms of their protective effect on α -amylase heat stability, as follows: mannitol < lactitol < sorbitol < glycerol < trehalose < sucrose, sugars being more favorable than polyols. Among all stabilising compounds investigated, sucrose exhibited the largest protective effect. The number of hydroxyl groups per molecule and the total amount of hydroxyl groups provided by additives to the system were not correlated with the heat stability of *Aspergillus oryzae* α -amylase. The source of OH groups was found to be more important, sugars (especially sucrose) being more effective than polyols for similar number of OH groups.

Key words: thermal inactivation, protective additives, mannitol, lactitol, sorbitol, glycerol, trehalose, sucrose ☒

MICHAŁ WOLNIAK, STANISŁAW KALISZ

WPLYW PEKTYN NISKOMETYLOWANYCH NA ZAWARTOŚĆ ANTOCYJANÓW I POLIFENOLI OGÓŁEM ORAZ ICH AKTYWNOŚĆ PRZECIWRODNIKOWĄ OZNACZONĄ EPR W SOKACH TRUSKAWKOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian zawartości antocyjanów i polifenoli ogółem oraz aktywności przeciwutleniającej soków truskawkowych bez dodatków oraz wzbogacanych preparatem pektyn niskometylowanych, przechowywanych w temp. 4°C. Zawartość antocyjanów w sokach bezpośrednio po wytworzeniu wynosiła 14,5 mg/100 ml w soku bez pektyny i 12,1 mg/100 ml w soku z pektyną. Dominującym monomerem był pelargonidyno-3-glukozyd, który stanowił 89% składu antocyjanowego. Po 3 miesiącach przechowywania soki bez pektyny zawierały o 57% mniej antocyjanów niż próbki wyjściowe, natomiast w sokach z pektyną wartość ta zmalała o 34%. W trakcie przechowywania stwierdzono także zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem, co skutkowało zmniejszeniem się pojemności przeciwutleniającej. W przypadku soków bez dodatku pektyny zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem było o wiele większe niż w próbkach z dodatkiem pektyn i wynosiło odpowiednio 17 oraz 9%. Pomiar pojemności przeciwutleniającej metodą EPR udowodnił, że dodatek pektyn stabilizuje właściwości przeciwrodnikowe. W próbkach bez pektyn pojemność zmalała o 28% pierwotnej wartości natomiast ze stabilizatorem obniżyła się tylko o 7%.

Słowa kluczowe: truskawki, soki, antocyjany, aktywność przeciwutleniająca, EPR, wolne rodniki

Wprowadzenie

Wzrost świadomości żywieniowej konsumentów przejawia się w coraz większym przywiązywaniu wagi do składu chemicznego nabywanych produktów i ich właściwości prozdrowotnych. Oprócz właściwego dla danego przetworu wyglądu, zachowanie pierwotnych cech surowca staje się ważnym wyróżnikiem danego artykułu spożywczego [1]. Niestety proces technologiczny oraz przechowywanie przyczyniają się

Mgr M. Wolniak, Zakład Chemii Fizycznej, Wydz. Farmaceutyczny, Akademia Medyczna, ul. Banacha 10, 02-097 Warszawa, dr inż. S. Kalisz, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa

do niekorzystnych przemian poszczególnych składników, obniżając ich wartość żywieniową.

Badania epidemiologiczne wykazały, że dieta ma znaczący wpływ na częstotliwość występowania chorób cywilizacyjnych. Większość tych chorób ma etiologię wolnorodnikową, dlatego ocena zdolności przeciwutleniających jest ważnym etapem w ocenie jakości produktu [2]. Zawartość związków odpowiadających za właściwości przeciwutleniające może być znacznie zróżnicowana zależnie od gatunku, jak też warunków agrotechnicznych. Złożoność naturalnych układów biologicznych, jakimi są np. soki owocowe, powoduje wzajemne interakcje między składnikami, które zależnie od rodzaju i stężenia mogą działać korzystnie bądź przyczyniać się do degradacji składników [3, 4]. Precyzyjne określenie właściwości przeciwutleniających i dokładne określenie wpływu poszczególnych frakcji na aktywność antyrodnikową staje się więc złożonym problemem. Mętne lub barwne próbki (na przykład soki truskawkowe) wymagałyby w pomiarach spektrofotometrycznych korekty tła, co nie jest łatwe i proste do zastosowania w praktyce. Dlatego mierząc pojemność przeciwutleniającą za pomocą metod spektrofotometrycznych, przygotowuje się próbkę tak, aby była ona klarowna i najlepiej bezbarwna. Niestety wiąże się to z filtrowaniem i klarowaniem badanego materiału, co powoduje utlenianie i utratę wielu cennych (zwłaszcza spolimeryzowanych) składników. W rezultacie otrzymywany wynik jest znacznie zaniżony, bowiem aktywność wielu cennych związków nie jest uwzględniana w całkowitej pojemności przeciwutleniającej. Z kolei metodę EPR można stosować bezpośrednio do próbek mętnych i barwnych, co czyni ją bardzo przydatną w badaniach soków z owoców.

Celem pracy było określenie zmian zawartości antocyjanów i polifenoli ogółem oraz aktywności przeciwutleniającej soków truskawkowych bez dodatków oraz wzbogacanych preparatem pektyn niskometylowanych, przechowywanych w temp. 4°C.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiły, przygotowane w skali laboratoryjnej, soki truskawkowe z owoców odmiany Marmolada z okolic Rawy Mazowieckiej. Owoce depektynizowano przez 1,5 godz. w temp. 50°C z dodatkiem enzymy Rohapect 10L firmy AB Enzymes Poland w dawce 100 mg/kg owoców. Następnie całość doprowadzano do wrzenia celem inaktywacji enzymów, szybko schładzano do temp 20°C i tłoczono w laboratoryjnej prasie warstwowej. Otrzymany sok filtrowano z dodatkiem ziemi okrzemkowej Becogur 100 w dawce 5 g/kg. Z soku przygotowywano próbki w wariantach: bez dodatków i z dodatkiem 0,1% preparatu pektyny niskometylowanej NECJ A3, po czym rozlewano do 200 ml słoików i pasteryzowano 20 min w temp. 90°C. Po obróbce termicznej produkt chłodzono i przechowywano przez 3 miesiące w warunkach chłodniczych bez dostępu światła. Soki pobierano do badań co 30 dni, a analizy wykonywano każdorazowo z 3 prób i w 3 powtórzeniach z tej samej partii.

Badania obejmowały pomiar zawartości polifenoli, w tym antocyjanów [5] wraz z wyznaczeniem półokresu ich rozpadu, oraz określenie aktywności przeciwutleniającej z użyciem techniki EPR. Zawartość antocyjanów oznaczano metodą HPLC w zestawie firmy Shimadzu, składającym się 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 w kolumnie Luna 5 μm C18(2) 250 x 4,6 mm (Phenomenex) przy przepływie 1 ml/min w temp. 25°C. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina woda : acetonitryl : kwas mrówkowy (810:90:100; v/v/v). Rejestrację antocyjanów prowadzono przy $\lambda = 520$ nm. Związki zidentyfikowano na podstawie widm oraz czasów retencji porównywanych z wzorcami. Zawartość antocyjanów podano w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd. Przed nastrzykiem próbki oczyszczano w minikolumnach Sep-Pak C18 firmy Waters. Część analityczna obejmowała także oznaczenie witaminy C metodą HPLC w identycznym zestawie w tych samych warunkach detekcji przy $\lambda = 254$ nm, a jako eluent stosowano 0,1% H_3PO_4 . Z kolei zawartość polifenoli ogółem oznaczano metodą Folina-Ciocalteu'a. Wynik końcowy oznaczania polifenoli 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 w spektrometrze firmy Bruker ELEXSYS E 500 pracującym metodą fali ciągłej. Do badań użyto komory rezonansowej SHQE - Super High Q cavity. Rejestracji widm dokonywano przy następujących parametrach: Q (stosunek v_{rez} do Δv) = 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 DPPH• stanowił roztwór DPPH• w metanolu o stężeniu 1,824 mmol/dm³. Do 5 ml wzorca dodawano po 50 μl soku, intensywnie wytrząsano i szczelnie zamknięte próbki pozostawiano w zaciemnionym miejscu. Roztwory nie wymagały odtleniania, gdyż DPPH• nie ulega działaniu tlenu z powietrza, a antocyjany w środowisku, w którym były przeprowadzane badania, nie ulegają utlenianiu. Potwierdziły to przeprowadzone wcześniej próby. Po zakończeniu reakcji mierzono intensywność integralną sygnału DPPH•, która jest wprost proporcjonalna do stężenia rodnika w próbce. Ponieważ w przypadku wszystkich badanych próbek czas reakcji z rodnikiem DPPH• nie przekraczał 50 min, rejestrację widma rodnika w celu ustalenia zmian jego stężenia wykonano po 60 min. Intensywność integralną sygnału obliczano korzystając z programów do obróbki widm EPR firmy Bruker dostarczonych ze spektrometrem. Na podstawie uzyskanych wyników, stosując metodę najmniejszych kwadratów, przeliczano ilość zneutralizowanego DPPH• na równoważniki Troloxu [Mm/100 ml].

Wyniki i dyskusja

Przeprowadzone badania laboratoryjne pozwoliły na określenie w sokach poziomu zawartości polifenoli, w tym antocyjanów oraz witaminy C (tab. 1). Szczególnie interesujące było określenie ilości tych związków, jak również ich zmian w trakcie przechowywania.

Tabela 1

Zawartość polifenoli ogółem i antocyjanów w sokach truskawkowych w trakcie ich przechowywania.

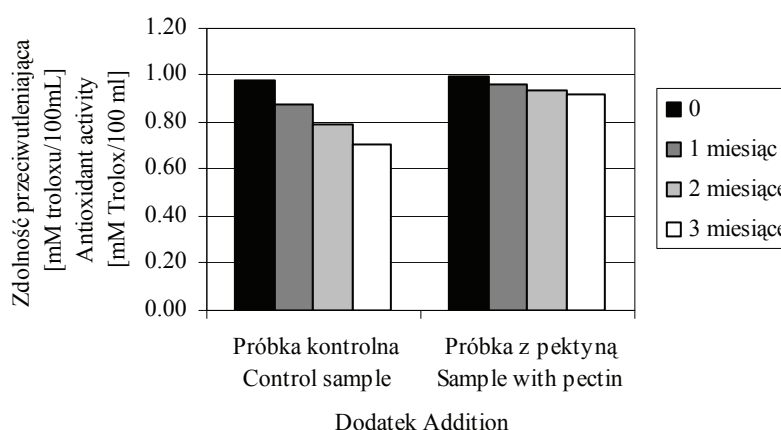
The total polyphenols and anthocyanins content in strawberry juices during storage.

Czas składowania [miesiące] Time of storage [months]	Sok z truskawek bez dodatków Strawberry juice without additives			Sok z truskawek z dodatkiem pektyny Strawberry juice with pectin addition		
	Polifenole [mg/100 ml]	Antocyjany [mg/100 ml]	Witamina C [mg/100 ml]	Polifenole [mg/100 ml]	Antocyjany [mg/100 ml]	Witamina C [mg/100 ml]
	Polyphenols [mg/100 ml]	Anthocyanins [mg/100 ml]	Ascorbic acid [mg/100 ml]	Polyphenols [mg/100 ml]	Anthocyanins [mg/100 ml]	Ascorbic acid [mg/100 ml]
0	143,0	14,5	16,1	140,8	12,1	16,5
1	141,5	10,0	13,2	146,7	9,5	13,5
2	131,0	7,6	11,0	137,6	8,2	11,5
3	120,8	6,9	8,0	129,5	7,3	8,6

Po trzymiesięcznym składowaniu soków w warunkach chłodniczych w próbkach kontrolnych pozostało 48% pierwotnej zawartości antocyjanów. W próbkach wzbogacanych preparatem pektyny niskometylowanej po przechowywaniu pozostało 60% antocyjanów, a półokres ich rozpadu był 1,4 razy mniejszy w porównaniu z próbkami kontrolnymi. W przypadku polifenoli, w próbkach z pektyną po miesiącu składowania zaobserwowano nieznaczny wzrost poziomu badanych związków, co było już wynikiem wcześniejszych badań własnych, jak i innych eksperymentatorów [1, 6]. Przypuszczalnie wiąże się to z małą selektywnością stosowanej metody i częściowego uwzględniania powstających związków, tym bardziej, że po 3 miesiącach składowania w próbkach z pektyną oznaczono 91% wyjściowej zawartości polifenoli, a w kontrolnych 83%, co uwidacznia małe zmiany ilościowe. W związku z powyższym kontynuacja tego problemu badawczego wymaga wyjaśnienia zmian jakościowych poszczególnych składowych polifenoli. Pod względem zawartości witaminy C próbki różniły się w małym stopniu. W próbkach po 3-miesięcznym przechowywaniu stwierdzono średnio 51% pierwotnej zawartości witaminy C.

Oszacowano także wpływ poszczególnych dodatków na całkowitą pojemność przeciwutleniającą. Dodatek 0,1% preparatów pektyny niskometylowanej do soków spowodował ograniczenie obniżania zdolności neutralizacji wolnych rodników w sto-

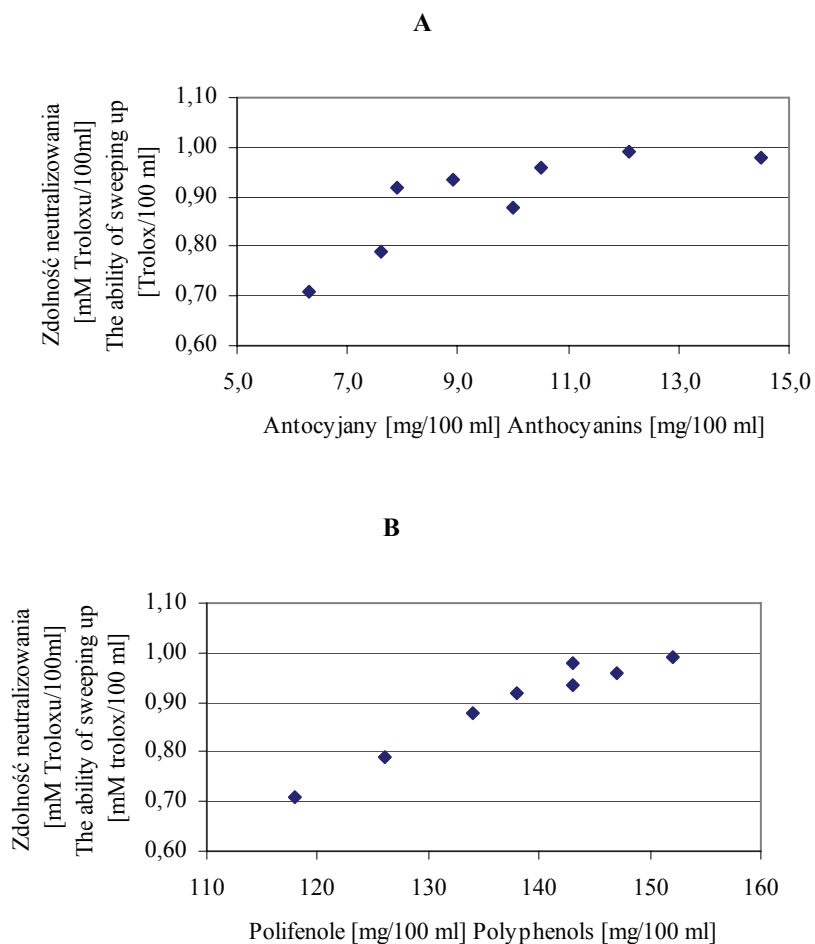
sunku do próbki kontrolnej (rys. 1). Spowodowało to stabilizację pojemności przeciwutleniającej, która w trakcie trzymiesięcznego przechowywania zmniejszyła się nieznacznie (93% pierwotnej wartości), podczas gdy w próbkach bez pektyny wartość ta osiągnęła 72% pierwotnej wartości. Potwierdza to hipotezę, że właściwości przeciwutleniające powinny być kontrolowane na każdym etapie obróbki i przetwarzania surowców roślinnych.



Rys. 1. Zmiany pojemności przeciwutleniającej soków truskawkowych podczas przechowywania.

Fig. 1. Changes of the antioxidant capacity of strawberry juices during different time of storage.

Przeanalizowano także korelację pomiędzy zawartością związków polifenolowych a pojemnością przeciwutleniającą. Na rys. 2. przedstawiono zależność całkowitej pojemności przeciwutleniającej od składu antocyjanowego (A) i zawartości polifenoli (B). O wiele silniejszą korelację stwierdzono w przypadku polifenoli ogółem ($R = 0,97$) niż samej frakcji antocyjanowej ($R = 0,79$). Sugeruje to znacznie mniejszy udział frakcji antocyjanowej w całkowitej pojemności przeciwutleniającej. Prawdopodobnie najbardziej aktywne (często jeszcze nieoznaczone związki) nie należą do frakcji antocyjanowej, tym niemniej udział antocyjanów w neutralizowaniu wolnych rodników jest znaczący. Na podstawie analizy regresji stwierdzono, że największy wpływ na pojemność przeciwutleniającą miała frakcja oznaczana jako polifenole ogółem. Analizując dane dotyczące składu chemicznego owoców [7, 8], można przypuszczać, że frakcja ta powinna zawierać hydroksykwas, procyjanidyny oraz wiele innych związków. Bardzo dobra korelacja frakcji polifenolowej z całkowitą pojemnością przeciwutleniającą pozwala przypuszczać, że zawiera ona wiele silnych przeciwutleniaczy i potwierdza to zasadność prowadzenia dalszych badań nad dokładniejszym poznaniem jej składu.



Rys. 2. Zależność pojemności przeciwutleniającej od zawartości antocyjanów (A) oraz polifenoli (B).

Fig. 2. The dependence of the antioxidant capacity from the content of anthocyanins (A) and polyphenols (B).

Większa aktywność przeciwrodnikowa frakcji zawierającej różnorodne związki najprawdopodobniej spowodowana jest synergistycznym oddziaływaniem składników. Porównanie danych literaturowych odnoszących się do poszczególnych czystych związków [9] pozwala przypuszczać, że suma pojemności przeciwutleniających poszczególnych polifenoli jest zwykle mniejsza od zdolności neutralizowania wolnych rodników przez mieszaniny [10]. Efekty te wymagają z pewnością dalszych badań, a wyniki mogą być bardzo cenną wskazówką dla producentów soków i badaczy jakości żywności. Znajomość zmian pojemności przeciwutleniającej w zależności od składu

produktu jest ważnym problemem przy właściwym konstruowaniu preparatów przeciwutleniających, tym bardziej, że nie jest to zależność prostoliniowa.

Wnioski

1. Stosowanie 0,1% dodatku pektyn niskometylowanych do soków pozwala na zmniejszenie strat antocyjanów i polifenoli w czasie ich przechowywania.
2. Pektyna wpływa stabilizująco na antocyjany, zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym. Jej dodatek powoduje także zahamowanie obniżania się pojemności przeciwutleniającej soków podczas przechowywania.
3. Korelacja zawartości polifenoli oraz antocyjanów z ilością zneutralizowanego DPPH pozwala przypuszczać, że znacznie większy udział w aktywności przeciwutleniającej wnosi frakcja polifenolowa. W jej skład wchodzi wiele nieznanymi dodatków związków, co stwarza konieczność dalszych badań składu chemicznego.

Praca była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszawa, 24 - 25 maja 2006.

Literatura

- [1] Ayala-Zavala J.F., Wang S.Y., Wang C.Y., Gonzalez-Aguilar G.A.: Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Lebens.-Wiss. u.-Technol.*, 2004, **37**, 687-695.
- [2] Ishige K., Schubert D., Saraga Y.: Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by free distinct mechanisms. *Free Radical Biol. Med.*, 2004, **36**, 838-849.
- [3] 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.
- [4] Kalt W.: Effect of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *J. Food Sci.*, 2005, **70**, 1, R11-R19.
- [5] Fuleki T., Francis F.J.: Quantitative methods for anthocyanins. *J. Food Sci.*, 1968, **33**, 72.
- [6] Kalisz S., Kurowska M.: Zmiany zawartości związków fenolowych i witaminy C w sokach i półkoncentratkach truskawkowych podczas ich przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (43) Supl.**, 62-71.
- [7] Vinson J. A., Su X., Zubik L., Bose P.: Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 4076-4082.
- [8] Oszmiański J., Kucharska A.: Taniny aronii. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Technologia Żywności VIII*, 1995, **273**, 55-64.
- [9] Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G.: Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med.*, 1996, **20**, 933.
- [10] Soleas G. J., Tomlinson G., Diamandis E.P., Goldberg D.M. Relative contributions of polyphenolic constituents to the antioxidant status of wines: development of a predictive model. *J. Agr. Food Chem.*, 1997, **45**, 3995.

**THE INFLUENCE OF PECTINS ON ANTHOCYANINS AND TOTAL POLIPHENOL
CONTENT AND ITS ANTIRADICAL SCAVENGING ACTIVITY DESIGNATED IN
STRAWBERRY JUICES**

S u m m a r y

The aim of this study was to assess the content of total polyphenols and anthocyanins together with antioxidant activity in strawberry juices. Also the addition of pectin was done in order to check its influence on radical scavenging activity during storage in 4°C. The amount of anthocyanins right after production reached 14.5 mg/100 ml and 12.1 mg/100 ml in control and pectin enriched samples respectively. The major anthocyanin monomer was pelargonidin-3-glucoside (89% of all anthocyanins). After three months of storage samples without pectin lost 57% of anthocyanins, whereas those with addition of pectin only 34%. During storage the decrease of total polyphenols was also found and as a result the antioxidant activity was smaller. The amount of total polyphenols that were lost reached 17% and 9% in control and pectin samples respectively. The measurement of antioxidant capacity using EPR method proved, that pectin prevents the loss of polyphenols, thus keeping radical scavenging activity of strawberry juices at high level. The activity in samples with pectin was only 7% lower, while in control samples it dropped down 28%.

Key words: strawberries, juices, anthocyanins, antioxidant activity, EPR, free radicals ☒

KATARZYNA SKUPIEŃ, BARBARA WÓJCIK-STOPCZYŃSKA

OCENA JAKOŚCI PRZECIERÓW Z TRUSKAWEK ODMIANY KENT

Streszczenie

Celem badań było określenie zmian wybranych składników chemicznych oraz wskaźników mikrobiologicznych w świeżych, zamrożonych i przechowywanych przez 6 i 12 miesięcy przecierach z truskawek odmiany Kent. Sporządzono 3 warianty homogenatów: bez cukru oraz z dodatkiem 5 i 10% cukru. Oznaczano w nich zawartość suchej masy, witaminy C i polifenoli ogółem oraz kwasowość ogólną. Ponadto w homogenatach świeżych oraz zamrożonych i przechowywanych przez 2 dni, 6 i 12 miesięcy określano ogólną liczbę bakterii, drożdży i pleśni oraz miano coli i enterokoków.

W okresie 12-miesięcznego przechowywania zamrożonych przecierów najmniejszym zmianom ilościowym uległa zawartość suchej masy i kwasowość ogólna, a największe ubytki dotyczyły zawartości witaminy C. Zawartość witaminy C najbardziej zmniejszyła się w czasie pierwszych 6 miesięcy przechowywania przecierów. Dodatek cukru nie wpływał na zmiany zawartości witaminy C w przecierach przechowywanych zamrażalniczo. Nie stwierdzono również istotnego wpływu dodatku cukru ani czasu przechowywania na zmiany zawartości związków polifenolowych. W procesie zamrażania i zamrażalniczego przechowywania cukier działał ochronnie na mikroorganizmy, dlatego w homogenatach z dodatkiem 5 i 10% cukru występowała większa liczba bakterii mezofilnych, drożdży i pleśni niż w przecierze niesłodzonym. Wszystkie świeżo zamrożone homogenaty odznaczały się stosunkowo niską liczbą bakterii (na poziomie 10^3 jtk·g⁻¹), natomiast znacznym zanieczyszczeniem przez grzyby pleśniowe i drożdże ($>10^3$ jtk·g⁻¹). Po 6 miesiącach przechowywania w homogenatach pozostała praktycznie szczątkowa mikroflora grzybowa, a liczba bakterii obniżyła się do poziomu 10^1 jtk·g⁻¹ w wariantcie niesłodzonym oraz 10^2 jtk·g⁻¹ w produktach z dodatkiem cukru.

Słowa kluczowe: truskawka, przecier, składniki odżywcze, jakość mikrobiologiczna

Wstęp

Truskawki są cennym źródłem kwasu askorbinowego, związków polifenolowych i spośród owoców mają jedną z najwyższych aktywności przeciwutleniających. Właściwości antyoksydacyjne i przeciwnowotworowe truskawek zostały szeroko omówio-

Dr inż. K. Skupień, dr inż. B. Wójcik-Stopczyńska, Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska, Wydz. Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Akademia Rolnicza, ul. J. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin

ne w pracy przeglądowej Hannum [10]. Puupponen-Pimiä i wsp. [23] wskazują również na antymikrobiologiczną aktywność owoców jagodowych, w tym truskawek, zwłaszcza w stosunku do bakterii z rodzajów *Salmonella* i *Staphylococcus*. Podobnie, jak inne owoce, truskawki mogą być spożywane na surowo, co jest bardzo korzystne dla konsumentów. W tej postaci mają one bowiem najwyższą wartość odżywczą, natomiast procesy przetwórcze zwykle ją obniżają [4]. Jednakże z drugiej strony, świeże truskawki mają bardzo krótki okres przydatności do spożycia ('shelf life') i ich przetwarzanie pozwala na przedłużenie podaży tych cennych owoców poza krótki sezon ich zbioru.

Mrożenie truskawek w całości jest podstawowym sposobem przedłużenia ich podaży przez cały rok. W latach 80. XX w. w sklepach dostępne były mrożone przeciery (homogenaty) truskawkowe i malinowe, pakowane w pojemniki plastikowe o pojemności 250 ml z plastikowymi pokrywkami. Jednak wraz z pogłębiającym się ogólnym kryzysem gospodarczym w tamtym okresie, znikły one z oferty handlowej. Mrożone purée truskawkowe jest atrakcyjnym pod względem sensorycznym i dietetycznym produktem spożywczym oraz może stanowić dodatek do lodów, deserów, naleśników, makaronów i innych dań, zwłaszcza słodkich. Ze względu na sposób wykorzystania (krótki czas rozmrażania porcji produktu) można homogenaty zaliczyć do żywności gotowej do spożycia ('ready to eat'), o niewątpliwych walorach prozdrowotnych (witamina C, związki polifenolowe).

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu dodatku cukru oraz zamrażania i zamrażalniczego przechowywania na zmiany wybranych składników chemicznych i wskaźników mikrobiologicznych w przecierach z truskawek odmiany Kent.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły truskawki odmiany Kent pochodzące z plantacji towarowej zlokalizowanej w pobliżu Szczecina, ze zbiorów 2005 roku. Zabiegi uprawowe i ochrony roślin na plantacji były prowadzone zgodnie z zaleceniami dla tego gatunku. Owoce zebrano w fazie dojrzałości konsumpcyjnej i po umyciu oraz odszypułkowaniu homogenizowano je w urządzeniu Zelmer, typ 875, wyposażonym w czyszczącą ochronną, zabezpieczającą przed nadmiernym napowietrzaniem rozdrabnianego produktu. Przygotowano trzy warianty przecierów: bez dodatku cukru (wariant kontrolny) oraz z 5 i 10% dodatkiem cukru białego (sacharoza spożywcza). Homogenaty pakowano do pojemników plastikowych z pokrywkami, przeznaczonych do zamrażania żywności (PP, Rubbermaid typ 1575, 0,5 l), i zamrażano w temp. $-25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Każdy wariant wykonano w dwóch powtórzeniach. W przecierach świeżych oraz przechowywanych przez 6 i 12 miesięcy w stanie zamrożonym, a do badań rozmrażanych w łaźni wodnej o temp. 20°C przez pół godziny [17], oznaczano następujące parametry fizykochemiczne: zawartość suchej masy metodą suszarkową [14], kwasowość ogólną poten-

cyjometrycznie (PN-90/A-75101/04) [22] z wykorzystaniem pehametru Orion 720 A, zawartość witaminy C jodometrycznie [25] oraz zawartość polifenoli ogółem spektrofotometrycznie przy długości fali 760 nm [26] z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu'a wobec kwasu galusowego jako wzorca.

Homogenaty świeże, zamrożone (w drugim dniu po zamrożeniu) oraz przechowywane w stanie zamrożenia przez 6 i 12 miesięcy poddawano również ocenie mikrobiologicznej. Próby do badań pobierano i przygotowywano zgodnie z zaleceniami PN-90/A-75052/04 [21]. Badania przeprowadzono na podłożach stosowanych w mikrobiologicznej ocenie mrożonych warzyw i owoców przez Białasiewicz i Królasik [2] oraz Kordowską-Wiater i wsp. [13]. Analiza mikrobiologiczna materiału badawczego obejmowała następujące grupy drobnoustrojów:

- ogólną liczbę bakterii tlenowych mezofilnych – na agarze wzbogaconym z dodatkiem glukozy;
- liczbę drożdży i grzybów pleśniowych – na agarze z ekstraktem drożdżowym, glukozą i chloramfenikolem;
- miano pałeczek z grupy coli – w płynnym podłożu z żółcią i zielenią brylantową;
- miano enterokoków – w płynnym podłożu z azydkiem sodowym i fioletem krystalicznym.

Powyższe wskaźniki oznaczano też w cukrze białym, który był dodawany do homogenatów. Wyniki badań mikrobiologicznych podano jako średnią z trzech powtórzeń, wyrażając liczbę drobnoustrojów w jednostkach tworzących kolonie w odniesieniu do 1 g produktu ($\text{jtk} \cdot \text{g}^{-1}$).

Oznaczenia fizykochemiczne wykonywano w dwóch powtórzeniach każdego wariantu, a mikrobiologiczne w trzech. Uzyskane wyniki poddano dwuczynnikowej analizie wariancji (I czynnik – dodatek cukru, II czynnik – okres przechowywania mrożonek) w układzie kompletnej randomizacji. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi oznaczano za pomocą półprzedziałów ufności Tukey'a na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zawartość witaminy C oznaczona w świeżym przecierze z truskawek odmiany Kent, bez dodatku cukru, ($25,9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) była mniejsza niż produktów z wcześniej badanych przez nas odmian (Senga Sengana $37,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ i Elsanta $62,6 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) [28, 29]. Również inni autorzy oznaczali w świeżych truskawkach większą zawartość tego składnika: Hakala i wsp. [7] $32,4\text{--}84,7 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, a Cordenunsi i wsp. [5] $44\text{--}62 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Dodatek cukru do świeżego przecieru spowodował zmniejszenie zawartości witaminy C w wariantach słodzonych, jednak nie stwierdzono, aby zmiany te były znaczące (interakcja nieistotna) (tab. 1). Natomiast porównanie statystyczne wartości średnich wskazuje na to, że wariant bezcukrowy, w przeciągu całego okresu przechowywania

wywania, zawierał istotnie więcej witaminy C niż produkty z dodatkiem cukru. W wartościach bezwzględnych różnice pomiędzy wariantami w danym okresie przechowywania były minimalne.

Tabela 1

Kwasowość ogólna i zawartość witaminy C w homogenatach z truskawek odmiany Kent z dodatkiem cukru (0, 5 i 10%) w stanie świeżym oraz po 6 i 12 miesiącach przechowywania mrożonek.

Total acidity and vitamin C content of fresh (0) and frozen (after 6 and 12 months of freeze-storage) 'Kent' cultivar strawberry homogenate with sugar addition (0, 5 and 10%).

Dodatek sacharozy [%] Saccharose addition [%]	Witamina C Vitamin C [mg · 100 g ⁻¹]				Kwasowość ogólna Total acidity [g citric acid · 100 g ⁻¹]			
	Okres przechowywania [miesiące] Storage time [months]							
	0	6	12	\bar{x}	0	6	12	\bar{x}
0	25,9	14,4	14,8	18,4	0,79	0,81	0,80	0,80
5	24,2	14,7	13,6	17,5	0,73	0,75	0,73	0,74
10	23,6	14,3	14,2	17,4	0,69	0,71	0,69	0,70
\bar{x}	24,6	14,5	14,2	-	0,74	0,76	0,74	-
NIR _{0,05} I – LSD _{0,05} I	0,88				0,011			
NIR _{0,05} II – LSD _{0,05} II	0,88				0,011			
NIR _{0,05} I x II - LSD _{0,05} I x II	r.n. – ns.				r.n. – ns.			

r.n. – różnica statystycznie nieistotna / n.s. – not statistically significant

Największy ubytek zawartości witaminy C we wszystkich wariantach stwierdzono po pierwszych 6 miesiącach przechowywania (o 44% w wariantach bezcukrowym i o 39% w wariantach słodzonych). Palich i Puksza [19] odnotowali mniejszy ubytek zawartości witaminy C w wysokości 24% po 5 miesiącach przechowywania truskawek mrożonych w całości, w temp. -18°C. Jeszcze mniejsze ubytki zawartości witaminy C wykazały autorki w przypadku składowania mrożonych homogenatów z truskawek odmiany Elsanta [28] (o 14 do 16%, odpowiednio w wariantach bezcukrowym i z 10% dodatkiem sacharozy). Różnice te mogą wynikać z wyższej aktywności oksydazy kwasu askorbinowego w owocach odmiany Kent. Enzym ten powoduje utlenianie witaminy C także w czasie przechowywania mrożonek [32]. Dalsze składowanie mrożonek w niniejszym doświadczeniu nie powodowało istotnych zmian zawartości witaminy C. Brak istotności interakcji pomiędzy obydwojma czynnikami doświadczenia wskazuje, że w przypadku tej odmiany cukier nie wpływał ochronnie na zachowanie witaminy C.

Kwasowość homogenatu wyjściowego była wyższa (0,79 g kwasu cytrynowego · 100 g⁻¹) w porównaniu z truskawkami tej samej odmiany, badanych przez autorki

w sezonie 2001 [27] (po przeliczeniu na kwas cytrynowy $0,67 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). Wskazuje to na wpływ warunków pogodowych i agrotechnicznych na kształtowanie się tej cechy owoców. Wysoką kwasowość wykazali w truskawkach Nunes i wsp. [18]: $0,97 - 1,12 \text{ g}$ kwasu cytrynowego $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ oraz Kallio i wsp. [11]: $0,74 - 1,16 \text{ g}$ kwasu cytrynowego $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Natomiast Sturm i wsp. [31] stwierdzili znacznie szerszy zakres kwasowości w różnych odmianach truskawek (od $0,5$ do $10,9 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). W przeprowadzonym doświadczeniu dodatek sacharozy do przecierów słodzonych spowodował zmniejszenie zawartości kwasów ogółem w stosunku do wariantu bez cukru (tab. 1). W przeciągu 12 miesięcy składowania mrożonek kwasowość ogólna w każdym z wariantów była najbardziej stabilnym spośród analizowanych parametrów fizykochemicznych. Stwierdzone zmiany kwasowości oscylowały w granicach $\pm 0,01 - 0,02 \text{ g}$ kwasu cytrynowego $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Podobnie Kmiecik i wsp. [12] w truskawkach odmiany Dukat, przechowywanych w temp. -30°C przez 12 miesięcy, wykazali minimalne zwiększenie kwasowości (o $0,02 \text{ g}$ kwasu cytrynowego $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$) w stosunku do owoców świeżych. Sahari i wsp. [24] w truskawkach odmiany Kordestan mrożonych w całości, w ciągu 3 miesięcy składowania w temp. -24°C odnotowali spadek kwasowości z $1,22$ do $1,14 \text{ g}$ kwasu cytrynowego $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

W przecierach stwierdzono statystycznie istotne zmiany zawartości suchej masy wynikające z dodatku cukru - I czynnik i czasu przechowywania - II czynnik (tab. 2). Interakcja obu czynników była jednak nieistotna. W porównaniu ze stanem wyjściowym, po 12 miesiącach składowania przecierów nastąpił w nich ubytek suchej masy o $0,3\%$ (próba kontrolna), o $0,6\%$ (przecier z 5% dodatkiem cukru) i o $0,8\%$ (przecier z 10% dodatkiem cukru). Prawdopodobną przyczyną mogło być rozszczelnienie opakowań. Ze względów praktycznych zmiany te były niewielkie i dlatego można stwierdzić, że pojemniki Rubbermaid nadają się do pakowania tego typu produktów.

Dodatek cukru spowodował zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem w wariantach z udziałem sacharozy w stosunku do wariantu kontrolnego, ale nie były to zmiany statystycznie istotne (tab. 2). W czasie składowania mrożonek stwierdzono tylko statystycznie nieistotne fluktuacje zawartości tych związków. Po rocznym składowaniu w próbach wariantu kontrolnego stwierdzono ubytek zawartości polifenoli o 5% , w produkcie z 5% dodatkiem cukru ich wzrost o $\sim 2\%$, a w przecierze z 10% dodatkiem cukru wzrost ten wyniósł $\sim 10\%$. W truskawkach tej samej odmiany mrożonych w całości [27] obserwowano bardzo silne zmiany zawartości związków polifenolowych.

Świeże truskawki zawierały $242 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ polifenoli ogółem. Po 4 miesiącach zamrażalniczego składowania zawartość ta zmniejszyła się do $96 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, a po następnych 4 miesiącach wzrosła do $111 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. W porównaniu z analogicznymi przecierami sporządzonymi z truskawek odmiany Senga Sengana [29] oraz Elsanta [28] wahania zawartości związków polifenolowych w przecierach z owoców odmiany Kent były nieznaczne. Wykazane zmiany związków polifenolowych są trudne do jednoznacznego zinterpretowania. Häkkinen i wsp. [8] oraz Häkkinen i Törrönen [9] podają, że w czasie

przechowywania truskawek, zwłaszcza przez kilka miesięcy, możliwy jest zarówno wzrost, jak i spadek zawartości poszczególnych związków polifenolowych.

Tabela 2

Zawartość suchej masy i polifenoli ogółem w homogenatach z truskawek odmiany Kent z dodatkiem cukru (0, 5 i 10%) w stanie świeżym oraz po 6 i 12 miesiącach przechowywania mrozonek
Dry matter and total polyphenol content of fresh (0) and frozen (after 6 and 12 months of freeze-storage) 'Kent' cultivar strawberry homogenate with sugar addition (0, 5 and 10%)

Dodatek sacharozy Saccharose addition [%]	Sucha masa / Dry matter [%]				Polifenole ogółem Total polyphenol [mg 100 g ⁻¹]			
	Okres przechowywania [miesiące] Storage time [months]							
	0	6	12	\bar{x}	0	6	12	\bar{x}
0	8,34	8,47	8,07	8,29	310,1	313,6	294,5	306,1
5	13,03	13,09	12,45	12,86	297,1	303,4	302,0	300,8
10	17,69	17,70	16,90	17,43	285,4	283,7	313,0	294,0
\bar{x}	13,02	13,09	12,47	-	297,5	300,2	303,2	-
NIR _{0,05} I – LSD _{0,05} I	0,180				r.n. – n.s.			
NIR _{0,05} II – LSD _{0,05} II	0,180				r.n. – n.s.			
NIR _{0,05} I x II - LSD _{0,05} I x II	r.n. – n.s.				r.n. – n.s.			

r.n. – różnica statystycznie nieistotna / n.s. – not statistically significant

Wyniki mikrobiologicznej oceny homogenatów przedstawiono na rys. 1. oraz w tab. 3. Wskazują one, że w świeżo sporządzonym przecierze ogólna liczba bakterii mezofilnych tlenowych wynosiła $1,4 \times 10^4$ jtk·g⁻¹, zaś liczba pleśni i drożdży odpowiednio $2,80 \times 10^3$ oraz $1,12 \times 10^4$ jtk·g⁻¹, a miano coli i enterokoków było wyższe od 0,1g. Podane wartości przyjęto jako wyjściowe zarówno w przypadku wariantu bez cukru, jak też przecierów słodzonych, ponieważ dodatek cukru nie wpłynął na zmianę ich stanu mikrobiologicznego. Stwierdzono bowiem, że zgodnie z danymi przytaczanymi przez Burbiankę i wsp. [3] w 10 g używanego cukru występowały tylko pojedyncze drożdże i grzyby pleśniowe, enterokoki i bakterie z grupy coli były nieobecne (w 1 g), natomiast ogólna liczba bakterii nie przekraczała 10 jtk·g⁻¹.

Stan mikrobiologiczny świeżego przecieru różnił się od badanych wcześniej przez autorki [28, 29] przecierów z odmian Senga-Sengana oraz Elsanta. W porównaniu z nimi produkt oceniany w tej pracy odznaczał się niższą liczbą bakterii i drożdży, (choć również była ona większa od 10^4 jtk·g⁻¹), ale zawierał znacznie więcej grzybów pleśniowych (10^3 , wobec 10^2 jtk·g⁻¹). Mogło to być wynikiem różnej odporności odmian na porażenie przez mikroorganizmy [20].

Tabela 3

Liczba grzybów pleśniowych i drożdży oraz miano coli i enterokoków w świeżym oraz w zamrożonym przecierze z truskawek odmiany Kent.

Total count of moulds and yeasts and titre of coliforms and enterococci in fresh and frozen "Kent" cultivar strawberry homogenates.

Termin oceny Determination date	Liczba pleśni [jtk·g ⁻¹] Count of moulds [cfu·g ⁻¹]			Liczba drożdży [jtk·g ⁻¹] Count of yeasts [cfu·g ⁻¹]			Miano coli i enterokoków Titre of coli- forms and enterococci
	a	b	c	a	b	c	a,b,c
Homogenat świeży Fresh homogenate	2,80x10 ³			1,12x10 ⁴			>0,1
2 dni po zamroże- niu 2 days after freezing	1,05x10 ³ (37,4)*	1,20x10 ³ (42,8)	1,30x10 ³ (46,4)	1,50x10 ³ (13,4)	2,20x10 ³ (19,6)	2,35x10 ³ (21,0)	>0,1 Dla wszystkich
6 miesięcy po zamroże- niu 6 months after freezing	0,6x10 ¹	1,0x10 ¹	2,0x10 ¹	0,5x10 ¹	0,5x10 ¹	0,7x10 ¹	homogenatów For all ho- mogenates
12 miesięcy po zamroże- niu; 12 months after freezing	nbc absent	0,50x10 ¹	1,0x10 ¹	nbc absent	nbc absent	nbc absent	

* W nawiasach podano % przeżycia drobnoustrojów w stosunku do stanu w świeżym przecierze / There is % of survival rate of microorganisms in brackets;

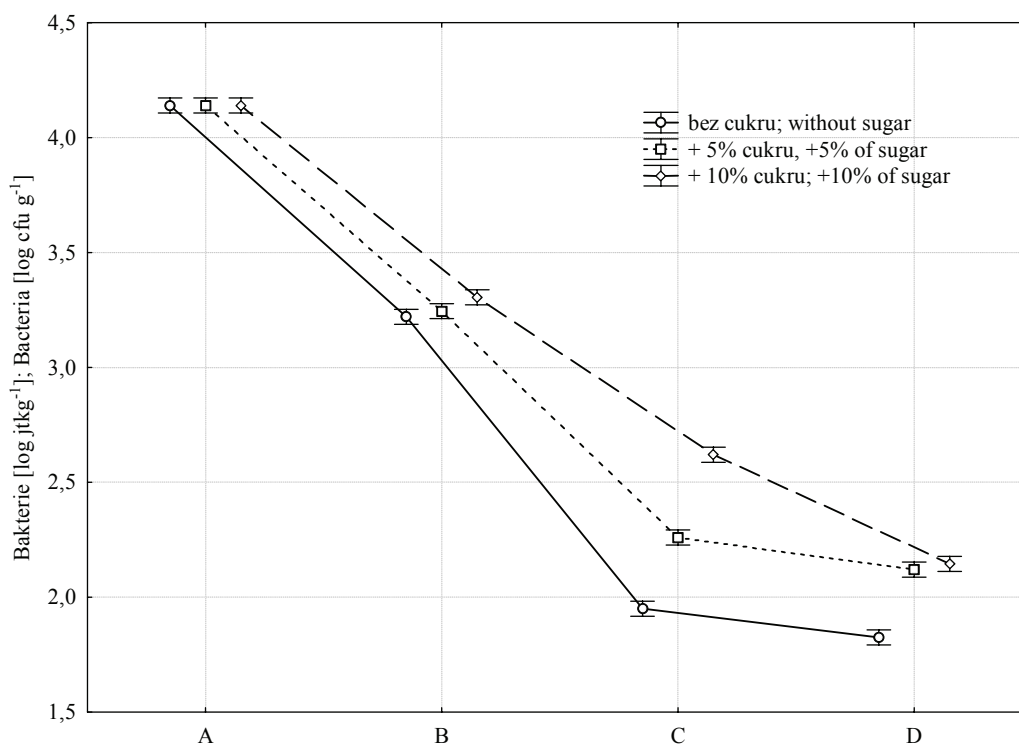
a - przecier bez cukru / homogenate without sugar; b - przecier z 5% dodatkiem cukru / homogenate with 5% addition of sugar; c - przecier z 10% dodatkiem cukru / homogenate with 10% addition of sugar;

nbc / nieobecne. – absent.

W czasie mrożenia oraz zamrażalniczego przechowywania przecierów nastąpiło istotne zmniejszenie liczby drobnoustrojów, ale stopień zmian był uzależniony od grupy mikroorganizmów oraz wariantu przecieru. Ogólnie bardziej efektywnie niska temperatura wpłynęła na inaktywację mikroorganizmów w produktach bez cukru. Jest to zgodne z opinią, że sacharydy, zarówno proste, jak i złożone, zwiększają odporność komórek mikroorganizmów na zamrażanie [15, 16].

Tuż po zamrożeniu (2 dni) redukcja liczby bakterii (rys. 1) w przecierze niesłodzonym oraz z 5% dodatkiem cukru była zbliżona (o ok. 0,9 log jtk·g⁻¹). W produktach tych w wyniku zamrożenia średnia liczba bakterii zmniejszyła się do, odpowiednio 3,22 oraz 3,25 log jtk·g⁻¹, a przeżycie bakterii wynosiło 15,7 i 17,8%. W przecierze z 10% dodatkiem cukru, redukcja liczby bakterii była mniejsza (o ok. 0,8 log jtk·g⁻¹) i w efekcie ogólna liczba tych drobnoustrojów była w nim istotnie wyższa (3,29 log jtk·g⁻¹) niż w produkcie bez cukru. Przeżycie bakterii w wariantcie z 10% udziałem

cukru przekraczało 22%. Po 6 miesiącach zamrażalniczego przechowywania liczba bakterii zmniejszyła się najbardziej w przecierze niesłodzonym (o ok. $1,3 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$), do poniżej $2,0 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$, natomiast liczba bakterii w wariantach z 5 i 10% dodatkiem wynosiła odpowiednio 2,26 oraz $2,62 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. W stosunku do liczby przed zamrożeniem, w przecierach pozostało 0,7; 1,8 i 4,4% bakterii, kolejno w produkcie niesłodzonym oraz z dodatkiem 5 i 10% cukru. Różnice występujące między średnią liczbą bakterii obecnych w poszczególnych wariantach przecierów, po 6 miesiącach ich zamrażalniczego przechowywania, były statystycznie istotne. Po kolejnych 6 miesiącach przechowywania liczba bakterii w przecierach słodzonych była do siebie zbliżona ($2,1$ – $2,2 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$) i istotnie wyższa niż w wariacie bez cukru.



Rys. 1. Zmiany ogólnej liczby bakterii mezofilnych tlenowych w przecierze świeżym – A i zamrażalniczo przechowywanym: B – 2 dni, C – 6 miesięcy, D – 12 miesięcy.

Fig. 1. Changes of total number of mesophilic aerobic bacteria in fresh homogenate – A and after freezing storage: B – 2 days, C – 6 months, D – 12 months.

(poziome kreski oznaczają 95% przedziały ufności / horizontal bars indicate 95% confidence intervals).

W porównaniu z otrzymanymi wynikami w badanych wcześniej przecierach z odmian Senga-Sengana [29] i Elsanta [28] silniej uwidoczniło się w procesie zamrożenia ochronne działanie cukru w stosunku do bakterii. Ich przeżywalność była wyższa i w wariantach z 5 i 10% dodatkiem cukru w odmianie Elsanta przekraczała 36 i 42%, a w odmianie Senga-Sengana sięgała 22 i 42%. Natomiast w produktach niesłodzonych z tych odmian przeżycie bakterii było niższe (10-11%) niż w przecierze z odmiany Kent. Stopień przeżycia drobnoustrojów w niskiej temperaturze zależy od wielu czynników, w tym od właściwości surowca, charakteru obecnej w nim mikroflory oraz warunków procesu [2, 16]. Dlatego uzyskiwane wyniki często są bardzo zróżnicowane. Np. w zamrożonym homogenacie z aloesu [30] zmniejszenie liczby bakterii było wyższe (o 1,4-1,6 log jtk·g⁻¹) niż odnotowane w tej pracy, natomiast w fasoli szparagowej proces zamrożenia nie spowodował istotnej redukcji liczby bakterii [2].

Wobec braku stosownych norm, w ocenie zanieczyszczenia badanych przecierów przez bakterie można kierować się wymaganiami mikrobiologicznymi, formułowanymi przez zagranicznych kontrahentów w stosunku do całych mrożonych truskawek [1], w których liczba bakterii nie powinna przekraczać 10⁵ jtk·g⁻¹. Porównując otrzymane wyniki z tym wymaganiem można stwierdzić, że chociaż różnice między średnią liczbą bakterii obecnych w poszczególnych wariantach przecierów świeżo zamrożonych i zamrażalniczo przechowywanych były statystycznie istotne, to w praktyce zawartość bakterii w żadnym z przecierów nie budziła zastrzeżeń.

Zmiany liczby drożdży w procesie zamrażania przecierów były zbliżone do zmian odnotowanych w stosunku do bakterii (tab. 3). We wszystkich wariantach przecierów, tuż po zamrożeniu, liczba drożdży z poziomu 10⁴ obniżyła się do 10³ jtk·g⁻¹, jednak w produkcie bez cukru przeżycie drożdży było najmniejsze (13,4%), natomiast w wariantach z dodatkiem 5 i 10% cukru, z wyjściowej liczby drożdży pozostało odpowiednio 19,6 oraz 21%. W porównaniu z bakteriami i drożdżami przeżywalność grzybów pleśniowych podczas zamrażania przecierów była wyższa, co potwierdza ogólnie większą odporność tej grupy mikroorganizmów na działanie niskiej temperatury [16]. Po zamrożeniu liczba pleśni w przecierach utrzymywała się na poziomie 10³ jtk·g⁻¹, a ich przeżycie w wariantach z 5 i 10% udziałem cukru wynosiło 42,8 oraz 46,4%, natomiast w produkcie bez cukru – 37,4%. Na redukcję liczby drożdży i grzybów pleśniowych szczególnie efektywnie wpłynęło zamrażalnicze przechowywanie przecierów. Już po 6 miesiącach składowania we wszystkich wariantach przecierów pozostała jedynie szczątkowa mikroflora grzybowa, a po kolejnym półrocznym okresie tylko w produktach z dodatkiem cukru stwierdzono obecność pojedynczych pleśni. W procesie zamrażania przecierów z truskawek odmian Elsanta [28] i Senga-Sengana [29] przeżycie drożdży i pleśni było ogólnie wyższe (zwłaszcza w homogenatach z truskawek Elsanta) niż stwierdzono w przedstawionych badaniach. Jednak podobnie, jak w tej pracy, podczas 6-miesięcznego zamrażalniczego przechowywania produktów z tych

odmian, nastąpił niemal całkowity zanik populacji pleśni i drożdży. Według wymagań odbiorców zagranicznych, w zamrożonych całych truskawkach liczba drożdży i pleśni, w zależności od kraju, nie powinna przekraczać poziomu 10^3 lub 10^4 jtk·g⁻¹ [1]. Porównanie otrzymanych wyników z tymi zaleceniami wskazuje, że bezpośrednio po zamrożeniu wszystkie warianty przecierów zawierały nadmierną liczbę grzybów. Podobne zastrzeżenia budził stan mikrobiologiczny przecierów z truskawek odmian El-santa i Senga-Sengana. Badania zamrożonych truskawek pochodzących z różnych krajowych chłodni [1, 13] również dowodzą, że część spośród ocenianych partii owoców odznaczała się wysokim zanieczyszczeniem przez drożdże ($>10^3$ jtk·g⁻¹) oraz grzyby pleśniowe (do $2,0 \times 10^5$ jtk·g⁻¹). Mikrobiologiczna jakość produktów mrożonych zależy od stanu surowca, dlatego ważne jest zachowanie warunków ograniczających rozwój drobnoustrojów – schłodzenie surowca, krótki okres między zbiorem a przetworzeniem oraz higiena obróbki wstępnej owoców [2, 6, 16].

Wnioski

1. Nie stwierdzono, aby dodatek cukru do przecierów z truskawek odmiany Kent działał ochronnie na zawartość witaminy C. Największe zmniejszenie zawartości witaminy C we wszystkich wariantach nastąpiło w ciągu pierwszych 6 miesięcy zamrażalniczego przechowywania. Dalsze składowanie powodowało już tylko nieznaczne zmiany zawartości tego składnika.
2. W czasie 12-miesięcznego składowania homogenatów w najmniejszym stopniu zmieniała się kwasowość ogólna tych produktów.
3. Nie stwierdzono statystycznie istotnego łącznego wpływu zawartości cukru i długości okresu przechowywania na zawartość suchej masy w badanych przecierach. Największe zmiany zawartości suchej masy obserwowano zwłaszcza w produktach słodzonych pomiędzy 6 a 12 miesiącem ich przechowywania.
4. Nie stwierdzono istotnego wpływu dodatku cukru ani czasu przechowywania na zmiany zawartości związków polifenolowych w badanych przecierach. Interakcja pomiędzy obydwoma czynnikami doświadczenia również była nieistotna.
5. Podczas zamrażania i zamrażalniczego przechowywania cukier działał ochronnie na mikroorganizmy, dlatego w przecierach z 5 i 10% dodatkiem cukru występowała większa liczba bakterii, drożdży i pleśni niż w produkcie niesłodzonym.
6. Wszystkie świeżo zamrożone przecieiry z truskawek odznaczały się stosunkowo niską liczbą bakterii (na poziomie 10^3 jtk·g⁻¹) oraz wysokim zanieczyszczeniem ($>10^3$ jtk·g⁻¹) przez pleśnie i drożdże. Po 6 miesiącach przechowywania w przecierach pozostała jedynie szczątkowa mikroflora grzybowa, a liczba bakterii zmniejszyła się do poziomu 10^1 – 10^2 jtk·g⁻¹.

Literatura

- [1] Białasiewicz D., Królasik J.: Porównanie jakości mikrobiologicznej mrożonych truskawek z wymaganiami zagranicznych odbiorców. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2000, **6**, 33-35.
- [2] Białasiewicz D., Królasik J.: Wpływ procesu technologicznego na jakość mikrobiologiczną mrożonej fasoli szparagowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **4 (21)**, 96-104.
- [3] Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: *Mikrobiologia żywności*. PZWL. Warszawa 1983.
- [4] Cordenunsi B.R., Genovese M.I., do Nascimento J.R., Hassimotto N.M.A., dos Santos R.J., Lajolo F.M.: Effect of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *Food Chem.* 2005, **91**, 113-121.
- [5] Cordenunsi B.R., do Nascimento J.R., Lajolo F.M.: Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. *Food Chem.* 2003, **83**, 167-173.
- [6] Gruda Z. Postolski J.: *Zamrażanie żywności*. WNT. Warszawa 1999.
- [7] Hakala M., Lapveteläinen A., Huopalahti R., Kalio H., Tahvonon R.M.: Effects of varieties and cultivation conditions on the composition of strawberries. *J. Food Comp. Anal.* 2003, **16**, 67-80.
- [8] Häkkinen S.H., Kärenlampi S.O., Mykkänen H.M., Heinonen I.M., Törrönen A.R.: Ellagic acid content in berries: Influence of domestic processing and storage. *Eur. Food Res. Technol.* 2000, **212**, 75-80.
- [9] Häkkinen S.H., Törrönen A.R.: Content of flavonols and selected phenolic in strawberries and Vaccinium species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Res. Intern.* 2000, **33**, 517-524.
- [10] Hannum S.M.: Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2004, **44**, 1-17.
- [11] Kallio H., Hakala M., Pelkkiangas A.M., Lapveteläinen A.: Sugars and acids of strawberry varieties. *Eur. Food Res. Technol.* 2000, **212**, 81-85.
- [12] Kmiecik W., Jaworska G., Lisiewska Z.: Effect of sucrose, L-ascorbic acid and pectin on the quality of frozen strawberries. *EJPAU Food Sci. Technol.*, 2000, **3 (2)**.
- [13] Kordowska-Wiater M., Sosnowska B., Waśko A., Janas P.: Ocena jakości mikrobiologicznej wybranych mrożonych owoców jagodowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **4 (33)**, 117-126.
- [14] Krełowska-Kułas M.: *Badanie jakości produktów spożywczych*. PWE. Warszawa 1993.
- [15] Kuźmińska M.: Wpływ procesu zamrażania na przeżywalność drobnoustrojów w mrożonej żywności. *Chłodnictwo* 1985, **20 (8)**, 20-23.
- [16] Majczyna D., Białasiewicz D.: Przeżywalność drobnoustrojów w niskich temperaturach. *Chłodnictwo* 2001, **36 (5)**, 45-48.
- [17] Małolepszy B.: Określenie strat jakości truskawek od momentu zbioru do zamrożenia oraz w czasie przechowywania w stanie zamrożonym. *Chłodnictwo*, 1985, **20 (6)**, 19-20.
- [18] Nunes M.C.N., Brecht J.K., Morais A.M.M.B., Sargent S.A.: Physical and chemical quality characteristics of strawberries after storage are reduced by a short delay to cooling. *Postharvest Biol. Tech.* 1995, **6**, 17-28.
- [19] Palich P., Puksza T.: Zmiany zawartości witaminy C mrożonych warzyw i owoców w czasie przechowywania. *Chłodnictwo*, 2001, **36 (7)**, 43-45.
- [20] Płocharski W.: Truskawki na zaopatrzenie rynku owoców świeżych i do przetwórstwa. *Przem. Spoż.* 2002, **6**, 13-14.
- [21] PN-90/A-75052/04. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Sposób pobierania i przygotowania próbek do badań mikrobiologicznych.
- [22] PN-90/A-75101/04. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie kwasowości ogólnej.


- [23] Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Alakomi H.L., Oksman-Caldentey K.M.: Bioactive berry compounds – novel tool against human pathogens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2005, **67**, 8-18.
- [24] Sahari M.A., Boostani M.F., Hamidi Z.E. : Effect of low temperature on the ascorbic acid content and quality characteristics of frozen strawberry. *Food Chem.*, 2004, **86**, 357-363.
- [25] Samotus B., Leja M., Ścigalski A.: Porównanie czterech metod oznaczania kwasu askorbinowego w owocach i warzywach. *Acta Agraria Silv., Series Agraria.* 1982, **XXI**, 105-121.
- [26] Singleton V.L., Rossi J.A. Jr.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, **16**, 144-158.
- [27] Skupień K., Jakubowska B.: Porównanie parametrów chemicznych świeżych i mrożonych owoców wybranych odmian truskawek. *Folia Univ. Agric. Stetin., Sci. Alim.* 2004, **238 (3)**, 115-120.
- [28] Skupień K., Wójcik-Stopczyńska B.: Ocena jakości przecierów z truskawek odmiany 'Elsanta'. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2005 **4 (2)**, 25-35.
- [29] Skupień K., Wójcik-Stopczyńska B., Jakubowska B.: Zmiany wybranych wskaźników jakościowych w mrożonych homogenatach truskawkowych. *Folia Univ. Agric. Stetin., Sci. Aliment.* 2005, **246 (4)**, 267-278.
- [30] Steinka I., Stankiewicz J.: Ocena wpływu mrożenia aloesu na mikroflorę pozyskiwanej pulpy. *Post. Mikrobiol. Supl.* 2004, **43**, 499.
- [31] Sturm K., Koron D., Stampar F.: The composition of fruit of different strawberry varieties depending on maturity stage. *Food Chem.*, 2003, **83**, 417-422.
- [32] Zadernowski R., Oszmiański J.: Wybrane zagadnienia z przetwórstwa owoców i warzyw. *Wyd. ART. Olsztyn* 1994.

QUALITY ESTIMATION OF 'KENT' CULTIVAR STRAWBERRY HOMOGENATES

S u m m a r y

The objective of the study was to determine quality changes of fresh and frozen (after 6 and 12 months of storage) 'Kent' cultivar strawberry homogenates. There were 3 variants of purée prepared: without sugar, with 5% and 10% sugar addition. Dry weight, vitamin C, total polyphenol and total acidity were determined. Further both in fresh and frozen homogenates (after 2 days, 6 and 12 months) total count of mesophilic aerobic bacteria, yeasts and moulds as well as coliform and enterococci titre were estimated. During 12 months of freeze-storage the least alterations were found for total acid and dry weight content and the greatest for vitamin C content. The highest decline of vitamin C content was noticed during first 6 months of storage. Sugar addition did not influence vitamin C level during pulp freeze-storage. Neither sugar addition, nor time of storage exerted significant influence on total polyphenol content in purée obtained from this cultivar.

Protective effect of sugar towards microorganisms was observed in the process of freezing and freezing storage. It was reflected in higher bacteria, yeasts and moulds counts in homogenates with 5 and 10% of sugar supplement compared to non-sugar variant. In all freshly frozen homogenates the total number of bacteria was relatively low (the level 10^3 cfu·g⁻¹) but contamination by moulds and yeasts was high ($>10^3$ cfu·g⁻¹). After 6 months of freezing storage practically only rudimental fungal flora in all homogenates was observed and the number of bacteria reduced to the level 10^1 and 10^2 cfu·g⁻¹ respectively in variant without sugar and in homogenates with its addition.

Key words: strawberry, fresh and frozen homogenate, nutritive constituents, microbiological quality 

AGNIESZKA SZAJDEK, EWA DĄBKOWSKA, EULALIA J. BOROWSKA

WPLYW OBRÓBKI ENZYMATYCZNEJ MIAZGI OWOCÓW JAGODOWYCH NA ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI I AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ SOKU

Streszczenie

W pracy scharakteryzowano soki z owoców jagodowych - aronii, borówki czernicy, porzeczki czarnej, truskawki i żurawiny pod względem zawartości związków fenolowych ogółem, antocyjanów i aktywności wiązania rodników DPPH', określając wpływ procesu maceracji enzymatycznej miazgi oraz pasteryzacji.

Macerację miazgi prowadzono po uprzedniej obróbce termicznej preparatami enzymatycznymi zalecanymi do poszczególnych gatunków owoców. Wykazano korzystny wpływ zastosowania preparatów enzymatycznych na badane wyróżniki soków. Wydajność soków z poszczególnych gatunków owoców jagodowych różniła się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) i była największa (72,2%) w przypadku truskawki. Wśród soków pasteryzowanych, największą zawartością związków fenolowych ogółem - 12205 mg/l, wyróżniał się sok pasteryzowany z aronii, a antocyjanów - 2397 mg/l, sok z borówki czernicy. Stwierdzono destrukcyjne oddziaływanie procesu pasteryzacji soków na antocyjany. W badaniach wykazano, że najbardziej termolabilne były antocyjany soków z truskawki i żurawiny (ok. 4-krotne obniżenie ich zawartości). Maceracja enzymatyczna miazgi owoców, poprzedzająca proces tłoczenia, spowodowała znaczący statystycznie istotny ($p < 0,05$) wzrost aktywności wygaszania rodników DPPH' przez wszystkie soki. Spośród badanych soków pasteryzowanych największą aktywnością, równą 98,87 μ moles Trolox/ml, wyróżniał się sok z aronii.

Słowa kluczowe: soki z owoców jagodowych, polifenole, antocyjany, wiązanie rodników DPPH', maceracja, pasteryzacja

Wprowadzenie

Wśród produktów owocowych, soki i napoje stanowią aktualnie grupę o największym spożyciu. Szczególne miejsce zajmują soki z owoców jagodowych, wyróżniające się bogatym składem związków bioaktywnych o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych. Szczególnie podkreśla się ich zdolność do wygaszania aktywności

Mgr inż. A. Szajdek, mgr inż. E. Dąbkowska, prof. dr hab. E. J. Borowska, Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Pl. Cieszyński 1, 10-957 Olsztyn

wolnych rodników [3, 7, 8, 13, 14]. W sokach z owoców jagodowych, związki o tych właściwościach reprezentowane są przede wszystkim przez: polifenole (kwasy fenolowe, taniny i dużą grupę flawonoidów wraz z antocyjanami), witaminę C, karotenoidy, ponadto kwasy organiczne, wapń, selen i inne. Wśród wymienionych, szczególne miejsce zajmują związki fenolowe. Udowodniono m.in., że są one efektywnymi przeciwutleniaczami, silniejszymi często od wielu witamin o właściwościach przeciwutleniających. Uważa się, że rola związków fenolowych w organizmie polega prawdopodobnie na ochronie przed utlenianiem kwasu askorbinowego, witaminy E, glutationu i innych substancji ważnych biologicznie, a podatnych na procesy oksydacyjne [1, 10, 11, 12, 19].

Wśród krajowych gatunków owoców, stanowiących surowiec do otrzymywania soków, wymienić należy: truskawkę, porzeczkę czarną, aronię, borówkę czernicę, żurawinę. Informacje literaturowe wskazują na znaczący wpływ zarówno gatunku owoców, jak i procesów jednostkowych na składniki bioaktywne i właściwości przeciwutleniające soków [6, 9].

Celem pracy było określenie wpływu zróżnicowanych warunków maceracji miazgi owoców przed tłoczeniem i pasteryzacji na zawartość związków fenolowych ogółem, antocyjanów i aktywność wiązania rodników DPPH^{*} przez soki z owoców jagodowych.

Material i metody badań

Soki otrzymano w skali laboratoryjnej. Surowcem były owoce aronii, porzeczeki czarnej i truskawki z upraw w okolicy Olsztyna w roku 2004 oraz owoce borówki czernicy i żurawiny błotnej rosnące dziko. Do maceracji miazgi zastosowano preparaty enzymatyczne zalecane w przetwórstwie owoców na soki. Soki otrzymano w skali laboratoryjnej. Próby kontrolne stanowiły soki z poszczególnych gatunków owoców, przy otrzymywaniu których miazgę poddawano obróbce cieplnej (temp. 85°C, 5 min). Macerację miazg owoców prowadzono po ich obróbce termicznej, stosując następujące preparaty enzymatyczne: owoce aronii – preparat Pectinex BE Colour; owoce borówki czernicy – preparat Pektopol PT-400; owoce porzeczeki czarnej - preparat Pectinex BE Colour; owoce truskawki - preparat Pektopol PT-400; owoce żurawiny - preparat Gammapect LC Colour. Dawki preparatów zastosowanych do obróbki miazgi podano w tab. 1. Macerację enzymatyczną prowadzono w temp. 50°C przez 1,5 godz. Po procesie maceracji enzymy inaktywowano ogrzewając miazgę w temp. 85°C przez 2 min. Następnie tłoczono sok w prasie laboratoryjnej (ZPBB O/Bydgoszcz), dzielono go na 2 części, po czym jedną z nich zamrażano do analiz, natomiast drugą rozlewano do opakowań szklanych i pasteryzowano w temp. 95°C przez 10 min.

We wszystkich wariantach doświadczenia określano wydajność procesu. W sokach oznaczano zawartość: polifenoli (jako ekwiwalent kwasu galusowego) wg Single-

tona i Rossi [15], antocyjanów (jako cyjanidyno-3-glukozyd) wg Wrolstada [20] oraz aktywność wygaszania rodnika DPPH* (jako EC₅₀ w µl soku oraz jako µmol Troloxu/ml soku) wg Brand-Williams i wsp. [4].

Tabela 1

Dawki preparatów enzymatycznych zastosowanych do maceracji miazgi owoców jagodowych.
Doses of enzymatic preparations applied to berry fruits mash maceration.

Miazga owoców jagodowych Berry fruits mash	Preparat enzymatyczny Enzymatic preparation	Dawka preparatu [ml preparatu / 250 g miazgi] Dose of preparation [ml preparation / 250 g mash]*
Aronia / Chokeberry	Pectinex BE Colour	0,038
Borówka czernica / Bilberry	Pektopol PT-400	0,038
Porzeczka czarna / Black currant	Pectinex BE Colour	0,050
Truskawka / Strawberry	Pektopol PT-400	0,030
Żurawina / Cranberry	Gammapect LC Colour	0,050

* preparaty przed dodaniem do miazgi rozcieńczano 10-krotnie wodą destylowaną / the preparations were diluted ten-fold distilled water before adding to mash

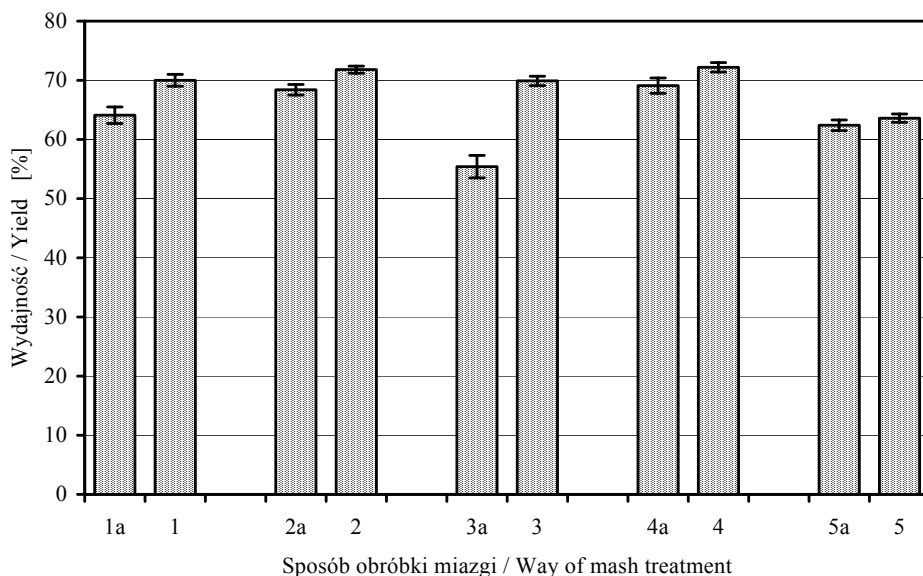
Analizę statystyczną wyników przeprowadzono stosując jednoczynnikową analizę wariancji z testem Duncana na poziomie istotności $p < 0,05$ przy użyciu programu komputerowego Statistica 6.0. Doświadczenie przeprowadzono trzykrotnie, a wszystkie analizy wykonano w trzech powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Przy otrzymywaniu soków z owoców aronii, borówki czernicy, porzeczki czarnej, truskawki i żurawiny uzyskano różne wydajności (rys. 1). Zastosowanie do maceracji miazgi preparatów enzymatycznych wpłynęło na zwiększenie wydajności soków, w największym stopniu z porzeczki czarnej. W warunkach przeprowadzonego doświadczenia, największe, porównywalne wydajności uzyskano z truskawki (72,2%) i borówki czernicy (71,8%).

Soki z poszczególnych gatunków owoców charakteryzowały się statystycznie istotnie zróżnicowaną ($p < 0,05$) zawartością związków fenolowych ogółem, w tym antocyjanów (tab. 2). Wynika to przede wszystkim z dużych różnic zawartości tych bioaktywnych związków w surowcu. Najwięcej polifenoli, na poziomie 12205 mg/l i 10639 mg/l, stwierdzono w sokach z aronii i porzeczki czarnej. Analizując wyniki, należy podkreślić korzystne oddziaływanie obróbki cieplnej i maceracji enzymatycznej miazgi owoców na uwalnianie polifenoli, w tym antocyjanów. W obrębie poszczegól-

nych gatunków, soki kontrolne (bez uprzedniej maceracji miazgi) charakteryzowały się kilkakrotnie mniejszym stężeniem tych związków.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

1a - miazga z aronii bez maceracji / chokeberry mash without maceration; 1 - miazga z aronii po maceracji / chokeberry mash after maceration; 2a - miazga z borówki czernicy bez maceracji / bilberry mash without maceration; 2 - miazga z borówki czernicy po maceracji / bilberry mash after maceration; 3a - miazga z porzeczki czarnej bez maceracji / black currant mash without maceration; 3 - miazga z porzeczki czarnej po maceracji / blackcurrant mash after maceration; 4a - miazga z truskawki bez maceracji / strawberry mash without maceration; 4 - miazga z truskawki po maceracji / strawberry mash after maceration; 5a - miazga z żurawiny bez maceracji / cranberry mash without maceration; 5 - miazga z żurawiny po maceracji / cranberry mash after maceration.

Rys. 1. Wydajność soków z owoców jagodowych.

Fig. 1. The yield of berry fruits juices.

Jak wykazały nasze wcześniejsze badania [17] i wyniki innych autorów [2, 5, 18], zawartość polifenoli w soku w znaczącym stopniu uwarunkowana jest rodzajem preparatów enzymatycznych zastosowanych do maceracji miazgi. Wg Buchert i wsp. [5], soki z borówki czernicy, przy otrzymywaniu których stosowali 5 różnych preparatów, zawierały związki fenolowe w szerokim zakresie 2,67 g/l – 4,50 g/l.

Tabela 2

Zawartość związków fenowych ogółem i antocyjanów w sokach z owoców jagodowych.
Content of total phenolics and anthocyanins in berry fruits juices.

Wariant Variant	Soki niepasteryzowane Nonpasteurized juices		Soki pasteryzowane Pasteurized juices	
	Polifenole Phenolics [mg/l]	Antocyjany Anthocyanins [mg/l]	Polifenole Phenolics [mg/l]	Antocyjany Anthocyanins [mg/l]
Soki z aronii: Chokeberry juices:				
bez maceracji without maceration	1926 ^{aA} ± 35	1457 ^{aC} ± 5	2052 ^{aA} ± 48	951 ^{aD} ± 3
po maceracji after maceration	10921 ^{bA} ± 74	4642 ^{bC} ± 16	12205 ^{bB} ± 96	1864 ^{bD} ± 9
Soki z borówki czernicy: Bilberry juices:				
bez maceracji without maceration	1237 ^{eA} ± 30	694 ^{eC} ± 4	852 ^{eB} ± 21	416 ^{eD} ± 6
po maceracji after maceration	3650 ^{dB} ± 55	2722 ^{dC} ± 12	6261 ^{dA} ± 43	2397 ^{dD} ± 27
Soki z porzeczki czarnej: Blackcurrant juices:				
bez maceracji without maceration	2624 ^{eA} ± 19	1327 ^{eC} ± 11	3011 ^{eB} ± 26	882 ^{eD} ± 8
po maceracji after maceration	8127 ^{fA} ± 44	2935 ^{fC} ± 17	10639 ^{fB} ± 52	2246 ^{fD} ± 14
Soki z truskawki: Strawberry juices:				
bez maceracji without maceration	504 ^{gA} ± 6	255,2 ^{gC} ± 0,8	368 ^{gB} ± 22	81,2 ^{gD} ± 1,8
po maceracji after maceration	1272 ^{hA} ± 17	211,4 ^{hC} ± 1,3	1199 ^{hA} ± 10	53,7 ^{hB} ± 0,7
Soki z żurawiny: Cranberry juices:				
bez maceracji without maceration	1040 ^{iA} ± 8	137,7 ^{iC} ± 0,5	1061 ^{iA} ± 13	87,2 ^{iD} ± 0,6
po maceracji after maceration	2846 ^{jA} ± 26	183,1 ^{jC} ± 0,9	3952 ^{jB} ± 22	57,6 ^{jB} ± 0,3

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Różne litery (a,b,c,...) w kolumnach oznaczają różnice statystycznie istotne (p<0,05) / Different letters (a,b,c,...) in the same column indicate statistically significant differences (p<0,05).

Różne litery w wierszach (A,B,C,D) oznaczają różnice statystycznie istotne (p<0,05) / Different letters (A,B,C,D) in the same row indicate statistically significant differences (p<0,05).

Tabela 3

Aktywność wygaszania rodników DPPH[•] przez soki.
DPPH[•] scavenging activity by juices.

Wariant Variant	Soki niepasteryzowane Nonpasteurized juices		Soki pasteryzowane Pasteurized juices	
	EC ₅₀ [μl soku] EC ₅₀ [μl juice]	[μmol Trolox / ml soku] [μmol TE / ml juice]	EC ₅₀ [μl soku] EC ₅₀ [μl juice]	[μmol Trolox / ml soku] [μmol TE / ml juice]
Soki z aronii: Chokeberry juices: bez maceracji without maceration po maceracji after maceration	1,97 ^a ± 0,04 0,35 ^b ± 0,03	22,37 ^a ± 0,40 125,98 ^b ± 10,18	2,18 ^a ± 0,05 0,45 ^b ± 0,02	20,21 ^a ± 0,46 98,97 ^b ± 4,09
Soki z borówki czernicy: Bilberry juices: bez maceracji without maceration po maceracji after maceration	6,73 ^c ± 0,06 1,40 ^d ± 0,04	6,54 ^c ± 0,06 31,51 ^d ± 0,80	6,95 ^c ± 0,09 1,46 ^d ± 0,04	6,33 ^c ± 0,08 30,21 ^d ± 0,73
Soki z porzeczki czarnej: Blackcurrant juices: bez maceracji without maceration po maceracji after maceration	2,22 ^e ± 0,04 0,65 ^f ± 0,03	19,84 ^e ± 0,32 67,68 ^f ± 2,14	2,38 ^e ± 0,03 0,68 ^f ± 0,02	18,47 ^e ± 0,22 65,14 ^f ± 2,05
Soki z truskawki: Strawberry juices: bez maceracji without maceration po maceracji after maceration	10,82 ^g ± 0,05 3,94 ^h ± 0,02	4,06 ^g ± 0,02 11,17 ^h ± 0,06	10,94 ^g ± 0,07 6,70 ^c ± 0,04	4,02 ^g ± 0,03 6,56 ^c ± 0,03
Soki z żurawiny: Cranberry juices: bez maceracji without maceration po maceracji after maceration	4,10 ⁱ ± 0,04 1,63 ⁱ ± 0,03	10,73 ⁱ ± 0,09 26,97 ^j ± 0,47	4,25 ^h ± 0,05 1,95 ⁱ ± 0,03	10,35 ^h ± 0,12 22,54 ⁱ ± 0,33

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Różne litery (a,b,c...) w kolumnach oznaczają różnice statystycznie istotne (p<0,05) / Different letters (a,b,c...) in the same column indicate statistically significant differences (p<0,05).

Wśród badanych soków największą zawartością antocyjanów wyróżniały się trzy rodzaje soków: z borówki czernicy, porzeczki czarnej i aronii (tab. 2). Analizując oddziaływanie procesu pasteryzacji na tę grupę związków, wykazano bardzo małą stabilność antocyjanów w sokach z truskawki i żurawiny. Soki te, po termicznym utrwaleniu, zawierały tylko 53,7 mg/l i 57,6 mg/l antocyjanów. Są to ilości 3-4-krotnie mniejsze aniżeli w sokach niepasteryzowanych. Zaobserwowano przy tym większą ich destrukcję w tych sokach, gdzie miążgę przed procesem tłoczenia poddawano obróbce termicznej i enzymatycznej.

Na mniejszą stabilność antocyjanów aronii po procesie depektynizacji wskazują też Oszmiański i Sożyński [13]. Jako jeden z kierunków tych zmian, niektórzy autorzy wskazują możliwość oksydatywnej polimeryzacji, w wyniku czego powstają produkty o barwie brunatnej [6].

Wśród analizowanych soków największą aktywnością wygaszania rodników DPPH[•] wyróżniały się soki z aronii; 1ml soku niepasteryzowanego wykazywał aktywność równoważną z 125,98 µmol Troloxu, a 1ml soku pasteryzowanego – 98,97 µmol Troloxu (tab. 3).

Należy podkreślić, że soki te charakteryzowały się jednocześnie najwyższą zawartością związków fenolowych ogółem (tab. 2). O wysokiej aktywności przeciwutleniającej soku z aronii donoszą także Oszmiański i Wojdyło [14]. Najmniej aktywne były natomiast soki pasteryzowane z truskawki. Wykazano ponadto znaczący, korzystny wpływ maceracji enzymatycznej miążgi na aktywność soków, natomiast oddziaływanie procesu pasteryzacji nie było jednoznaczne.

Wnioski

1. Soki otrzymane z owoców: aronii, borówki czernicy, porzeczki czarnej, truskawki i żurawiny, różniły się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) pod względem zawartości związków fenolowych ogółem, w tym antocyjanów oraz właściwości przeciwutleniających.
2. Zastosowanie preparatów enzymatycznych do maceracji miążgi zwiększyło znacząco wydajność soków, stopień uwalniania polifenoli - w tym antocyjanów oraz aktywność wygaszania rodników DPPH[•].
3. Wykazano, że proces pasteryzacji spowodował w większości niewielki wzrost zawartości związków fenolowych ogółem; wyjątek stanowiły soki z truskawki.
4. Stwierdzono destrukcyjne oddziaływanie procesu pasteryzacji soków na antocyjany - w warunkach przeprowadzonego doświadczenia najbardziej termolabilne były antocyjany soków z truskawki i żurawiny.
5. Mimo zmian zawartości związków fenolowych podczas pasteryzacji nie stwierdzono jednoznacznego wpływu tego procesu na aktywność wiązania rodników DPPH[•].

Praca była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszaw, 24–25 maja 2006.

Literatura

- [1] Ara V.: The black chokeberry: A healthy fruit that will soon be “on all tongues”? *Fruit Process.*, 2002, **13**, 500-504.
- [2] Bagger-Jørgensen R, Meyer A.S.: Effects of different enzymatic pre-press maceration treatments on release of phenols into blackcurrant juice. *Eur. Food Res. Technol.*, 2004, **219**, 620-629.
- [3] Borowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy (1). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **5**, 11-12.
- [4] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 1995, **28**, 25-30.
- [5] Buchert J., Koponen J.M., Suutarinen M., Musturanta A., Lille M., Törrönen R., Poutanen K.: Effect of enzyme-aided pressing on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. *J. Sci. Food Agric.*, 2005, **85**, 2548-2556.
- [6] Dietrich H., Rechner A., Patz C.D.: Bioactive compounds in fruit and juice. *Fruit Process.*, 2004, **14**, 50-55.
- [7] Espín J. C., Soler-Rivas C., Wichers H. J., García-Viguera C.: Anthocyanin – based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 1588-1592.
- [8] Heinonen I. M., Meyer A.S., Frankel E.N.: Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 4107-4112.
- [9] Horubała A.: Pojemność przeciwutleniająca i jej zmiany w procesach przetwarzania owoców i warzyw. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1999, **3**, 30-32.
- [10] Kähkönen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J-P., Pihlaja K., T. S. Kujala T. S., Heinonen M.: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3954-3962.
- [11] Kalt W., Forney C. F., Martin A., Prior R. L.: Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3954-3962.
- [12] Łata B.: Owoce jagodowe źródłem antyoksydantów. *Ogrodnictwo*, 2002, **6**, 11-13.
- [13] Oszmiański J, Sożyński J.: Wpływ warunków otrzymywania oraz przechowywania soku z aronii na związki fenolowe i barwę. *Zesz. Nauk. AR Wrocław*, 1989, **184**, 90-95.
- [14] Oszmiański J., Wojdyło A.: *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.*, 2005, **221**, 809-813.
- [15] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.*, 1965, **16**, 144-158.
- [16] Slimestad R., Solheim H.: Anthocyanins from blackcurrants (*Ribes nigrum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 3228-3231.
- [17] Szajdek A., Borowska J., Czaplicki S.: Biologically active substances and antioxidant properties of fruits and juices of aronia and black currant. *Płodowódstwo*, 2004, **15**, 321-325.
- [18] Versari A, Biesenbruch S, Barbanti D, Farnell PJ, Galassi S.: Effect of pectolic enzymes on selected phenolic compounds in strawberry and raspberry juices. *Food Res. Int.*, 1997, **30**, 811-817.
- [19] Wilska-Jeszka J.: Struktura i właściwości antyoksydacyjne polifenoli. *Mat. II Konf. Nauk. „Żywność a Zdrowie”*, Łódź 1999, s. 27-36.
- [20] Wrolstad R.E.: Color and pigment analyses in fruits products. *Oregon State University, Agricultural Experiment Station Bulletin*, 1976, p. 624.

THE INFLUENCE OF BERRY FRUITS MASH ENZYMATIC TREATMENT ON THE POLYPHENOLS CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF JUICE

S u m m a r y

This study characterizes the content of phenolic compounds and anthocyanins and also the DPPH[•] radical scavenging activity of berry juices made of chokeberry, bilberry, black currant, strawberry and cranberry fruit, and examined the effects of mash maceration process and pasteurization.

Mash maceration was carried out with the use of enzymatic preparations, recommended for individual species of fruit, after previous heat treatment. The research demonstrated favorable effects of using enzymatic preparation on the characteristics of the examined juices. It was proven that juice productive was statistically different ($p < 0.05$) for individual species of berries, and achieved the largest value (72.2%) in the case of strawberry. Among pasteurized juices, the highest total content of phenolic compounds – 12205 mg/l was found for pasteurized chokeberry juice, and as regards anthocyanins – 2397 mg/l found for bilberry juice. It was demonstrated that juice pasteurization had destructive effects on anthocyanins. The study showed that anthocyanins in strawberry and cranberry juices proved to be the most heat-labile (about a four-fold drop). The enzymatic maceration of fruit mash which preceded the pressing process resulted in a considerable, spastically significant ($p < 0.05$) increase in DPPH[•] radical scavenging in all analyzed juices. Among the pasteurized juices under examination, the greatest activity of 98.87 μmol Trolox equivalent/ml was found for chokeberry juices.

Key words: berry fruit juices, polyphenols, anthocyanins, DPPH[•] scavenging, maceration, pasteurization



IWONA ŚCIBISZ, MARTA MITEK

AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA I ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH W SUSZACH Z OWOCÓW BORÓWKI WYSOKIEJ (*VACCINIUM CORYMBOSUM* L.)

Streszczenie

W pracy określono wpływ obróbki wstępnej oraz procesu suszenia na zawartość związków polifenolowych oraz pojemność przeciwutleniającą owoców borówki wysokiej odmiany Bluecrop. Owoce świeże i poddane obróbce wstępnej (mrożone, blanszowane, odwadniane osmotycznie w czasie 2, 4 i 6 godzin) suszono metodą konwekcyjną. Procesy odwodniania osmotycznego owoców oraz blanszowania spowodowały istotne zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem oraz antocyjanów w owocach. Otrzymane wyniki wskazują, że skrócenie czasu odwadniania do 2 godz. minimalizuje straty antocyjanów zawartych w owocach borówki. Podczas suszenia świeżych owoców stwierdzono 39% straty zawartości polifenoli ogółem oraz zmniejszenie pojemności przeciwutleniającej o 41%. Mimo, że obróbka wstępna owoców (odwadnianie osmotyczne, blanszowanie) oraz suszenie owoców powodowało wysokie straty zawartości badanych związków przeciwutleniających, otrzymane susze borówkowe charakteryzowały się pojemnością przeciwutleniającą wynoszącą od 68,1 do 102,3 μM Troloxu/g.

Słowa kluczowe: pojemność przeciwutleniająca, borówka wysoka, susze, antocyjany

Wprowadzenie

Borówka wysoka, potocznie nazywana borówką amerykańską, jest jedną z najmłodszych roślin sadowniczych uprawianych w Polsce. Zainteresowanie konsumentów tymi owocami sprawiło, że przez ostatnie dziesięć lat znacznie wzrosła liczba nasadzeń borówki i obecnie nasz kraj zajmuje drugie miejsce w uprawie tego gatunku w Europie [9]. Należy przypuszczać, że już wkrótce mogą stać się one cennym surowcem przemysłowym, przetwarzanym także na susze. Owoce borówki wyróżniają się bardzo wysoką aktywnością przeciwutleniającą oraz bogatym składem antocyjanów [11].

Podczas procesu suszenia może następować znaczące zmniejszenie zawartości związków o charakterze przeciwutleniającym zawartych w owocach [4].

Celem pracy było określenie wpływu procesu suszenia na aktywność przeciwutleniającą oraz zawartość związków polifenolowych w owocach borówki wysokiej. Zbadano także, jaki wpływ na właściwości przeciwutleniające suszów mają zróżnicowane metody obróbki wstępnej poprzedzające proces suszenia, takie jak: mrożenie, blanszowanie i odwadnianie osmotyczne.

Material i metody badań

Surowcem stosowanym do produkcji suszu były owoce borówki wysokiej odmiany Bluecrop pochodzące z gospodarstwa sadowniczego w Piskórcie, oddalonego 15 km od Warszawy. Zbioru dokonano 10 sierpnia 2003 r. Przed procesem suszenia owoce poddawano zabiegom wstępnym polegającym na ich zamrożeniu, blanszowaniu oraz odwodnieniu osmotycznym w roztworze sacharozy w ciągu 2, 4 i 6 godz.

Owoce mrożone - świeże owoce borówki zamrażano w temp. $-35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ i składowano w tych warunkach przez 12-16 godz. Przed przystąpieniem do procesu suszenia owoce rozmrażano na powietrzu w temp. $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, w ciągu około 1,5 godz.

Owoce blanszowane - świeże owoce borówki blanszowano w wodzie o temp. 95°C przez 2 min. Po zakończeniu procesu blanszowania owoce osuszano na bibule filtracyjnej

Owoce odwadniane osmotycznie - borówki zamrażano w temp. -35°C , a po 12-16 godz. rozmrażano na powietrzu w temp. $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, po czym zanurzano w roztworze sacharozy o stężeniu 65%. Stosunek masy owoców do syropu wynosił 1:4. Proces odwadniania osmotycznego prowadzono w temp. 20°C , w ciągu 2, 4 i 6 godz. W czasie procesu odwadniania roztwór odwadniający był co 30 min mieszany w celu wyrównania stężenia syropu. Po upływie zadanego czasu odwadniania osmotycznego owoce oddzielano od roztworu osmotycznego i zanurzano na 10 s do wody destylowanej, a następnie delikatnie osuszano na bibule filtracyjnej.

Świeże owoce borówek oraz po obróbce wstępnej (mrożone, blanszowane oraz odwadniane osmotycznie) poddawano suszeniu w suszarce laboratoryjnej. Owoce suszono w pojedynczej warstwie w temp. 70°C przez 10 godz. Prędkość przepływu powietrza wynosiła 1,0 m/s. Po zakończonym procesie otrzymane produkty chłodzono do temperatury pokojowej. Zdecydowano się zastosować jednakowe warunki suszenia we wszystkich badanych wariantach, aby mieć możliwość porównania wpływu metod wstępnej obróbki surowca na straty związków przeciwutleniających w otrzymanych suszach.

W owocach świeżych, po zabiegach wstępnych, oraz w otrzymanych suszach oznaczano zawartość polifenoli ogółem [6], antocyjanów ogółem [10] oraz zawartość poszczególnych glikozydów antocyjanowych metodą HPLC, a także aktywność prze-

ciwutleniającą metodą z rodnikami ABTS⁺ [5]. Oznaczenie zawartości suchej masy wykonywano metodą wagową. Uzyskane wyniki poddano analizie wariancji. Istotność różnic określono za pomocą testu Tukey`a przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Właściwy proces suszenia poprzedzono wstępną obróbką owoców, która polegała na ich zamrożeniu, blanszowaniu oraz odwadnianiu osmotycznym. Zabiegi te, za wyjątkiem mrożenia, spowodowały zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem w owocach borówki wysokiej (tab. 1). Najmniejszą zawartość polifenoli ogółem stwierdzono w owocach po procesie odwadniania osmotycznego prowadzonego w ciągu 6 godz. Również owoce poddane zabiegowi blanszowania charakteryzowały się istotnie mniejszą zawartością polifenoli ogółem w porównaniu z owocami świeżymi. Porównując uzyskane wyniki stwierdzono, że proces blanszowania owoców borówki wysokiej powodował 10% straty polifenoli ogółem. Podczas procesu osmotycznego odwadniania owoców zawartość polifenoli zmniejszyła się od 11%, podczas odwadniania 2-godzinnego owoców, do 19%, podczas odwadniania 6-godzinnego.

Świeże owoce borówki wysokiej stanowiące próbę odniesienia, a także po obróbce wstępnej poddano procesowi suszenia metodą konwekcyjną. Proces suszenia konwekcyjnego spowodował wysokie straty zawartości polifenoli ogółem. Największą zawartością polifenoli ogółem charakteryzowały się susze kontrolne, otrzymane z owoców świeżych. Nie obserwowano istotnych różnic między suszem kontrolnym a suszem otrzymanym z mrożonych owoców. Zawartość polifenoli w pozostałych badanych suszach była istotnie mniejsza w porównaniu z suszami z owoców świeżych. Najmniejszą zawartością polifenoli ogółem charakteryzowały się susze z owoców poddanych procesowi odwadniania osmotycznego w ciągu 6 godz. Suszenie owoców świeżych, stanowiących próbę kontrolną, powodowało spadek zawartości polifenoli ogółem o 39%. Podobne straty polifenoli zaobserwowano przy suszeniu owoców mrożonych. Większy spadek zawartości polifenoli ogółem, dochodzący do 55%, stwierdzono podczas suszenia owoców odwadnianych osmotycznie. Podobne do uzyskanych w niniejszej pracy straty zawartości związków fenolowych podczas suszenia metodą konwekcyjną owoców borówki czernicy otrzymali Borowska i wsp. [1].

Zawartość antocyjanów ogółem w owocach borówki wysokiej zmniejszyła się podczas blanszowania oraz odwadniania osmotycznego, natomiast nie uległa istotnym zmianom podczas zamrażania owoców (tab. 1). W owocach borówki wysokiej odwadnianych osmotycznie stwierdzono najmniejszą zawartość antocyjanów ogółem. Oceniając uzyskane wyniki stwierdzono, że zabieg odwadniania osmotycznego spowodował wysokie straty antocyjanów, tym większe, im dłużej trwał proces. Największy, ponad 35% spadek zawartości antocyjanów obserwowano podczas odwadniania osmotycznego prowadzonego w ciągu 6 godz. Straty antocyjanów obserwowano również podczas zabiegu blan-

szowania owoców borówki. Pewien wpływ na zmniejszenie zawartości antocyjanów ogółem podczas blanszowania owoców mogła mieć wysoka temperatura procesu. Wydaje się jednak, że podobnie jak miało to miejsce podczas odwadniania osmotycznego,

Tabela 1

Zawartość polifenoli ogółem, antocyjanów ogółem oraz pojemność przeciwutleniająca owoców świeżych, owoców po obróbce wstępnej oraz suszów otrzymanych z owoców borówki wysokiej.

Total phenolics, total anthocyanins contents and antioxidant capacity in fresh, pretreatment and dried highbush blueberries.

Produkty Products			Polifenole ogółem Total phenolics		Antocyjany ogółem Total anthocyanins		Pojemność przeciwutleniająca Antioxidant capacity	
			[mg/100g]	[mg/g s.m.] [mg/g d.m.]	[mg/100g]	[mg/g s.m.] [mg/g d.m.]	[μ M Troloxu/g]	[μ M Troloxu/g s.m.] [μ M Troloxu/g d.m.]
Owoce świeże / Fresh fruits			427,8	25,46d	137,6	8,19d	33,5	199,4d
Owoce mrożone / Frozen fruits			427,5	25,45d	139,4	8,30d	32,7	194,6d
Owoce blanszowane / Blanching fruits			387,5	23,48c	117,1	7,10c	29,1	176,4c
Owoce odwadniane osmotycznie Osmo-dehydrated fruits	Czas odwadniania [godz.] Contact times [h]	2	388,3	22,58abc	101,5	5,90b	25,4	147,7b
		4	372,8	21,55ab	95,1	5,50ab	24,3	140,5ab
		6	358,4	20,72a	90,0	5,20a	22,7	131,2a
Suszy z owoców świeżych Dried of fresh fruits			1325,2	15,25d	201,7	2,32e	102,3	117,7d
Suszy z owoców mrożonych Dried of frozen fruits			1300,6	14,95cd	189,4	2,17e	99,7	114,6d
Suszy z owoców blanszowanych Dried of blanching fruits			1236,5	14,20c	158,1	1,81c	90,6	104,0c
Suszy z owoców odwadnianych osmotycznie Dried of osmo-dehydrated fruits	Czas odwadniania [godz.] Contact Times [h]	2	993,5	11,26b	80,4	0,91b	74,1	84,0b
		4	987,0	11,10ab	68,2	0,77a	70,9	79,8ab
		6	956,6	10,70a	61,5	0,69a	68,1	76,2a

Wartości średnie oznaczone tą samą literą w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności $\alpha=0,05$ / Mean values in column followed by the same letter are not statistically significantly different at level ($\alpha=0,05$).

największe znaczenie miał tu proces migracji barwników z owoców do wody lub roztworu odwadniającego. Podobne, jak w niniejszej pracy, 20% straty zawartości antocyjanów podczas 3-godzinnego odwadniania osmotycznego owoców borówek obserwowali Stojanovic i Silva [9]. Natomiast zdecydowanie niższe, jedynie 6% zmniejszenie zawartości antocyjanów podczas 2-godzinnego odwadniania wiśni stwierdzili Forni i wsp. [3].

Proces suszenia konwekcyjnego, w którym obok działania wysokiej temperatury następuje silne napowietrzanie surowca, spowodował bardzo duże zmniejszenie zawartości barwników antocyjanowych. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic zawartości antocyjanów ogółem pomiędzy suszami z owoców świeżych a otrzymanymi z owoców mrożonych. W porównaniu z suszem z owoców świeżych statystycznie istotnie niższą zawartość antocyjanów ogółem stwierdzono w suszach z owoców blanszowanych i odwadnianych osmotycznie. Wykazano jednak, że susze otrzymane z owoców po zabiegu blanszowania zawierają prawie dwukrotnie większą zawartość antocyjanów ogółem niż susze z owoców odwadnianych osmotycznie.

Analizując otrzymane wyniki stwierdzono, że straty antocyjanów wywołane procesem suszenia świeżych owoców borówki wysokiej wynosiły 69%. Dla porównania, mniejsze straty antocyjanów (41%) podczas suszenia owoców borówki wysokiej otrzymali Lohachoopol i wsp. [4]. Autorzy cytowanych badań zastosowali jednak prawie o połowę krótszy czas suszenia owoców. Bardzo wysokie straty antocyjanów (85%) podczas suszenia śliwek obserwowali z kolei Piga i wsp. [7].

Straty antocyjanów podczas suszenia owoców blanszowanych oraz mrożonych nie różniły się od tych, jakie wystąpiły w próbie owoców świeżych. Świadczy to o tym, że na mniejszą zawartość antocyjanów w suszach otrzymanych z owoców blanszowanych wpłynął sam zabieg blanszowania, natomiast proces suszenia spowodował straty zawartości antocyjanów, podobne jak w próbie kontrolnej. Odmienne zależności obserwowano podczas suszenia owoców odwadnianych osmotycznie. Suszenie owoców odwadnianych osmotycznie spowodowało zmniejszenie zawartości antocyjanów ogółem o ponad 85%. Zabieg odwadniania osmotycznego wpłynął istotnie na zwiększenie stopnia degradacji antocyjanów podczas procesu suszenia. Obserwowane straty barwników antocyjanowych podczas suszenia owoców odwadnianych osmotycznie wynikają prawdopodobnie z niekorzystnego oddziaływania na antocyjany produktów degradacji cukrów, takich jak furfural czy hydroksymetylofurfural. Badania Lohachoopol i wsp. [4] wykazały również, że zawartość antocyjanów w suszonych owocach borówki wysokiej poddawanych osmotycznemu odwodnieniu wynosiła 3,7 mg/g s.s., podczas gdy bez tej obróbki 4,3 mg/g s.s.

W celu dokładniejszego zbadania zmian zawartości poszczególnych związków antocyjanowych podczas procesu suszenia wykonano ich analizę chromatograficzną zarówno w owocach po obróbce wstępnej, jak i w otrzymanych suszach (tab. 2). Stwierdzono, że podczas procesu odwadniania osmotycznego nastąpiły większe straty

pochodnych malwidyny w porównaniu z pozostałymi badanymi antocyjanami. Wykazano, że w wyniku odwadniania osmotycznego owoców zawartość malwidyno-3-galaktozydu zmalała o 53%, natomiast zawartość delfinidyno-3-galaktozydu obniżyła się jedynie o 33%. Obserwowane większe straty pochodnych malwidyny spowodowały, że owoce po odwodnieniu charakteryzowały się innym udziałem procentowym poszczególnych antocyjanów w porównaniu z owocami świeżymi i mrożonymi. Przykładowo, udział procentowy malwidyno-3-galaktozydu w mrożonych owocach wynosił 22%, a w owocach po 2 godz. odwadniania osmotycznego jedynie 18%. Duże straty zawartości glikozydów malwidyny wystąpiły także podczas procesu blanszowania.

Proces suszenia nie spowodował istotnego zróżnicowania stopnia degradacji poszczególnych antocyjanów (tab. 2). Udział procentowy poszczególnych glikozydów antocyjanowych w suszach był zbliżony do tego, jaki obserwowano w użytych surowcu, np. procentowy udział malwidyno-3-galaktozydu w świeżych owocach był identyczny jak w otrzymanych suszach kontrolnych i wynosił 24%. Podobne wyniki podczas suszenia owoców winogron otrzymali Borsa i Stefano [2].

Podczas zabiegów wstępnych, takich jak blanszowanie oraz odwadnianie osmotyczne obserwowano obniżanie się pojemności przeciwutleniającej owoców borówki wysokiej (tab. 1). Najniższą pojemność przeciwutleniającą stwierdzono w owocach odwadnianych osmotycznie w ciągu 4 i 6 godz. W porównaniu z próbą kontrolną istotnie niższą pojemność przeciwutleniającą stwierdzono również w owocach po procesie blanszowania. Spośród zastosowanych w pracy zabiegów obróbki wstępnej jedynie zamrażanie owoców borówki wysokiej nie powodowało statystycznie istotnych zmian pojemności przeciwutleniającej. Zarówno proces blanszowania, jak i odwadnianie osmotyczne, powodowały wysokie straty pojemności przeciwutleniającej owoców. Ma to związek z wykazanymi wcześniej stratami związków polifenolowych, w tym antocyjanów. Należy przypuszczać, że przyczyną obserwowanych strat pojemności przeciwutleniającej podczas odwadniania osmotycznego była przede wszystkim migracja związków polifenolowych do czynnika odwadniającego oraz jednoczesny wzrost zawartości sacharozy w owocach.

Podczas suszenia owoców borówki wysokiej obserwowano dalsze obniżanie się pojemności przeciwutleniającej. Susze otrzymane z owoców niepoddanych żadnym zabiegom wstępnym (próby kontrolne) były doskonałym źródłem substancji przeciwutleniających, a ich pojemność wynosiła 117,7 μM Troloxu/g s.m. Bardzo zbliżoną pojemnością przeciwutleniającą cechowały się susze otrzymane z owoców mrożonych. Najniższą pojemnością przeciwutleniającą charakteryzowały się susze otrzymane z owoców odwadnianych osmotycznie w ciągu 6 godz.

Tabela 2

Zawartość oraz udział procentowy poszczególnych antocyjanów w owocach świeżych i po obróbce wstępnej oraz w suszach otrzymanych z owoców borówki wysokiej.

Contents and percentage contribution of individual anthocyanins in fresh, pretreatment and dried highbush blueberries.

Produkty Products			Antocyjany HPLC Anthocyanins HPLC														Ogółem Total		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
Owoce świeże Fresh fruits			[mg/100 g]	25,6	14,8	23,9	8,7	4,0	10,4	7,9	4,8	3,8	0,7	0,7	0,6	0,3	0,9	107,1	
			[%]	24	14	22	8	4	10	7	4	4	1	1	1	0	1		100
Owoce mrożone Frozen fruits			[mg/100 g]	25,0	14,9	23,9	10,6	5,6	11,0	7,5	4,9	5,5	0,9	0,7	0,9	0,4	0,8	112,6	
			[%]	22	13	21	9	5	10	7	4	5	1	1	1	0	1		100
Owoce blanszowane Blanching fruits			[mg/100 g]	15,7	9,9	16,6	7,9	3,9	9,5	7,4	4,6	3,6	0,7	0,7	0,6	0,3	0,9	82,2	
			[%]	19	12	20	10	5	12	9	6	4	1	1	1	0	1		100
Owoce odwadniane osmotycznie Osmo-dehydrated fruits	Czas odwadniania [godz.] Contact Times [h]	2	[mg/100 g]	11,2	7,3	11,9	6,2	2,9	7,9	6,4	3,7	3,6	0,6	0,5	0,7	0,2	0,7	63,8	
			[%]	18	11	19	10	5	12	10	6	6	1	1	1	0	1		100
		4	[mg/100 g]	9,2	5,8	8,7	5,2	2,2	6,3	6,2	3,2	2,6	0,6	0,6	0,4	0,2	0,6		51,8
			[%]	18	11	17	10	4	12	12	6	5	1	1	1	0	1		100
		6	[mg/100 g]	8,8	6,0	9,4	6,5	2,9	7,5	6,5	3,9	3,2	0,6	0,6	0,5	0,3	0,8		57,5
			[%]	15	10	16	11	5	13	11	7	6	1	1	1	1	1		100
Sus z owoców świeżych Dried of fresh fruits			[mg/100 g]	38,3	24,5	34,5	15,6	5,7	14,1	9,4	6,8	7,1	1,1	0,9	1,2	0,4	1,3	160,9	
			[%]	24	15	21	10	4	9	6	4	4	1	1	1	0	1		100
Sus z owoców mrożonych Dried of frozen fruits			[mg/100 g]	37,1	23,7	35,5	14,1	6,2	14,0	8,4	7,5	7,6	1,3	1,0	1,2	0,5	1,1	159,2	
			[%]	23	15	22	9	4	9	5	5	5	1	1	1	0	1		100
Sus z owoców blanszowanych Dried of blanching fruits			[mg/100 g]	26,9	17,8	25,9	11,8	4,9	15,1	11,9	6,9	6,1	0,9	1,0	0,8	0,4	1,2	131,6	
			[%]	20	14	20	9	4	11	9	5	5	1	1	1	0	1		100
Sus z owoców odwadnianych osmotycznie Dried of osmo- dehydrated fruits	Czas odwadniania [godz.] Contact Times [h]	2	[mg/100 g]	11,2	7,3	11,9	6,2	2,9	7,9	6,4	3,7	3,6	0,6	0,5	0,7	0,2	0,7	63,8	
			[%]	18	11	19	10	5	12	10	6	6	1	1	1	0	1		100
		4	[mg/100 g]	9,2	5,8	8,7	5,2	2,2	6,3	6,2	3,2	2,6	0,6	0,6	0,4	0,2	0,6		51,8
			[%]	18	11	17	10	4	12	12	6	5	1	1	1	0	1		100
		6	[mg/100 g]	7,7	5,4	7,6	4,9	1,9	5,9	5,3	3,7	3,1	0,4	0,5	0,5	0,2	0,6		47,7
			[%]	16	11	16	10	4	12	11	8	6	1	1	1	0	1		100

Objaśnienia:

1 - malwidyno-3-galaktozyd, 2 - malwidyno-3-glukozyd, 3 - malwidyno-3-arabinozyd, 4 - delfinidyno-3-galaktozyd, 5 - delfinidyno-3-glukozyd, 6 - delfinidyno-3-arabinozyd, 7 - petunidyno-3-galaktozyd, 8 - petunidyno-3-glukozyd, 9 - petunidyno-3-arabinozyd, 10 - cyjanidyno-3-galaktozyd, 11 - cyjanidyno-3-glukozyd, 12 - cyjanidyno-3-arabinozyd, 13 - peonidyno-3-galaktozyd, 14 - peonidyno-3-glukozyd.

Explanatory notes:

1 - malvidin-3-galactoside, 2 - malvidin-3-glucoside, 3 - malvidin-3-arabinoside, 4 - delphinidin-3-galactoside, 5 - delphinidin-3-glucoside, 6 - delphinidin-3-arabinoside, 7 - petunidin-3-galactoside, 8 - petunidin-3-glucoside, 9 - petunidin-3-arabinoside, 10 - cyanidin-3-galactoside, 11 - cyanidin-3-glucoside, 12 - cyanidin-3-arabinoside, 13 - peonidin-3-galactoside, 14 - peonidin-3-glucoside.

Podsumowując uzyskane wyniki badań należy stwierdzić, że proces suszenia świeżych owoców borówki wysokiej spowodował straty pojemności przeciwutleniającej wynoszące 41%. Obserwowane obniżenie aktywności przeciwutleniającej owoców borówek podczas ich suszenia związane było z wykazanim wcześniej zmniejszeniem zawartości związków polifenolowych. Podczas suszenia owoców poddanych wstępnie odwadnianiu osmotycznemu wystąpiły większe straty zawartości polifenoli i antocyjanów ogółem niż w przypadku suszenia owoców świeżych. Na uwagę zasługuje fakt, że pomimo stwierdzonych różnic zawartości polifenoli, w obu przypadkach obserwowany spadek pojemności przeciwutleniającej był bardzo zbliżony. Należy przypuszczać, że wynika to z możliwości powstawania w czasie suszenia owoców odwadnianych osmotycznie nowych związków o właściwościach przeciwutleniających, które niwelowały ubytek naturalnych antyoksydantów borówek. Związkami tymi mogły być produkty karmelizacji cukrów i reakcji Maillarda – furfural i hydroksymetylofurfural, którym z jednej strony przypisuje się właściwości przeciwutleniające, z drugiej zaś, destrukcyjny wpływ na antocyjany. Podwyższenie aktywności przeciwutleniającej suszonych śliwek obserwowali także Ping i wsp. [7]. Autorzy ci wykazali, że aktywność przeciwutleniająca suszów śliwkowych była ponad dwukrotnie wyższa w porównaniu z użytym surowcem, przy czym, podobnie jak w niniejszej pracy, zjawisku temu towarzyszył wysoki spadek zawartości antocyjanów i rutyny.

Wnioski

1. Susze otrzymane z owoców borówki wysokiej charakteryzują się wysoką pojemnością przeciwutleniającą wynoszącą od 68,1 do 102,3 μM Troloxu/g suszu.
2. Proces suszenia świeżych owoców powodował 41% straty pojemności przeciwutleniającej oraz dużą degradację związków polifenolowych, zwłaszcza barwników antocyjanowych.
3. Obróbka wstępna owoców przed procesem suszenia, polegająca na blanszowaniu lub odwadnianiu osmotycznym powodowała obniżenie pojemności przeciwutleniającej owoców. Przy zachowaniu tych samych parametrów suszenia, susze otrzymane z owoców świeżych charakteryzowały się istotnie wyższą pojemnością przeciwutleniającą w porównaniu z suszami otrzymanymi z owoców blanszowanych i odwadnianych osmotycznie.
4. Podczas procesu blanszowania oraz odwadniania osmotycznego najmniej stabilnymi barwnikami antocyjanowymi borówki wysokiej były pochodne malwidyny.

Praca naukowa finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych w latach 2004-2006 jako projekt badawczy nr 2P06T05826; była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszawa, 24–25 maja 2006.

Literatura

- [1] Borowska J., Zadernowski R., Markowski M., Białobrzewski I.: Wykorzystanie owoców krzewów mniej znanych w produkcji suszu. Zesz. Prob. Post. Nauk Rol, 1999, **46**, 301-309.
- [2] Borsa D., Stefano R.: Evoluzione dei polifenoli durante l'appassimento di uve a frutto Colorado. Rivista di Viticoltura e di Enologia, 2000, **53**, 4, 25-35.
- [3] Forni E., Polesello A., Torreggiani D.: Changes in anthocyanins in cherries (*Prunus avium*) during osmodehydration, pasterization and storage. Food Chem., 1993, **48**, 295-299.
- [4] Lohachoopol V., Szrednicki G., Craske J.: The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. J. Biomed. Biotechnol., 2004, **5**, 248-252.
- [5] Miller N. J., Rice-Evans C.: Spectrophotometric determination of antioxidant activity. Redox Report, 1996, **2**, 3, 161-171.
- [6] Peri C., Pompei G.: An assay different phenolic fraction in wines. Am. J. Enol. Vitic, 1971, **22**, 2, 55-58.
- [7] Piga A., Caro A., Corda G.: From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. J. Agric. Food Chem., 2003, **51**, 3675-3681.
- [8] Stojanovic J., Silva J. L.: Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, color and chemical properties of rabbiteye blueberries. Food Chem., 2006, **98**, 7, 8452-8457.
- [9] Strik B.: Blueberry: an expanding world berry crop. Chronica Horticulturae, 2005, **45**, 1, 7-12.
- [10] Swain T., Hillis W. E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Food Agric., 1959, **10**, 1, 63-68.
- [11] Zheng W., Wang S.: Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries and lingonberries. J. Agric. Food Chem., 2003, **51**, 502-509.

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHENOLICS COMPOUND CAPACITY IN DRIED HIGHBUSH BLUEBERRIES (*VACCINIUM CORYMBOSUM* L.)

S u m m a r y

In this study the effect of pretreatment and drying on the phenolics, anthocyanins contents and antioxidant capacity of highbush blueberries (cv. Bluecrop) was evaluated. Fresh and pretreated fruits (frozen, blanching, osmotic dehydrated) were dehydrated using air-drying method. Osmotic dehydrated and blanching fruits had significantly reduced total phenolics and anthocyanins contents as compared with fresh and frozen berries. The results showed that osmotic dehydration for a short time of up to 2 h minimized losses of the anthocyanins content in the blueberries. During air-dehydration a fresh blueberries were lost 39% phenolics content and 41% decrease of antioxidant capacity. Although pretreatment (osmotic concentration and blanching) and air dehydration influenced loss of antioxidant content, the dehydrated blueberries were high antioxidant capacity ranged from 68.1 to 102.3 μM Trolox eq/g.

Key words: antioxidant capacity, highbush blueberries, dried fruits, anthocyanins ☒

ELŻBIETA DŁUŻEWSKA, ARKADIUSZ SZTERK

WPŁYW WYBRANYCH PRZECIWUTLENIACZY NA STABILNOŚĆ BARWY NAPOJÓW BEZALKOHOLOWYCH Z DODATKIEM β-KAROTENU

Streszczenie

Celem pracy było zwiększenie stabilności barwy napojów bezalkoholowych otrzymanych z emulsji napojowych zawierających naturalny β-karoten. Zakres pracy obejmował określenie wpływu rodzaju i ilości przeciwutleniacza na stabilność barwy napojów. Naturalne przeciwutleniacze (kwas L-askorbinowy lub/i (+)-katechinę) dodawano bezpośrednio do napojów w ilości od 100 do 400 mg/l napoju.

Stabilność barwy napojów określano na podstawie wyników testu przechowalniczego, czasu połowicznego rozpadu β-karotenu oraz oznaczenia zawartości karotenoidów przy użyciu HPLC. Stwierdzono, że najefektywniejszym przeciwutleniaczem była (+)-katechina dodana do napojów w ilości 200 mg/l. Kwas L-askorbinowy stabilizował barwę napojów, lecz nie zapobiegł całkowitemu rozkładowi β-karotenu. Barwa napojów z dodatkiem 200 mg/l kwasu L-askorbinowego ulegała ciemnieniu. Jednoczesne zastosowanie (+)-katechiny i kwasu L-askorbinowego nie spowodowało poprawy trwałości barwy napojów w porównaniu z próbkami zawierającymi 200 mg (+)-katechiny.

Słowa kluczowe: napoje, barwa, β-karoten, kwas L-askorbinowy, katechina

Wprowadzenie

Napoje bezalkoholowe o smaku owocowym i zmętnieniu typowym dla naturalnych soków są otrzymywane z emulsji substancji aromatycznych. Emulsje stosowane w przemysłowej produkcji napojów bezalkoholowych należą do emulsji typu olej w wodzie. Produkowane są w formie skoncentrowanej, a następnie rozcieńczane w roztworze cukru lub innej substancji słodzącej w celu otrzymania napoju [29]. W napojach bezalkoholowych emulsje zapewniają zapach, smak, barwę oraz odpowiednie zmętnienie [1]. Typowymi składnikami emulsji napojowej są aromaty i czynniki obciążające w fazie olejowej oraz woda, emulgatory, kwasy spożywcze, konser-

Dr inż. E. Dłużewska, mgr inż. A. Szterk, Katedra Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

wanty w fazie wodnej. W zależności od rodzaju preparatu barwnika może on być dodawany do fazy olejowej lub wodnej [2]. Barwniki naturalne oraz syntetyczne różnią się znacznie właściwościami fizycznymi, a tym samym stabilnością i odpornością na działanie czynników fizycznych i chemicznych. Zanika natomiast podział na barwniki rozpuszczalne w wodzie i w tłuszczach. Stosowanie emulgatorów czy odpowiedniego rozdrobnienia umożliwia otrzymanie barwnika o różnej rozpuszczalności [6].

Jednym z problemów technologicznych przemysłu napojów bezalkoholowych jest zmniejszanie się intensywności zabarwienia napojów w czasie przechowywania. Przyczyną tego zjawiska jest utlenianie się naturalnych barwników [7].

Zwiększenie stabilności naturalnych karotenoidów uzyskuje się przez dodanie przeciwutleniaczy oraz synergentów [10]. Większą odporność karotenoidów na utlenianie można uzyskać dzięki synergistycznemu oddziaływaniu niektórych emulgatorów z naturalnymi przeciwutleniaczami [7].

Barwę napojów może stabilizować dodatek kwasu cytrynowego lub askorbinowego. Kwasy te wykazują działanie przeciwutleniające. Pełnią one również wiele innych ważnych funkcji w napojach m.in. przez obniżanie pH środowiska zapobiegają rozwojowi drobnoustrojów, regulują poziom kwasowości i wzmacniają cechy smakowe napoju [27]. Kwas L-askorbinowy wykazuje zdolność do neutralizacji wielu wolnych rodników oraz tlenu singletowego [13]. Jednak kwas askorbinowy może w czasie obróbki termicznej powodować ciemnienie napojów, a nawet destabilizację barwników [10].

W ostatnich latach coraz większym zainteresowaniem technologów żywności cieszą się ekstrakty z różnych ziół i przypraw. Zawarte w tych ekstraktach związki wykazują silne właściwości przeciwutleniające. Takie właściwości ma również herbata. Zawdzięcza je obecności katechin. Flawonoidy, w tym katechiny, mogą tworzyć kompleksy z jonami metali katalizującymi reakcje utleniania, zapobiegać reakcjom wywołanym przez aktywny atom tlenu, unieczynniać wolne rodniki, hamować aktywność enzymów utleniających [14]. Aktywność przeciwutleniającą katechiny zawdzięczają obecności grup hydroksylowych w pierścieniu benzenowym [12]. Katechiny biorą udział w przerywaniu utleniania różnych związków poprzez oddanie atomu wodoru grupy hydroksylowej i przekształcenie się w rodniki fenoksylowe [14, 17]. Właściwości przeciwutleniające (+)-katechiny są zbliżone do właściwości kwasu L-askorbinowego i α -tokoferolu [21] i silniejsze niż niektórych przeciwutleniaczy pochodzących z ziół [18].

Celem pracy było zwiększenie trwałości barwy napojów bezalkoholowych otrzymanych z emulsji napojowych zawierających naturalny β -karoten poprzez dodatek przeciwutleniaczy oraz porównanie efektywności działania kwasu L-askorbinowego, katechiny i ich mieszaniny.

Material i metody badań

Do badań użyto preparatów gumy arabskiej (Valgum i Valspray A), preparatu estryfikowanej kalafonii (Valrosin) firmy Valmar, naturalnego olejku pomarańczowego firmy JAR – Jaskulski Aromaty, kwasu cytrynowego, kwasu L-askorbinowego oraz benzoesu sodu firmy Polskie Odczynniki Chemiczne, Gliwice, (+)-katechinę C1251 firmy Sigma-Aldrich.

Ekstrakt olejowy β -karotenu otrzymywano z marchwi odmiany Karotka. Wyciśnięty sok z marchwi poddawano koagulacji, następnie z koagulatu ekstrahowano β -karoten olejem rzepakowym zgodnie z procedurą przedstawioną w pracy Dłużewskiej i Bednarek [8].

Emulsje napojowe otrzymywano zgodnie z recepturą: aromat (olejek pomarańczowy) – 5%, czynnik obciążający (Valrosin) – 10%, ekstrakt β -karotenu – 5%, guma arabska (Valgum + Valspray 1: 1) – 12%, benzoesan sodu – 0,1%, kwas cytrynowy – 1%, woda destylowana do 100%.

Emulsje otrzymywano stosując homogenizację dwustopniową przy użyciu homogenizatora typu APV 1000, firmy APV. Na pierwszym stopniu homogenizacji stosowano ciśnienie 55 MPa, na drugim 18 MPa.

Napoje otrzymywano przez zdyspergowanie 3 g emulsji w 1 l 5% wodnego roztworu cukru. Napoje zakwaszono 2 M kwasem cytrynowym do pH = 3,5. Do napojów dodawano 100, 200 i 400 mg (+)-katechiny lub 100 i 200 mg kwasu L-askorbinowego lub mieszaninę katechiny i kwasu L-askorbinowego w ilości 200 lub 300 mg na 1 l napoju.

Zawartość β -karotenu oznaczano zgodnie z PN-90 A-75101/12 [24]. Absorbancję napojów rozcieńczonych wodą destylowaną w stosunku 1:10 mierzono przy długości fali 450 nm, przy użyciu spektrofotometru Helios β - Thermo Spectronic.

W celu wyznaczenia czasu połowicznego rozpadu β -karotenu pomiary absorbancji wykonywano przez siedem kolejnych dni prowadzenia testu przechowalniczego i uzyskane wyniki przeliczano na zawartość β -karotenu w napoju. Do matematycznego opisu zależności stężenia β -karotenu od czasu zastosowano logarytmiczny model pierwszego stopnia, który scharakteryzowano zgodnie z równaniem:

$$\ln S = \ln S_0 - k_1 t$$

gdzie t – czas, S – stężenie β -karotenu w czasie t , S_0 – stężenie β -karotenu w czasie t_0 , k_1 – stała prędkości pierwszego rzędu. Połowiczny czas rozpadu β -karotenu wyliczano przy użyciu programu Microsoft Excel, stosując statystyczną metodę regresji.

Karotenoidy rozdzielano przy użyciu HPLC [5, 11, 23]. Ekstrakcję karotenoidów (30 min, temp. $20 \pm 2^\circ\text{C}$) z próbek napojów prowadzono mieszaniną acetonu i heksanu (1: 1, v/v). Do mieszaniny dodawano 100 $\mu\text{g/l}$ butylohydroksytoluenu. Po rozdzieleniu faz i osuszeniu bezwodnym siarczanem sodu fazę heksanową odparowywano i prze-

noszono ilościowo, po przefiltrowaniu roztworu przez filtr teflonowy o porowatości 0,45 μm , przy użyciu mieszaniny dichlorometanu w metanolu (45: 50), do fiolek o pojemności 2 ml. W przypadku analizy preparatu barwnika pobierano dwie krople ekstraktu β -karotenu (0,08 ml) i rozpuszczano w mieszaninie dichlorometanu w metanolu. Rozdział prowadzono przy użyciu kolumny Hewlett Packard ODS Hypersil (100 mm \times 4,6 mm, średnica ziaren 5 μm). Stosowano fazę ruchomą (acetonitryl) o przepływie 0,5 ml/min oraz detektor UV-Vis SPD – M10AVP firmy Shimadzu. Na szczyt kolumny наносzono 10 μl próbki, detekcję karotenoidów prowadzono przy długości fali $\lambda = 450 \text{ nm}$.

Test przechowalniczy prowadzono przez 12 tygodni w temp. $20 \pm 2^\circ\text{C}$ przy dostępie światła dziennego. Napoje przechowywano w butelkach z PET o pojemności 1 l. Stosowano oznaczenia: (–) – całkowity zanik barwy, (+) – barwa lekko intensywna, (+ +) – barwa średnio intensywna, (+ + +) – barwa intensywna.

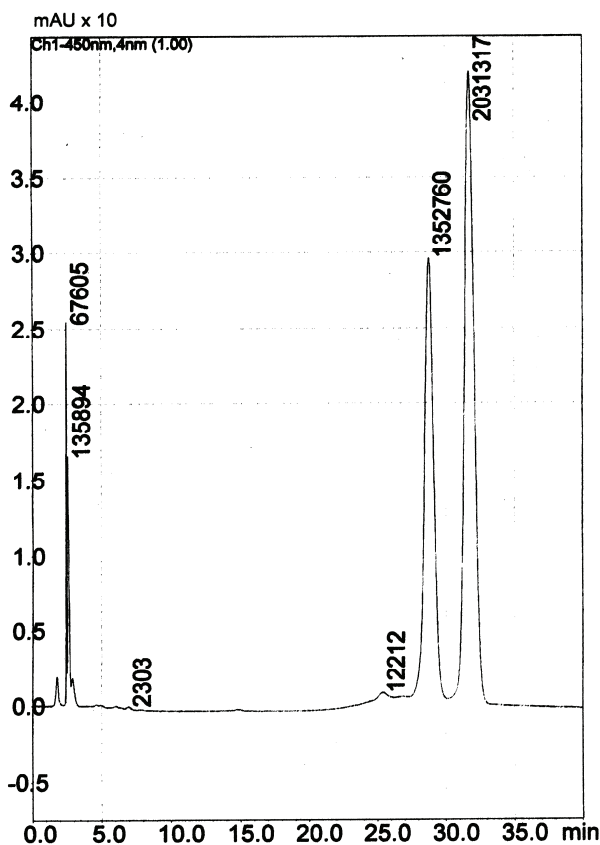
Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu komputerowego Statgraphics, Plus Version 5.1, stosując jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA oraz wieloczynnikowy test porównawczy. Obliczenia statystyczne prowadzono przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Napoje bezalkoholowe barwiono olejowym ekstraktem β -karotenu otrzymanym z marchwi. Chromatogram karotenoidów preparatu barwnika przy długości fali $\lambda = 450 \text{ nm}$ przedstawiono na rys. 1. W preparacie barwnika stwierdzono obecność α - i β -karotenu. Wymienionym karotenoidom odpowiadają piki uzyskane w 29. i 33. min analizy. Potwierdzeniem tego stwierdzenia jest porównanie widma obu pików w świetle widzialnym (rys. 2) z widmami przedstawionymi przez Rodriguez-Amaya [25]. Stosunek zawartości α - i β -karotenu w marchwi zależy od odmiany oraz wielu czynników środowiskowych i wynosi średnio 1: 2 [25]. Otrzymany preparat charakteryzował się stosunkiem zawartości izomeru α do β 1: 1,5. Prawdopodobnie mniejsza zawartość β -karotenu w preparacie barwnika niż w świeżej marchwi spowodowana była przekształceniem się, w procesie otrzymywania preparatu, formy β w bardziej stabilną formę α -karotenu.

Biorąc pod uwagę stosunkowo niską stabilność naturalnego β -karotenu [4, 8, 26] podjęto próbę zwiększenia trwałości barwy napojów poprzez dodatek kwasu L-askorbinowego, (+)-katechiny lub mieszaniny wymienionych przeciwutleniaczy.

Stwierdzono zmniejszenie zawartości karotenoidów w czasie przechowywania napojów zarówno w przypadku próbek napojów z dodatkiem, jak i bez dodatku kwasu L-askorbinowego (rys. 3 i 5). Jednak już w pierwszym dniu pomiarów zauważono

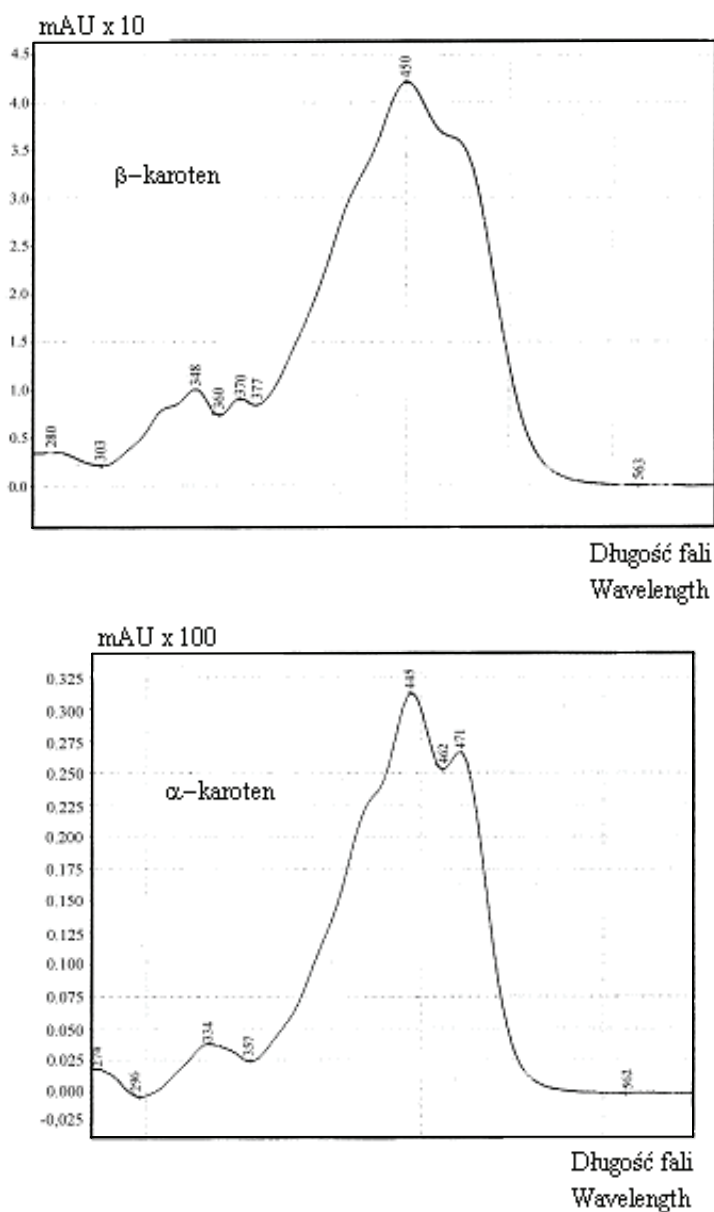


Rys. 1. Chromatogram HPLC karotenoidów zawartych w ekstrakcie β -karotenu.

Fig. 1. Carotenoid HPLC profile of β -carotene extract.

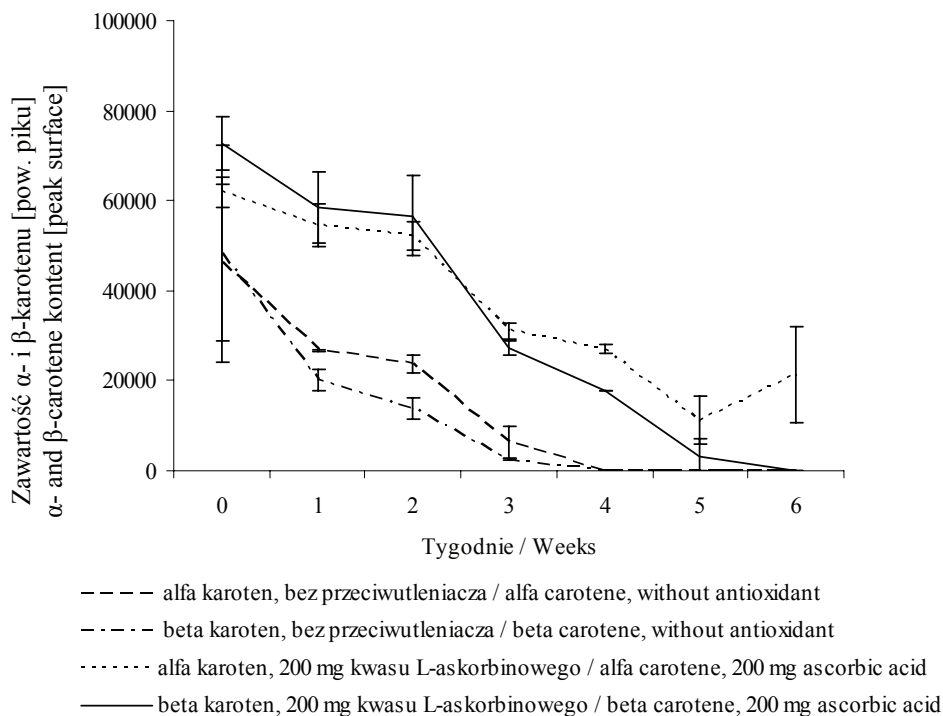
korzystny wpływ dodatku kwasu L-askorbinowego na stabilność α - i β -karotenu. Zawartość obu form karotenoidów była większa w napojach z dodatkiem kwasu. Napoje w procesie otrzymywania są intensywnie napowietrzane, gdy emulsja napojowa mieszana jest z roztworem cukru. Destrukcyjne oddziaływanie na karotenoidy tak wprowadzonego do napojów tlenu zostało znacznie ograniczone na skutek dodatku kwasu L-askorbinowego. W próbkach napojów bez dodatku kwasu obie formy karotenoidów uległy całkowitemu rozkładowi po 4 tygodniach przechowywania. Natomiast w próbkach zawierających kwas L-askorbinowy β -karoten uległ rozłożeniu dopiero po 6 tygodniach przechowywania (rys. 3). Wprawdzie obserwowano również spadek zawartości α -karotenu, ale po 6 tygodniach przechowywania α -karoten był obecny w próbkach napojów stabilizowanych kwasem L-askorbinowym. Na podstawie analizy wyników stwierdzono, zgodnie z sugestiami Sweeneya i Marsha [28], że forma β -karotenu jest mniej stabilna niż α -karotenu. A żółta barwa napojów utrzymująca się przez 8 tygodni

przechowywania (tab. 1) była wynikiem obecności w próbkach napojów α -karotenu, jak również innych produktów przemian karotenoidów. Napoje bez dodatku kwasu po 8 tygodniach uległy całkowitemu odbarwieniu.



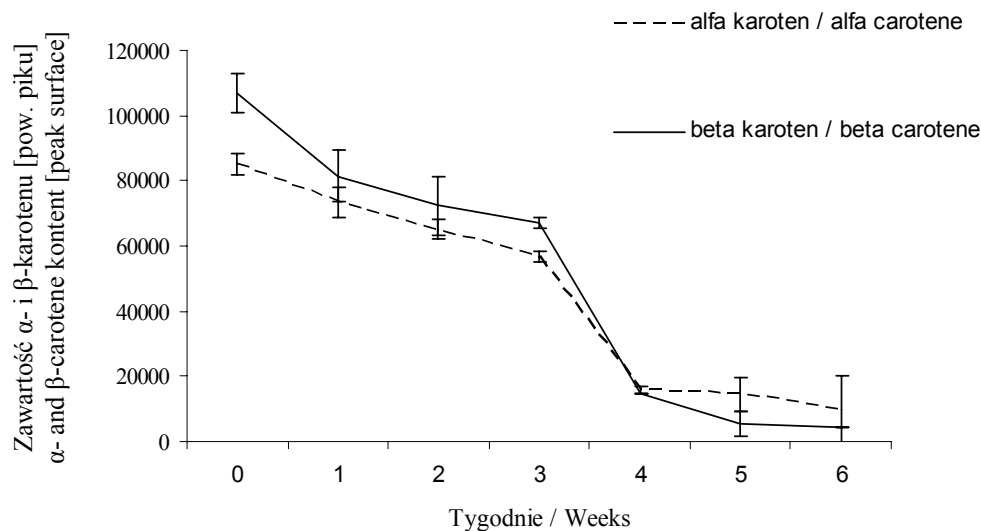
Rys. 2. Widmo absorpcyjne w świetle widzialnym α - i β -karotenu.

Fig. 2. The visible Ligot absorption spectrum of α - and β -carotene.



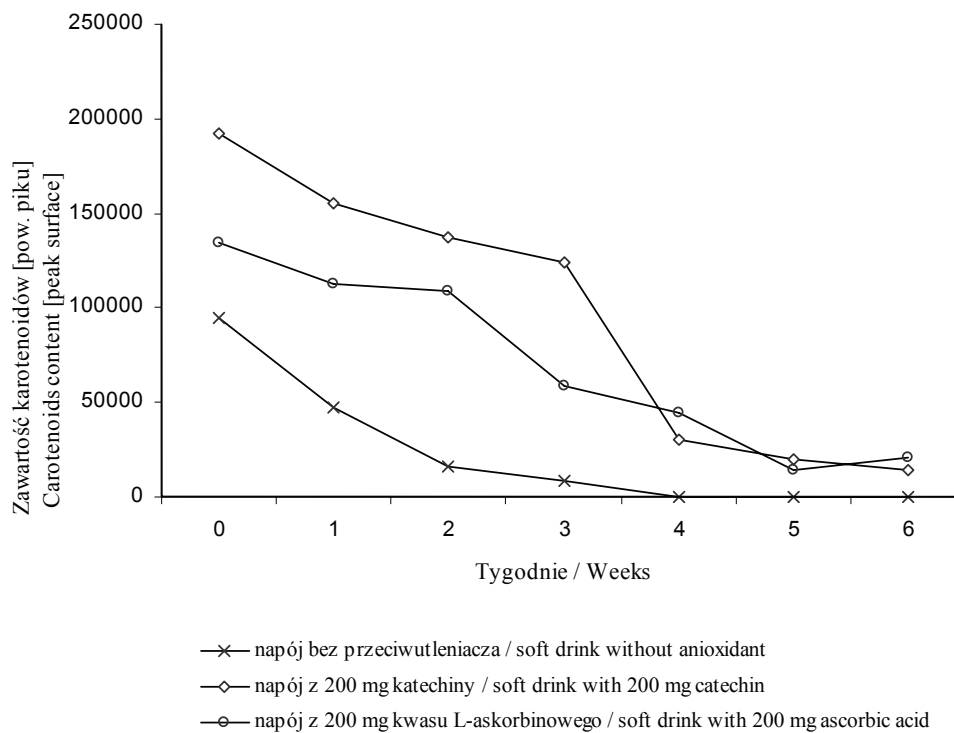
Rys. 3. Zawartość α - i β -karotenu w napojach bezalkoholowych.

Fig. 3. α - and β -carotene content in beverages.



Rys. 4. Zawartość α - i β -karotenu w napojach z dodatkiem 200 mg katechiny.

Fig. 4. α - i β -carotene content in beverages with 200 mg catechin.



Rys. 5. Zawartość sumy karotenoidów w napojach bezalkoholowych.

Fig. 5. Carotenoids content in soft beverages.

Uzyskane wyniki są częściowo zgodne z danymi literaturowymi, w których wykazano, że kwas L-askorbinowy ma właściwości ochronne w stosunku do β -karotenu [3, 9, 15]. Kwas L-askorbinowy stabilizował β -karoten w procesie otrzymywania napojów i istotnie wydłużył jego czas połowicznego rozpadu, ale w większym stopniu stabilizował α -karoten i nie zapobiegł całkowitemu rozpadowi β -karotenu po 6 tygodniach przechowywania próbek napojów.

Zwiększenie stężenia kwasu L-askorbinowego w zakresie od 100 do 200 mg/l napoju spowodowało wzrost stabilności karotenu, ale równocześnie ciemnienie napojów (tab. 1). Napoje, do których dodano 200 mg kwasu L-askorbinowego zmieniały barwę w trakcie przechowywania na żółto-brunatną. Taką zmianę barwy napojów można tłumaczyć tym, że kwas L-askorbinowy chroniąc karotenoidy przed działaniem tlenu sam ulega utlenieniu. Produkty rozpadu kwasu L-askorbinowego, takie jak furfural i jego pochodne, łatwo reagują z aminokwasami według mechanizmu reakcji Maillarda i tworzą produkty o zabarwieniu brunatnym [20]. Poza tym w wyniku utleniania β -karotenu powstaje 5,6-epoksyd, który ulega izomeryzacji do 5,8-epoksydu mutachromu, dalszy rozpad β -karotenu prowadzi do tworzenia się bardzo aktywnych mało-

cząsteczkowych związków karbonylowych [19]. Powstałe związki karbonylowe mogą uczestniczyć w reakcjach Maillarda przyspieszając proces brunatnienia.

Tabela 1

Czas połowicznego rozpadu β -karotenu oraz wyniki testu przechowalniczego.
The half-life disintegration of β -carotene and results of storage test.

Rodzaj przeciwutleniacza Kind of antioxidant	Wielkość dodatku [mg/l napoju] Amount of additive [mg/l soft drink]	Czas połowicznego rozpadu [dni] Half-life disintegration [days]	Intensywność barwy Intensity of colour			
			dzień 1 day 1	po 4 tyg. after 4 weeks	po 8 tyg. after 8 weeks	po 12 tyg. after 12 weeks
Brak Lack	0	20 ^a	+++	+	-	-
Kwas L-askorbinowy Ascorbic acid	100	34 ^b	+++	++	+	-
	200	47 ^c	+++	+++	++	++
(+) -katechyna (+) -catechin	100	49 ^c	+++	++	++	+
	200	101 ^f	+++	+++	++	++
	400	179 ^g	+++	+++	+++	++
Kwas L-askorbinowy Ascorbic acid + (+) -katechyna (+) -catechin	100 + 100	68 ^d	+++	++	++	+
	100 + 200	85 ^e	+++	++	++	++

Wartości średnie oznaczone różnymi indeksami różnią się między sobą statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$) / Mean values denoted by the different indices differ statistically significantly from each other ($\alpha = 0.05$).

Wykazano korzystny wpływ dodatku (+)-katechiny na stabilność barwy napojów bezalkoholowych (tab. 1). Stwierdzono, że dodatek (+)-katechiny do napojów istotnie wydłużył okres połowicznego rozpadu β -karotenu. Czas połowicznego rozpadu barwnika w napojach bez dodatku przeciwutleniacza wynosił 20 dni, natomiast napojów z dodatkiem 200 mg (+)-katechiny 100 dni. Zwiększenie stężenia katechiny do 400 mg spowodowało dalsze wydłużenie czasu połowicznego rozpadu β -karotenu. Jednak w napojach z dodatkiem 400 mg (+)-katechiny obserwowano po 12 tygodniach przechowywania niewielką zmianę tonu barwy napojów. Takiej zmiany nie obserwowano w przypadku napojów z 200 mg dodatkiem katechiny. Napoje te charakteryzowały się intensywną żółtą barwą przez cały czas prowadzenia testu przechowalniczego.

Na rys. 4. przedstawiono zmiany zawartości α i β -karotenu w napojach z dodatkiem 200 mg/l (+)-katechiny. Stwierdzono, że (+)-katechyna, tak jak kwas L-askorbinowy, stabilizowała karotenoidy już w czasie otrzymywania napojów (większa początkowa zawartość karotenoidów w napojach z dodatkiem przeciwutleniacza

niż w napojach bez dodatku katechiny). W czasie przechowywania napojów z dodatkiem katechiny obserwowano zmniejszenie zawartości obu form karotenoidów. Bezpośrednio po otrzymaniu napojów zawartość β -karotenu była większa niż α -karotenu o 22 000 jednostek powierzchni pików. Jednak już po pierwszym tygodniu przechowywania nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między zawartością obu karotenoidów w napojach z dodatkiem katechiny. Po 6 tygodniach przechowywania w napojach był obecny zarówno α - jak i β -karoten. Nie stwierdzono całkowitego rozkładu β -karotenu, tak jak w przypadku napojów z dodatkiem kwasu L-askorbinowego. Można zatem wnioskować, że (+)-katechyna wykazuje silniejsze działanie przeciwutleniające w stosunku do β -karotenu niż kwas L-askorbinowy. Powyższe stwierdzenie jest zgodne z wynikami pracy Nako i wsp. [21], którzy wykazali silniejsze działanie przeciwutleniające (+)-katechiny niż kwasu L-askorbinowego.

Po 6 tygodniach przechowywania średnia zawartość karotenoidów (rys. 5) w napojach z dodatkiem (+)-katechiny nie różniła się istotnie od zawartości barwników w napojach stabilizowanych kwasem L-askorbinowym i jednocześnie była mniejsza o ok. 90% od zawartości karotenoidów w napojach analizowanych bezpośrednio po ich otrzymaniu. Sugeruje to, że barwa tych napojów powinna zdecydowanie ulec osłabieniu. Na podstawie wyników testu przechowalniczego nie stwierdzono istotnej zmiany barwy, po 12 tygodniach została ona oceniona jako średnio intensywna. Prawdopodobnie żółta barwa napojów pochodziła nie tylko od karotenoidów, ale również od barwnych produktów ich przemian oraz (+)-katechiny. Utlenianie katechin prowadzi do powstania rodników fenoksylowych, które ulegają dalszemu utlenianiu do chinonów lub mogą się włączyć do innych reakcji charakterystycznych dla rodników [14]. Można przypuszczać, że produkty rozpadu katechin mogą reagować z karotenoidami lub ich pochodnymi w wyniku czego powstają produkty o żółtym zabarwieniu.

W ostatnich latach ukazuje się wiele prac na temat oddziaływań synergistycznych pomiędzy różnymi przeciwutleniaczami [13, 15, 16, 22]. W pracy również podjęto próbę stabilizacji β -karotenu mieszaniną (+)-katechiny i kwasu L-askorbinowego. Stosując mieszaninę przeciwutleniaczy uzyskano istotne wydłużenie okresu połowicznego rozpadu β -karotenu w porównaniu z próbkami napojów bez dodatku przeciwutleniacza (tab. 1), lecz czas ten był krótszy w porównaniu z próbkami, do których dodano 200 mg (+)-katechiny. Tak samo barwa napojów z dodatkiem mieszaniny przeciwutleniaczy została oceniona jako jaśniejsza niż barwa napojów z dodatkiem samej katechiny. Z kolei zwiększenie wielkości dodatku kwasu L-askorbinowego w mieszaninie do 200 mg na 1 l napoju spowodowało, podobnie jak w napojach z dodatkiem samego kwasu, wyraźne pociemnienie barwy napojów.

Wnioski

1. Kwas L-askorbinowy stabilizował barwę napojów, lecz nie zapobiegł całkowitemu rozkładowi β -karotenu. Żółta barwa napojów z dodatkiem kwasu L-askorbinowego po 6 tygodniach przechowywania była wynikiem obecności w napojach α -karotenu oraz produktów rozpadu β -karotenu. Zwiększenie dodatku kwasu ze 100 do 200 mg na 1 l napoju powodowało ciemnienie napojów.
2. Dodatek (+)-katechiny do napojów w większym stopniu powodował poprawę trwałości ich barwy niż dodatek kwasu L-askorbinowego. Po 6 tygodniach przechowywania napoje z dodatkiem 200 mg/l (+)-katechiny zawierały zarówno α -, jak i β -karoten.
3. Jednoczesne zastosowanie (+)-katechiny i kwasu L-askorbinowego nie spowodowało poprawy trwałości barwy napojów w porównaniu z próbkami zawierającymi 200 mg (+)-katechiny. Barwa napojów zawierających 100 mg/l katechiny i 200 mg/l kwasu L-askorbinowego ciemniała w czasie przechowywania.
4. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń można następująco uszeregować efektywność stosowanych przeciwutleniaczy: (+)-katechina > mieszanina przeciwutleniaczy > kwas L-askorbinowy.

Literatura

- [1] Buffo R., Reineccius G.: Beverage emulsions and the utilization of gum acacia as emulsifier/stabilizer. *Perfumer & Flavorist*, 2000, **25**, 24-44.
- [2] Buffo R., Reineccius G.: Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsions. *Food Hydrocolloids*, 2001, **15**, 53-66.
- [3] Burton G.W., Ingold K.U.: β -carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science*, 1984, **224**, 569-573.
- [4] Chen B.H., Chen T.M., Chien J.T.: Kinetic model for studying the isomerization of α - and β -carotene during heating and illumination. *J. Agric. Food Chem.*, 1994, **42**, 2391-2397.
- [5] Chen B.H., Peng H.Y., Chen H.E.: Changes of carotenoids, color, and vitamin A contents during processing of carrot juice. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 1912-1918.
- [6] Czapski J.: Rola i kształtowanie barwy produktów spożywczych. W: Materiały konferencyjne „Food product development – Opracowanie nowych produktów żywnościowych”. Poznań 1995, s. 173-183.
- [7] Czapski J.: Naturalne barwniki spożywcze – kierunki rozwoju. *Przem. Spoż.*, 1999, **4**, 16-17.
- [8] Dłużewska E., Bednarek P.: Wpływ wybranych czynników na stabilność β -karotenu w napojach bezalkoholowych. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2005, **4**, (2), 59-69.
- [9] Gasik A., Mitek M.: Bezalkoholowe napoje orzeźwiające cz. I. Surowce i materiały pomocnicze. *Przem. Spoż.*, 2005, **6**, 36-41.
- [10] Giese J.: Developments in beverage additives. *Food Technol.*, 1995, (49), **9**, 64-72.
- [11] Goldman M., Horev B., Saguy I.: Decolorization of β -carotene in model systems simulating dehydrated foods. Mechanism and kinetic principles. *J. Food Sci.*, 1983, **48**, 751-754.
- [12] Heijnen C.G.M., Haenen G.R.M., Vekemans J.A.J., Bast A.: Peroxynitrite scavenging of flavonoids: structure activity relationship. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2001, **10**, 199-206.

- [13] Hras A. R., Hadolin M., Kenez Z.: Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chem.*, 2000, **71**, 229-233.
- [14] Janeiro P., Brett A.M.: Catechin electrochemical oxidation mechanisms. *Analytical Chemical Acta*, 2004, **518**, 109-115.
- [15] Krinsky N.I., Yeum K.J.: Carotenoid – radical interactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, **305**, 754-760.
- [16] Madsen H.L., Bertelsen G.: Spices as antioxidants. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6**, 271-277.
- [17] Martinez S., Valek L., Petrovic Z., Metikos-Hukovic, Piljac M.J.: Catechin antioxidant action at various pH studied by cyclic voltammetry and PM3 semiempirical calculations. *J. Electroanalytical Chem.*, 2005, **584**, 92-99.
- [18] McCarthy T.L., Kerry J.P., Kerry J.F., Lynch P.B., Buckley D.J.: Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 45-52.
- [19] Minguez-Mosquera M.I., Hornero-Mendez D., Perez-Galvez A.: Carotenoids and provitamin A in functional foods. CRC Press LLC, 2002.
- [20] Moszczyński P., Pyć R.: *Biochemia witamin (cz. II). Witaminy lipofilne i kwas askorbinowy*. Wyd. Nauk. PWN. Warszawa 1999, s.117.
- [21] Nako M., Takio S., Ono K.: Alkyl peroksy radical-scavenging activity of catechins. *Phytochemistry*, 1998, **49**, 2379-2382.
- [22] Nogala-Kalucka K., Korczak J., Dratwia M., Lampart-Szczapa E., Siger A., Buchowski A.: Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated test. *Food Chem.*, 2005, **93**, 227-235.
- [23] Pesek C.A., Warthesen J.J.: Characterisation of the photodegradation of β -carotene in aqueous model systems. *J. Food Sci.*, 1988, **(53)**, **5**, 1517-1520.
- [24] PN-90A-75101/12. *Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie sumy karotenoidów i β -karotenu*.
- [25] Rodriguez-Amaya D.B.: Some physicochemical properties of carotenoids. In: *A guide to Carotenoid analysis in foods*. ILSI Press USA, 2001, pp. 14-22.
- [26] Rodriguez-Amaya D.B., Kimura M.: *Harvest Plus Handbook for Carotenoid Analysis*, 2004, pp. 2-25.
- [27] Rutkowski A.: Substancje dodatkowe w produkcji napojów bezalkoholowych. *Przem. Spoż.*, 1996, **2**, 16-18.
- [28] Sweeney J.P. Marsh A.C.: Effect of processing on provitamin A in vegetables. *J. Am. Diet. Assoc.*, 1971, **59**, 238-234.
- [29] Tan C.-T., Hilmes J.W.: Stability of beverage emulsions. *Perfumer & Flavorist*, 1988, **13**, 23-41.


EFFECT OF SELECTED ANTIOXIDANTS ON COLOUR STABILITY OF SOFT BEVERAGES WITH ADDITION OF β -CAROTENE

S u m m a r y

The aim of the paper was to improve of colour stability in soft beverages obtained from beverage emulsions with natural β -carotene addition. The influence of the kind and amount of antioxidants on the stability of beverage colour was determined.

The natural antioxidants (L-ascorbic acid and/or (+)-catechin) were added directly to the beverages from 100 to 400 mg/l. Colour stability were investigated on the basic of the store test. The half-life disintegration of β -carotene was calculated. The amount of carotenoids was determined by HPLC techniques.

As a conclusion it was affirmed that the most effective antioxidant was the (+)-catechin once added to the beverages in amount 200 mg/l. The colour stability was increased by adding the L-ascorbic acid but it did not prevent against the total degradation of β -carotene. The soft drinks with 200 mg/l L-ascorbic acid were darkening. Mixing of the antioxidants did not give improvement of colour stability in soft drinks in comparison with beverages with (+)-catechin.

Key words: beverages, colour, β -carotene, ascorbic acid, catechin 

DARIUSZ KOWALCZYK, MAŁGORZATA STRYJECKA,
BARBARA BARANIAK

PORÓWNANIE WPŁYWU ACETYLACJI NA WŁAŚCIWOŚCI FUNKCJONALNE HYDROLIZATÓW BIAŁKOWYCH OTRZYMANÝCH Z NASION ROŚLIN STRĄCZKOWYCH

Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu procesu acetylacji przeprowadzonej podczas izolowania białek z nasion wybranych roślin strączkowych na właściwości funkcjonalne otrzymanych hydrolizatów białkowych.

Z nasion soczewicy, wyki oraz dwóch odmian grochu ekstrahowano białka z równoczesną ich modyfikacją bezwodnikiem kwasu octowego. Białka wytrącano z ekstraktów w punkcie najmniejszej rozpuszczalności (pH = pI), a uzyskane koagulatory odwadniano przez wirowanie i suszenie, otrzymując koncentraty. Koncentraty białek niemodyfikowanych otrzymywano w sposób analogiczny, z pominięciem w trakcie ekstrakcji czynnika modyfikującego. Koncentraty białkowe poddawano hydrolizie trypsyną i suszono poprzez liofilizację. W hydrolizatach białek modyfikowanych i niemodyfikowanych (próba kontrolna) oznaczano rozpuszczalność białka, absorpcję wody i tłuszczu, aktywność emulgowania, trwałość emulsji, wydajność pienienia oraz trwałość piany.

Chemiczna modyfikacja białek nasion analizowanych roślin strączkowych na ogół polepszyła właściwości funkcjonalne otrzymanych hydrolizatów. Rozpuszczalność białka hydrolizatów uzyskanych z preparatów chemicznie modyfikowanych była wyższa niż hydrolizatów kontrolnych w przypadku soczewicy i grochu odmiany Grapis, natomiast uległa zmniejszeniu w hydrolizatach z grochu odmiany Piast i wyki. Badane hydrolizaty miały wysoką zdolność absorpcji wody, wynoszącą ~300% oraz zdolność absorpcji tłuszczu, kształtującą się na poziomie 60-69%. Acylowanie zwiększyło wodochłonność wszystkich hydrolizatów (w największym stopniu o 74%) oraz pochłanianie tłuszczu w granicach od 4 do 7%. Aktywność emulgowania i trwałość emulsji także uległy zwiększeniu, osiągając w hydrolizatach białka wyki maksymalną wartość, odpowiednio, 46 i 50%. Właściwości pianotwórcze hydrolizatów otrzymanych z preparatów zmodyfikowanego białka również okazały się wyższe - największy wzrost wydajności pienienia i trwałości piany otrzymano w przypadku grochu odmiany Grapis, odpowiednio o 25 i 22 ml. Tylko w przypadku hydrolizatów białek wyki trwałość piany nie zmieniła się istotnie po ich chemicznej modyfikacji.

Słowa kluczowe: hydrolizaty białkowe, nasiona roślin strączkowych, właściwości funkcjonalne, acetylacja

Wprowadzenie

Nasiona roślin strączkowych są najtańszym i jednocześnie najobfitszym źródłem białka, o stosunkowo wysokiej wartości odżywczej, co czyni je bardzo dobrym surowcem do produkcji preparatów białkowych. Obecnie światowy rynek zdominowany jest przez preparaty sojowe.

Niska cena, dostępność oraz różnorodność zastosowań sprawiły, że trudno jest z nimi konkurować ceną lub jakością [23]. Niemniej jednak prowadzone są badania nad wykorzystaniem białek z innych źródeł botanicznych: łubinu, bobiku, fasoli, ciecierzycy, grochu, a także roślin typowych dla danych regionów geograficznych. Charakter każdego z tych surowców wywiera specyficzny wpływ na właściwości żywieniowe i funkcjonalne uzyskiwanych z nich preparatów. Cechy te mają istotne znaczenie w procesie wdrażania białek roślinnych jako substytutów białka zwierzęcego, czy też jako dodatków teksturujących do żywności.

Wiele natywnych białek ma ograniczoną funkcjonalność, którą można jednak poprawić przez ich fizyczną, chemiczną lub enzymatyczną modyfikację. Enzymatyczna hydroliza stwarza ogromne możliwości modelowania właściwości funkcjonalnych białek przez dobór enzymu, czasu i warunków jego działania. Hydrolizaty w stosunku do macierzystych białek charakteryzują się wyższą rozpuszczalnością, niższą lepkością, poprawioną stabilnością termiczną, a także odmiennymi właściwościami żelującymi, emulgującymi i pianotwórczymi [22].

Skutecznym narzędziem kształtowania właściwości funkcjonalnych białek żywności jest reakcja podstawienia bezwodnikami kwasowymi: octowym (acetylacja) oraz bursztynowym (sukcynylacja). Związki te najefektywniej reagują z grupami ϵ -aminowymi lizyny oraz hydroksylowymi aminokwasów alifatycznych. W wyniku wprowadzenia dodatkowych grup w cząsteczce białka zmieniają się siły elektrostatycznego przyciągania i odpychania łańcuchów polipeptydowych. Prowadzi to do zmian konformacji cząsteczki białka [4], w wyniku czego niejednokrotnie obserwuje się polepszenie właściwości funkcjonalnych roślinnych preparatów białkowych.

Celem badań było określenie wpływu procesu acetylacji zastosowanej podczas izolowania białek z nasion wybranych roślin strączkowych na właściwości funkcjonalne hydrolizatów białkowych, otrzymanych poprzez działanie trypsyny na koncentraty wytracone w punkcie izoelektrycznym białek.

Material i metody badań

Surowcem wyjściowym do badań były suche nasiona soczewicy odmiany Anita, wyki odmiany Kwarta oraz grochu odmiany Piast i Grapis.

Nasiona mielono, a z otrzymanej mąki ekstrahowano białka w środowisku o pH \sim 9,2 i temp. 20°C, w ciągu 1 godz., przy użyciu mieszadła mechanicznego. Po odwi-

rowaniu (4000 x g; 20 min) zawiesiny białka koagulowano 2M HCl, obniżając pH ekstraktów do punktu izoelektrycznego białek soczewicy, wyki, grochu 'Piasz', grochu 'Grapis' (pH odpowiednio 3,6, 4,0, 4,0, 3,8). Wytrącone osady wirowano (4000 x g; 20 min), przemywano dwukrotnie wodą destylowaną, suszono i mielono. Preparaty białek chemicznie modyfikowanych uzyskano acetylując białka podczas ich ekstrakcji. Proces prowadzono poprzez wprowadzenie bezwodnika kwasu octowego w ilości 0,2 cm³ na 1 g białka zawartego w mące. Modyfikacja trwała 1 godz. w temp. 25°C, przy pH 7,5–8,0.

Otrzymane preparaty poddawano hydrolizie trypsyną (1240 j./mg, Sigma T-4799; stosunek enzym/substrat 1: 1000) przez 3 godz., w temp. 37°C i pH = 7,5. Po odwirowaniu nierozpuszczalnej frakcji od produktów hydrolizy supernatant liofilizowano. Stopień hydrolizy białka określano na podstawie zawartości wolnych aminokwasów i peptydów, mierzonych spektrofotometrycznie z TNBS (kwas trinitrobenzenosulfonowy) [9] wg wzoru:

$$DH = A_{340} / 0,01936$$

gdzie: DH – stopień hydrolizy [%], A₃₄₀ – absorbancja próbki badanego supernatantu przy długości fali λ = 340 nm, 0,01936- molowy współczynnik absorpcji leucyny.

W hydrolizatach białek modyfikowanych chemicznie i niemodyfikowanych (kontrolnych) oznaczano wybrane właściwości funkcjonalne. Rozpuszczalność białka oznaczano metodą podaną przez Betscharta [5]. Do 100 mg preparatu dodawano 50 cm³ buforu o pH w zakresie od 2,5 do 9,5 i wytrząsano przez 1 godz. W przesączu określano zawartość białka. Absorpcję wody, absorpcję tłuszczu, aktywność emulgowania, trwałość emulsji, wydajność pienienia i trwałość piany oznaczano zgodnie z procedurą podaną przez Rutkowskiego i Kozłowską [19].

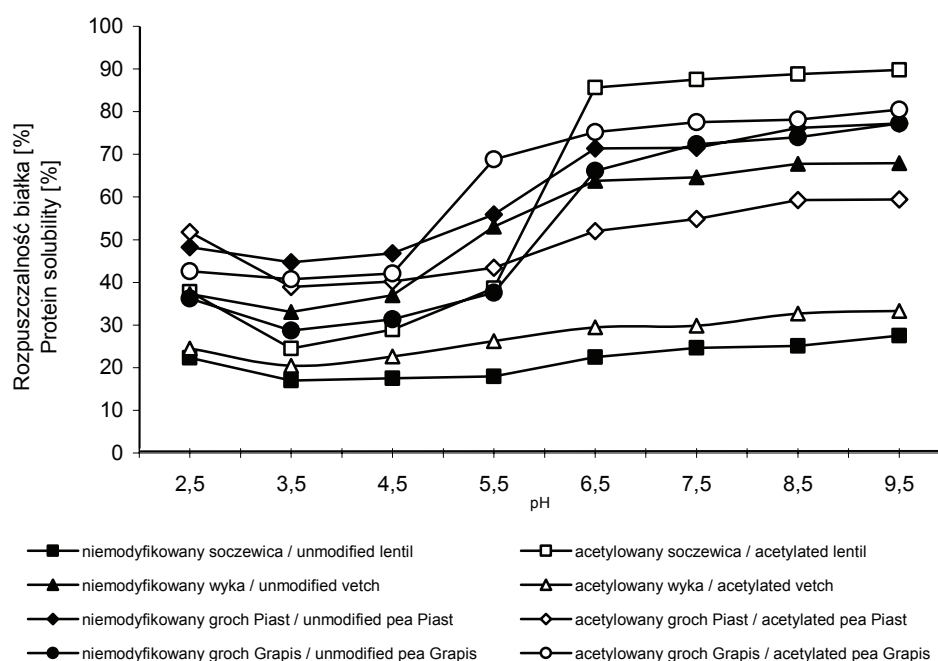
Badania wykonano w trzech powtórzeniach. Wyniki opracowano statystycznie (jednoczynnikowa analiza wariancji) przy użyciu programu STAT 1. Ocenę istotności różnic pomiędzy średnimi wykonano testem t-Studenta przy p < 0,05.

Wyniki i dyskusja

Zróznicowany wpływ acetylacji na badane właściwości funkcjonalne hydrolizatów uzależniony był od gatunku rośliny w przypadku rozpuszczalności białka, trwałości emulsji i trwałości piany. Rozpuszczalność hydrolizatów białka po chemicznej modyfikacji była wyższa niż hydrolizatów białek niemodyfikowanych w przypadku soczewicy i grochu 'Grapis'. Najbardziej zwiększyła się (o 60%) w hydrolizatach z soczewicy, w środowisku o pH = 9,5, i o 30% w hydrolizatach grochu 'Grapis' – pH = 5,5 (rys. 1). Natomiast rozpuszczalność białek hydrolizatów z grochu 'Piasz' i wyki uległa zmniejszeniu (w środowisku o pH=9,5 odpowiednio o 18 i 34%).

W dostępnej literaturze brakuje informacji dotyczących możliwości połączonego wpływu acetylacji i enzymatycznej hydrolizy białek na ich właściwości funkcjonalne.

Achouri i wsp. [1] analizowali wpływ sukcylnylacji na właściwości funkcjonalne hydrolizatów białka soi, jednak w przeciwieństwie do przedstawionej pracy, modyfikowano białko hydrolizowane. Niezależnie od stopnia sukcylnylacji, cytowani autorzy uzyskali wzrost rozpuszczalności białka oraz przesunięcie punktu izoelektrycznego (pI) w niższy zakres pH. Jest to typowy efekt acetylacji, tłumaczony zastąpieniem grup ϵ -aminowych lizyny grupami bezwodnika. Niweluje to siły elektrostatyczne między grupami aminowymi i karboksylowymi białek, co w rezultacie zmniejsza reakcje typu białko-białko, a ułatwia oddziaływania białko-woda [13]. W przedstawionych badaniach acetylacja białka nie wpłynęła na zmianę pI otrzymanych hydrolizatów, ponadto rozpuszczalność białek dwóch badanych hydrolizatów uległa zmniejszeniu w porównaniu z próbami kontrolnymi.



Rys. 1. Rozpuszczalność białka niemodyfikowanych i acetylowanych hydrolizatów białkowych.

Fig. 1. Protein solubility profile of unmodified and acetylated protein hydrolysates.

Klepacka i Porzucek [12], badając chemiczne właściwości białek różnych odmian fasoli, łubinu oraz grochu, także stwierdziły efekt wybiórczego zmniejszenia rozpuszczalności azotu po przeprowadzeniu chemicznej modyfikacji. Zmniejszenie rozpuszczalności białka wystąpiło jedynie w przypadku sukcylnylacji białek fasoli oraz łubinu odmiany Wat. Wiadomym jest, że w miarę degradacji białka na ogół zwiększa się jego rozpuszczalność. Większa rozpuszczalność białka, stwierdzona w niniejszej pracy

w hydrolizatach z grochu ‘Grapis’ i soczewicy po modyfikacji, nie znalazła jednak potwierdzenia w wyższym stopniu ich proteolizy. Acetylacja w sposób statystycznie istotny ($p < 0,05$) ograniczyła hydrolizę białek nasion wszystkich badanych roślin (tab.1). Stopień hydrolizy nie dostarczył zatem wystarczającej informacji o rozpuszczalności hydrolizatów, która zależy zarówno od masy cząsteczkowej białka, jak również od rodzaju i ilości jego poszczególnych frakcji. Yeom i wsp. [25] hydrolizując izolat sojowy, w którym acetylacja została ograniczona do reszt aminokwasowych lizyny, również uzyskali mniejszy stopień hydrolizy niż białka natywnego. Spadek podatności na hydrolizę wykazywały także białka sukcylinowane [15, 20, 24]. Z kolei Johnson i Brekke [10] zaobserwowali, że acetylacja zwiększa podatność białka grochu na hydrolizę enzymatyczną. Zmiana stopnia hydrolizy po przeprowadzeniu procesu acetylacji białka związana jest m.in. ze zmianą struktury wtórnej, ale może wynikać również z faktu, że metoda ekstrakcji i koagulacji zastosowana podczas otrzymywania preparatów białkowych różnicuje ich profil aminokwasowy [7, 16, 21]. Zastosowany w przedstawionej pracy sposób ekstrakcji z jednoczesną modyfikacją białek spowodował zmniejszenie zawartości białka ogółem w koncentraty białka soczewicy i wyki, w porównaniu z próbkami kontrolnymi (niemodyfikowanymi), podczas gdy wartość ta wzrosła w przypadku preparatów obydwu odmian grochu (dane nie zamieszczone w pracy). Baraniak i wsp. [2, 3] wskazują, że proces acetylacji zastosowany podczas ekstrakcji ma wpływ nie tylko na wydajność izolacji białek z nasion różnych odmian grochu, ale również na wybiórczą izolację niektórych frakcji, przyczyniając się do wytrącenia białek o wyższej masie cząsteczkowej.

Tabela 1

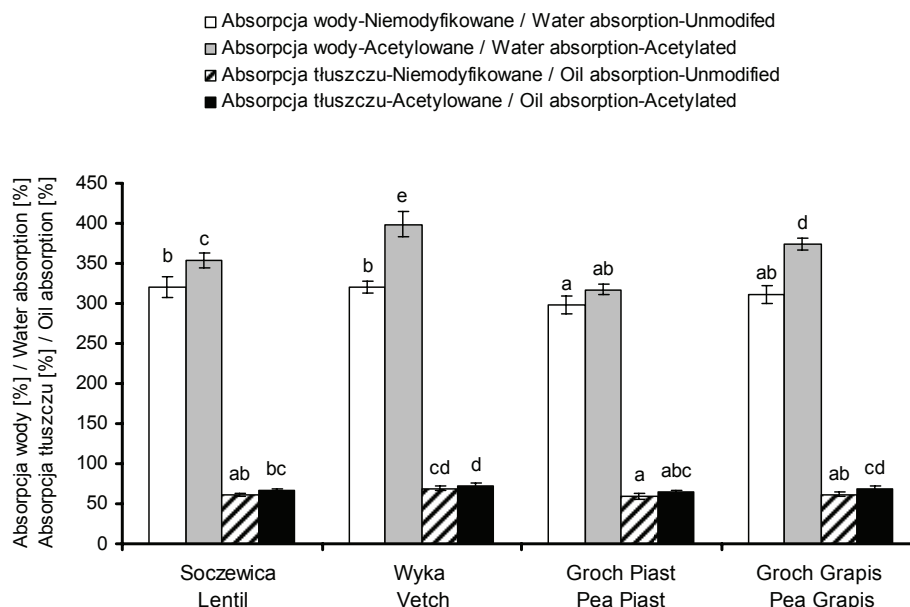
Wpływ acetylacji na stopień hydrolizy białka nasion roślin strączkowych.
Effect of acetylation on degree of hydrolysis of legume seeds proteins.

Hydrolizat białka Protein hydrolysate	Stopień hydrolizy [%] Degree of hydrolysis [%]			
	Soczewica Lentil	Wyka Vetch	Groch ‘Grapis’ Pea ‘Grapis’	Groch ‘Piast’ Pea ‘Piast’
Niemodyfikowany Unmodified	13,1 ^{bcd}	12,6 ^{bc}	14,6 ^d	14,7 ^d
Acetylowany Acetylated	10,6 ^a	10,0 ^a	11,6 ^{ab}	13,5 ^{cd}

Objaśnienia:/ Explanatory notes:

a-d -wartości średnie oznaczone różnymi indeksami, różnią się między sobą statystycznie istotnie ($\alpha=0,05$; $n=3$), a-d -mean values denoted by various superscripts, differ statistically significantly from each other ($\alpha=0,05$; $n=3$).

Obok rozpuszczalności do istotnych właściwości technologicznych preparatów białkowych należy zdolność utrzymywania wody. Badania różnych autorów jednoznacznie wskazują, że acetylacja poprzez wprowadzanie dodatkowych grup hydrofilowych do białka polepsza jego wodochłonność. Dodatkowo po chemicznej modyfikacji wysokocząsteczkowe białka mogą dysocjować, co zwiększa powierzchnię absorpcji wody [14]. W niniejszej pracy największą absorpcją wody charakteryzowały się hydrolizaty preparatów z soczewicy i wyki (321%), a najmniejszą z grochu 'Piaśt' (299%). Acetylowanie statystycznie istotnie ($p < 0,05$) zwiększyło wodochłonność wszystkich hydrolizatów, w największym stopniu (o 74%) hydrolizatów z wyki (rys. 2). Modyfikacja chemiczna białek nasion badanych roślin strączkowych spowodowała również wzrost absorpcji tłuszczu. Podobne zależności obserwowano w przypadku acetylowanych preparatów białka fasoli złocistej (*Phaseolus aureus*) [6], fasoli *Canavalia ensiformis* [14] i słonecznika [11].



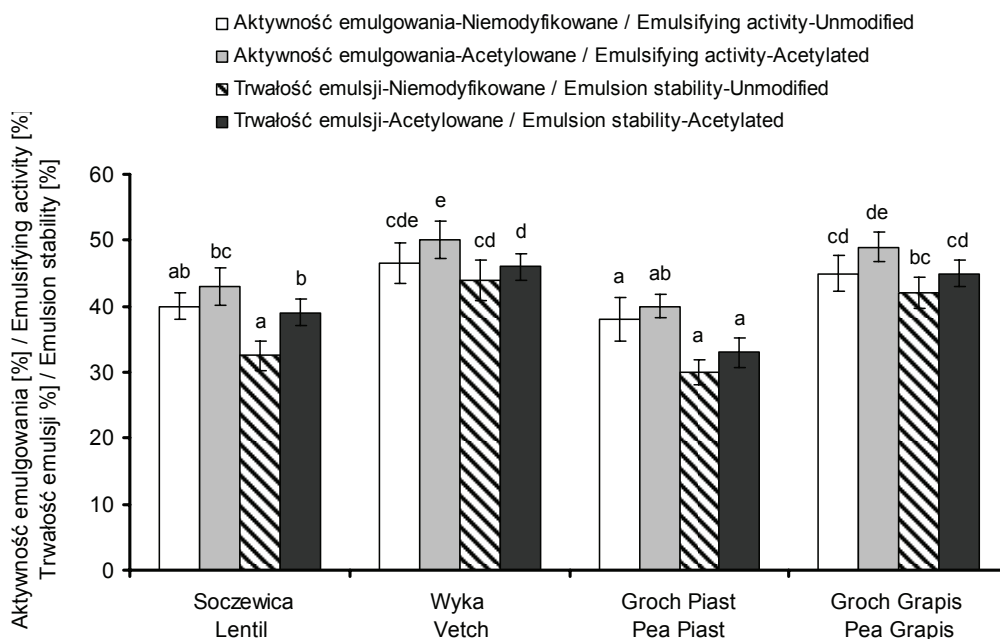
Objaśnienia: / Explanatory notes:

a-e -wartości średnie oznaczone różnymi indeksami w obrębie tej samej cechy, różnią się między sobą statystycznie istotnie ($\alpha=0,05$; $n=3$) / mean values denoted by various superscripts, included in the same characteristics, differ statistically significantly from each other ($\alpha=0,05$; $n=3$).

Rys. 2. Absorpcja wody i tłuszczu przez niemodyfikowane i acetylowane hydrolizaty białkowe.

Fig. 2. Water and oil absorption of unmodified and acetylated protein hydrolysates.

Równoczesna dostępność w cząsteczkach białek i peptydów grup hydro- i lipofilnych stwarza możliwość wykazywania przez nie właściwości emulgujących. Wyniki niniejszej pracy wskazują, że hydrolizaty otrzymane z modyfikowanych białek łatwiej



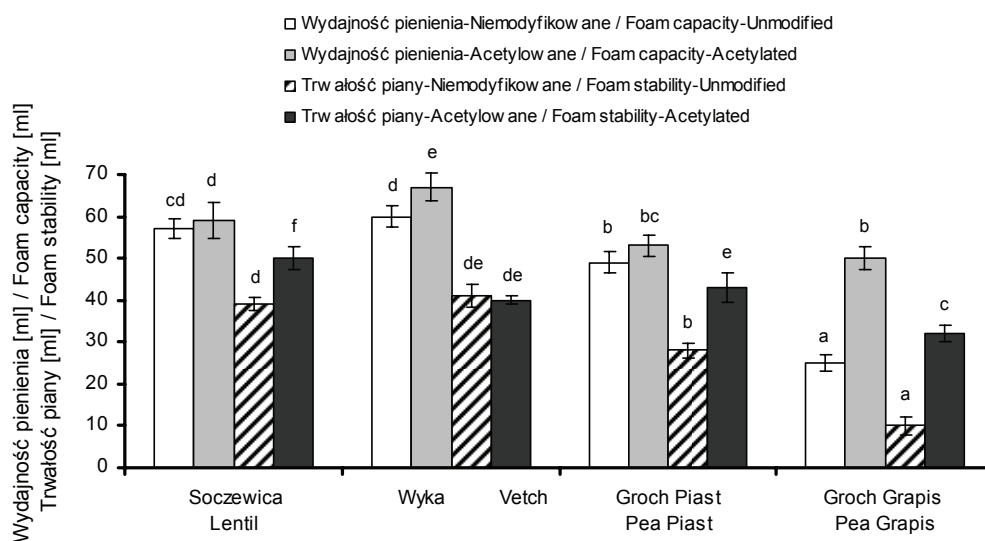
Objaśnienia jak na rys. 2. / Explanatory notes as in Fig. 2.

Rys. 3. Aktywność emulgowania i trwałość emulsji niemodyfikowanych i acetylowanych hydrolyzatów białkowych.

Fig. 3. Emulsifying activity and emulsion stability of unmodified and acetylated protein hydrolysates.

tworzą emulsje i są one jednocześnie trwalsze. Uzyskane wartości przyrostów aktywności emulgowania wyniosły 4% - w preparatach hydrolizowanych białek grochu 'Grapis' i wyki oraz 3 i 2% odpowiednio w hydrolyzatach białka soczewicy i grochu 'Piast'. Trwałość emulsji hydrolyzatów preparatów otrzymanych z wyki była najwyższa (44%), a hydrolyzatów białek grochu 'Piast' (30%) najniższa. Proces acetylowania zwiększył trwałość emulsji od 2 do 6,5% (rys. 3). Jednak acetylowanie może wpłynąć zarówno na wzrost jak i spadek tych zdolności. Końcowy efekt uzależniony jest m.in. od rodzaju bezwodnika, stopnia modyfikacji, koncentracji białka, pH i siły jonowej [6, 8, 14, 18]. Wzrost aktywności emulgowania i stabilności emulsji po acylacji tłumaczy się luźną i bardziej elastyczną strukturą cząsteczek modyfikowanych białek. Stwarza to możliwość łatwiejszego rozfałowania molekuly białka i odsłonięcia wielu aktywnych miejsc wiążących w postaci reszt lipo- i hydrofilowych [14]. Dzięki właściwościom powierzchniowo czynnym białka mają zdolności pianotwórcze. Wykazano, że białko o idealnych właściwościach tworzenia i stabilizowania piany powinno mieć dobrą rozpuszczalność w zakresie pH charakterystycznego dla żywności, dużą hydrofobowość powierzchniową,

a jego łańcuch polipeptydowy powinien ulegać łatwo rozwinięciu [17]. Istnieje więc wiele czynników, które mogą być odpowiedzialne za polepszenie właściwości pianotwórczych hydrolizatów z acetylowanych białek. Największy wzrost wydajności pienienia i trwałości piany otrzymano w przypadku grochu 'Grapis', odpowiednio o 25 i 22 ml (rys. 4). Jedynie w przypadku hydrolizatów białek wyki nie zaobserwowano istotnej różnicy w trwałości piany, po ich chemicznej modyfikacji.



Objaśnienia jak na rys. 2. / Explanatory notes as in Fig. 2.

Rys. 4. Wydajność pienienia i trwałość piany niemodyfikowanych i acetylowanych hydrolizatów białkowych.

Fig. 4. Foam capacity and foam stability of unmodified and acetylated protein hydrolysates.

Pomimo dużej liczby publikacji podejmujących problem ulepszania właściwości funkcjonalnych preparatów białkowych, w dalszym ciągu trudno jest znaleźć uniwersalne prawidłowości w wyjaśnieniach mechanizmów kształtowania się zależności między strukturą zmodyfikowanych białek a ich funkcją. Modyfikacja roślinnych białek bezwodnikiem kwasu octowego na ogół polepsza właściwości funkcjonalne otrzymanych preparatów, co rozszerza możliwości ich wykorzystania w przemyśle spożywczym.

Wnioski

1. Właściwości funkcjonalne hydrolizatów natywnych białek izolowanych z nasion różnych roślin strączkowych są zbliżone i w niewielkim zakresie uzależnione od gatunku i odmiany rośliny.

2. Acetylacja różnicuje właściwości funkcjonalne preparatów hydrolizowanych białek, a stopień otrzymanych zmian uzależniony jest od gatunku i odmiany rośliny.
3. Pod wpływem chemicznej modyfikacji białek najmniejszym zmianom ulega aktywność emulgowania, trwałość emulsji oraz zdolność absorpcji tłuszczu.

Pracę wykonano w ramach PBZ/KBN/021/P06/99 finansowanego przez KBN w latach 2001-2004. Była ona prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszawa, 24 - 25 maja 2006.

Literatura

- [1] Achouri A., Zhang W., Shying X.: Enzymatic hydrolysis of soy protein isolate and effect of succinylation on functional properties of resulting protein hydrolysates. *Food Res. Inter.*, **31**, 1998, 617-623.
- [2] Baraniak B., Niezabitowska M., Pielecki J., Wójcik W.: Evaluation of usefulness of Magnafloc M-22S flocculant in the process of obtaining protein concentrates from peas. *Food Chem.*, 2004, **85**, 251-257.
- [3] Baraniak B., Niezabitowska M., Porzucek H.: Zawartość białka ogółem, inhibitorów trypsyny i stachiozy w preparatach białkowych uzyskiwanych z mąki grochu za pomocą różnych metod koagulacji. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3 (40)**, 87-97.
- [4] Belitz H.D., Grosch W.: *Food Chemistry*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1999.
- [5] Betschart A.A.: Nitrogen solubility of alfalfa protein concentrate as influenced by various factors. *J. Food Sci.*, 1974, **39**, 1110-1115.
- [6] El-Adawy T.A.: Functional properties and nutritional quality of acetylated and succinylated mung bean protein isolate. *Food Chem.*, 2000, **70**, 83-91.
- [7] Fernández-Qurntela A., Macarulla M.T., Del Barrio A.S., Martínez J.A.: Composition and functional properties of protein isolates obtained from commercial legumes grown in northern Spain. *Plants Foods Human Nutr.*, 1997, **51**, 331-342.
- [8] Gruener L., Ismond M. A. H.: Effects of acetylation and succinylation on the functional properties of the canola 12S globulin. *Food Chem.*, 1997, **60**, 513-520.
- [9] Habeeb A.F.S.A.: Determination of free amino groups in proteins by trinitrobenzenesulfonic acid. *Anal. Biochem.*, 1966, **14**, 328-336.
- [10] Johnson E. A., Brekke C. J.: Functional properties of acylated pea protein isolates. *J. Food Sci.* 1983, **48**, 722-725.
- [11] Kabirullah M., Wills R.B.H.: Functional properties of acetylated and succinylated sunflower protein isolate. *J. Food Technol.*, 1982, **17**, 235-249.
- [12] Klepacka M., Porzucek H.: Some properties of chemically modified bean, lupin and pea proteins. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1994, **3/44**, 45-56.
- [13] Lawal O.S., Adebawale K.O.: The acylated protein derivatives of *Canavalia ensiformis* (jack bean): A study of functional characteristics. *LWT*, 2006, **39**, 918-929.
- [14] Lawal O.S.: Functionality of native and succinylated Lablab bean (*Lablab purpureus*) protein concentrate. *Food Hydrocolloids*, 2005, **19**, 63-72.
- [15] Matoba T., Doi F.: In vitro digestibility of succinylated protein by pepsin and pancreatic proteases. *J. Food Sci.*, 1979, **44**, 537-539.
- [16] Mwasaru M.A., Muhammad K., Bakar J., Che Man Y.B.: Effects of isolation technique and conditions on the extractability, physicochemical and functional properties of pigeonpea (*Cajanus cajan*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) protein isolates. I. Physicochemical properties. *Food Chem.*, 1999, **67**, 435-443.

- [17] Poole S., Fry J.: Developments in Food Proteins. In: Advances in food emulsion and foam - ed. B.J.F. Hudson. Elsevier Applied Science Publishers, London 1987, pp. 257-298.
- [18] Ramos C.M.P, Bora P.S.: Functionality of Succinylated Brazil Nut (*Bertholletia excelsa* HBK) Kernel Globulin. Plant Foods for Human Nutr., 2005, **60**, 1-6.
- [19] Rutkowski A., Kozłowska H.: Preparaty żywnościowe z białka roślinnego. WNT. Warszawa 1981.
- [20] Siu M., Thompson L. U.: *In vitro* and *in vivo* digestibilities of succinylated cheese protein concentrates. J. Agric. Food Chem., 1982, **30**, 743-747.
- [21] Soetrisno U.S.S., Holmes Z.A.: Protein yields and characteristics from acid and salt coagulations yellow pea (*Pisum sativum* L. *Miranda*) flour extractions. J. Agric. Food Chem., 1992, **40**, 970-974.
- [22] Surówka K.: Modyfikacja ekstrudowanej mąki sojowej i sojowego koncentratu białkowego metodą enzymatycznej hydrolizy. W: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności - pod red. E Kołakowskiego, W. Bednarskiego, S. Bieleckiego. Wyd. AR Szczecin 2005, s. 102-105.
- [23] Uchman W. (red): Substancje dodatkowe w przetwórstwie mięsa. Wyd. AR Poznań 2001.
- [24] Wanasundara P. K., Shahidi F.: Functional properties of acylated flax protein isolates. J. Agric. Food Chem., 1997, **45**, 2431-2441.
- [25] Yeom H.W., Kim K.S., Rhee J.S.: Soy protein hydrolysate debittering by lysine-acetylation. J. Food Sci., 1994, **59**, 1123-1126.

THE COMPARISON OF EFFECT OF ACETYLATION ON FUNCTIONAL PROPERTIES OF PROTEIN HYDROLYSATES OBTAINED FROM LEGUME SEEDS

Summary

The purpose of this study was to determine the effect of acetylation process, applied during protein insulation from the chosen legume seeds, on the functional properties of obtained hydrolysates. From the lentil, vetch and two varieties of pea, proteins were extracted and chemically modified with acetic anhydride at the same time. Proteins in the extract were precipitated in point of the smallest solubility ($\text{pH}=\text{pI}$). Received coagel was desiccated by centrifugation and drying to obtain protein concentrates. Unmodified protein concentrates were prepared analogically, except no acylating agent which was added during extraction. Protein concentrates were hydrolyzed with trypsin and than desiccated by lyophilisation. Solubility of the protein, water and oil absorption, emulsifying activity, emulsion stability, foam capacity and foam stability were determined in hydrolysates modified and native (control) proteins.

Modification of legume seeds proteins with acetic anhydride in general had improved functional properties in analyzed protein hydrolysates. Solubility of protein hydrolysates from chemically modified proteins was higher than those obtained from native proteins in case of lentil and pea (Spp. *Grapis*), however the solubility decrease has been noted for pea *Piast*. Studied protein hydrolysates possessed high ability to water absorption, about 300% and oil absorption in range 60-69%. Acetylation increased water absorption (with the highest percentage of 74%) and oil absorption of 4-7%, for every analyzed hydrolysates. Emulsifying activity and emulsion stability also increased, achieving maximum value 50% and 46% respectively, for modified vetch protein hydrolysates. Foam properties for hydrolysates received from chemically modified proteins also had shown higher figures than native samples. The highest increase foam capacity about 25 ml and foam stability about 22 ml were characteristic for pea (Spp. *Grapis*). The foam capacity was not differ significantly only after chemical modification of hydrolyzed vetch protein.

Key words: protein hydrolysates, legume seeds, functional properties, acetylation ☒

KATARZYNA KYCIA, MAŁGORZATA ZIARNO

WZROST I PRZEŻYWALNOŚĆ BAKTERII JOGURTOWYCH W RETENTATACH UF MLEKA

Streszczenie

Celem pracy było określenie możliwości rozwoju bakterii jogurtowych w retentatach UF mleka oraz określenie przeżywalności tych bakterii w ukwaszonych retentatach przechowywanych w temp. 6 i -18°C przez 22 miesiące.

Retentaty o współczynniku zagęszczenia mleka wynoszącym między 4,0 – 4,5 i 5,0 – 5,3 otrzymywano z mleka spożywczego pasteryzowanego (3,2% tłuszczu), które zagęszczano metodą ultrafiltracji. Retentaty po pasteryzacji (72°C/15s) ukwaszono w temp. $44 \pm 1^\circ\text{C}$ do pH 5,1–5,2, stosując szczepionki jogurtowe YC-X11 i YC-180. W czasie fermentacji porównywano szybkość ukwaszania retentatu z szybkością ukwaszania mleka pasteryzowanego, dokonując pomiaru pH i kwasowości miareczkowej. Po 24 godz. od wytworzenia w ukwaszonych do pH 5,1–5,2 retentatach oznaczano liczbę *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Przeżywalność bakterii jogurtowych w ukwaszonych retentatach badano, oznaczając w nich liczbę ww. bakterii po 1, 2, 3, 4, 5, 6, 16 i 22 miesiącach przechowywania w temp. 6 i -18°C.

Stwierdzono, że wysoka buforowość retentatów wpływała na odmienną kinetykę ich ukwaszania w porównaniu z mlekiem niezagęszczonym. Bakterie jogurtowe wykazały dobry wzrost w silnie zagęszczonych retentatach. W retentatach ukwaszonych do pH 5,1–5,2 liczba *S. thermophilus* była wysoka ($2,8 \times 10^9$ jtk/g). Liczba *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* zależała od rodzaju stosowanej do ukwaszania retentatu szczepionki jogurtowej. Retentaty ukwaszone dodatkiem szczepionki YC-X11 zawierały niższą liczbę *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (średnio $2,6 \times 10^5$ jtk/g) niż retentaty ukwaszone dodatkiem szczepionki YC-180 (średnio $2,7 \times 10^8$ jtk/g). Stwierdzono wyższą przeżywalność bakterii jogurtowych w ukwaszonych retentatach przechowywanych w temp. -18°C niż przechowywanych w temp. 6°C.

Słowa kluczowe: ultrafiltracja, retentat, bakterie jogurtowe

Wprowadzenie

Zagęszczanie mleka metodą ultrafiltracji umożliwia skoncentrowanie tłuszczu mlekowego oraz wszystkich białek mleka we frakcji zatrzymanej przez membranę

Dr inż. K. Kycia, dr inż. M. Ziarno, Zakład Biotechnologii Mleka, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

ultrafiltracyjną, zwanej retentatem. Stopień zagęszczenia składników mleka z zastosowaniem UF jest ograniczony ze względu na znaczny spadek szybkości filtracji, spowodowany głównie wzrostem oporów przepływu retentatu przez membranę w miarę zwiększania się współczynnika koncentracji [9]. Z tego względu UF znalazła zastosowanie w produkcji serów o dość niskiej zawartości suchej substancji, tak jak ma to miejsce w przypadku sera typu feta, camembert, cottage cheese i twarogów. W produkcji serów twardych UF może być stosowana jedynie do wstępnego zagęszczania mleka serowarskiego (zwykle 2-krotna koncentracja), lub jak często ma to miejsce, do normalizacji zawartości białka w tym mleku [2].

Wykorzystanie retentatów UF mleka jako surowców do produkcji różnego typu serów może wymagać modyfikacji tradycyjnych technologii ich produkcji, bowiem skład i właściwości fizykochemiczne retentatu UF różnią się od składu i właściwości zwykłego mleka. Zatrzymanie w retentacie wszystkich białek mleka i związanych z nimi nierozpuszczalnych związków mineralnych, głównie fosforanu wapnia związanego z kazeiną, prowadzi do wzrostu zdolności buforujących retentatu [5, 19]. W rezultacie ulega zmianie przebieg procesu ukwaszania pod wpływem dodatku bakterii fermentacji mlekowej. Wyniki badań wielu autorów [8, 15, 16, 17] wskazują na trudności w obniżeniu pH do poziomu umożliwiającego koagulację kwasową retentatów ukwaszanych dodatkiem różnych kultur bakterii. W celu właściwego dla danej technologii ukwaszenia retentatu bakterie powinny wytworzyć więcej kwasu z laktozy, co z kolei może wymagać wprowadzenia ich do retentatu w większej liczbie lub, jeśli to możliwe, przedłużenia czasu fermentacji [5, 21]. Zmiana składu mleka zagęszczonego metodą UF w różny sposób wpływa również na wzrost i aktywność bakterii wprowadzanych z zakwasem. Z tego względu niezbędny staje się właściwy dobór rodzaju kultur starterowych stosowanych do fermentacji retentatów [12, 17]. Meijer [13] w mleku zagęszczonym metodą ultrafiltracji stwierdza o 25% słabszy niż w mleku wzrost *Lactococcus lactis ssp. cremoris*. Z kolei inni badacze nie zaobserwowali słabszego wzrostu bakterii zakwasu, bądź też odnotowali niewielkie różnice w liczbie i aktywności bakterii w retentacie w porównaniu z mlekiem niezagęszczonym [3, 8].

Celem pracy była ocena możliwości rozwoju bakterii jogurtowych w retentatach UF mleka oraz określenie przeżywalności tych bakterii w ukwaszonych retentatach przechowywanych w temp. 6 i -18°C przez 22 miesiące.

Material i metody badań

Surowiec do produkcji retentatów stanowiło mleko spożywcze pasteryzowane o zawartości tłuszczu 3,2% pochodzące ze Spółdzielni Mleczarskiej „Mazowsze” w Chorzelach. Mleko podgrzewano do temp. 50°C i poddawano zagęszczaniu metodą ultrafiltracji w temp. $52 \pm 1^\circ\text{C}$ do momentu usunięcia takiej ilości permeatu, aby uzyskać retentat o współczynniku zagęszczenia mleka (CF) równym od 4,0 do 5,3 w sto-

sunku do surowca wyjściowego. Ultrafiltrację prowadzono w laboratoryjnym module ultrafiltracyjnym, stosując ceramiczną membranę firmy Tami o powierzchni filtracyjnej $0,35 \text{ m}^2$ i granicy odcięcia równej $50 \cdot 10^3 \text{ Da}$. Uzyskany retentat poddawano niezwłocznie pasteryzacji ($72^\circ\text{C}/15 \text{ s}$), a następnie schłodzeniu w wodzie lodowej do temp. $46 \pm 1^\circ\text{C}$, przy której dodawano zakwas bakterii jogurtowych w postaci liofilizowanej kultury YC-X11 lub YC-180 firmy Chr. Hansen, zawierającej *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Dodatek szczepionki wynosił $0,3 \text{ g}$ na 1 liter uzyskanego retentatu. W celu łatwiejszego rozprowadzenia kultury w silnie zagęszczonym retentacie szczepionkę (tuż przed wprowadzeniem do retentatu) regenerowano w 100 cm^3 jałowego, wolnego od substancji hamujących mleka. Dopiero w tej postaci kulturę wprowadzano do retentatu, mieszano, pakowano w termozgrzewalne woreczki foliowe i inkubowano w cieplarni w temp. $44 \pm 1^\circ\text{C}$ do momentu uzyskania skrzepu o pH w granicach $5,1\text{--}5,2$. Ukwaszony retentat chłodzono w wodzie lodowej do temp. 6°C , a po schłodzeniu przechowywano w tej temp. w chłodziarni do momentu wykonania posiewów mikrobiologicznych.

Zakres pracy obejmował:

- porównanie szybkości ukwaszania retentatu o $\text{CF} = 5,3$ z szybkością ukwaszania mleka spożywczego pasteryzowanego (surowca do UF) za pomocą kultury jogurtowej YC-X11;
- oznaczenie liczby bakterii jogurtowych w retentatach o $\text{CF} = 4,0 - 4,5$ i $\text{CF} = 5,0 - 5,3$ ukwaszonych do pH $5,1\text{--}5,2$ z wykorzystaniem kultur YC-X11 i YC-180;
- określenie przeżywalności bakterii jogurtowych w ukwaszonym retentacie o $\text{CF} = 5,3$ w czasie jego przechowywania w temp. 6 i -18°C przez 22 miesiące.

Szybkość ukwaszania retentatu i mleka pasteryzowanego badano dokonując pomiaru pH i kwasowości miareczkowej ww. mediów w czasie ich sześciogodzinnej fermentacji w temp. $44 \pm 1^\circ\text{C}$. Pomiarów dokonywano co godzinę od momentu rozpoczęcia ukwaszania. Pomiar pH wykonywano metodą elektrometryczną, zanurzając kilkakrotnie elektrodę pehametru bezpośrednio w ukwaszanych mediach i odczytując wynik z dokładnością do $0,01$ jednostki pH [24]. Oznaczenie kwasowości miareczkowej wykonywano, miareczkując próbkę mleka lub retentatu $0,25 \text{ N}$ roztworem NaOH wobec fenoloftaleiny jako wskaźnika [24]. Wynik kwasowości miareczkowej podawano w stopniach Soxhleta – Henkla, czyli w przeliczeniu na 100 g próbki.

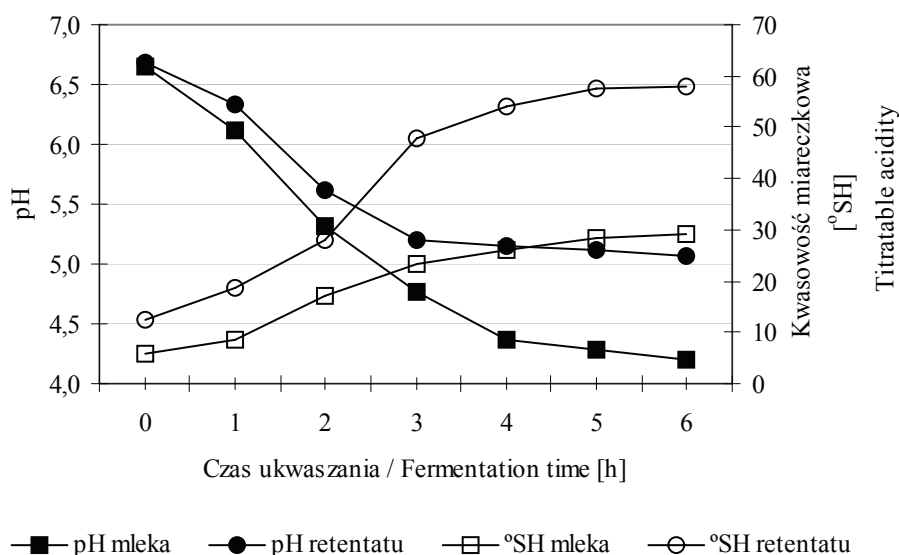
Liczbę bakterii jogurtowych w ukwaszonych do pH $5,1\text{--}5,2$ retentatach oznaczano metodą płytkową po 24 godz. od ich wyrobu. Oznaczenia wykonywano stosując posiew wgłębny według PN-A-86034-15 [18]. Liczbę *S. thermophilus* oznaczano w podłożu M-17, stosując inkubację płytek z posiewami w temp. 37°C przez 48 godz. Liczbę *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* oznaczano w podłożu MRS o pH $5,4$, stosując inkubację płytek z posiewami w warunkach beztlenowych (w anaerostatach firmy Merck) w temp. 37°C przez 72 godz. Beztlenową atmosferę w anaerostatach uzyskiwano, stosując wkłady

„anaerocult” firmy Merck wytwarzające w zamkniętych słojach 20% CO₂. Wyniki posiewów podawano jako liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) w 1 g retentatu.

Przeżywalność bakterii jogurtowych w ukwaszonym dodatkiem szczepionki YC-X11 retencie o CF= 5,3 badano, oznaczając w nim liczbę ww. bakterii (według PN-A-86034-15 [18]) po: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 16 i 22 miesiącach przechowywania w temp. 6 i -18°C.

Wyniki i dyskusja

Przebieg ukwaszania mleka spożywczego pasteryzowanego i retentatu UF o współczynniku zagęszczenia mleka CF równym 5,3 przy użyciu kultury jogurtowej YC-X11 przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Szybkość ukwaszania mleka spożywczego pasteryzowanego i retentatu UF przy użyciu kultury jogurtowej YC - X11.

Fig. 1. Pasteurized milk and UF retentate fermentation speed by YC - X11 yogurt culture.

W czasie ukwaszania mleka spożywczego następował w nim stopniowy spadek pH (z wartości początkowej 6,65 do końcowej 4,20) oraz wzrost kwasowości miareczkowej z 6,80 do 29,20°SH. Z kolei w retencie stwierdzono przyrost kwasowości miareczkowej z 12,5°SH (przed dodaniem zakwasu) do 58°SH po 6 godz. ukwaszania, podczas gdy pH retentatu obniżyło się jedynie do wartości 5,06. Wykazano, że założony w pracy poziom ukwaszenia retentatu do wartości pH 5,1–5,2 został osiągnięty w czasie znacznie dłuższym niż miało to miejsce w przypadku mleka niezagęszczonego. Z kolei szybkość ukwaszania mierzona przyrostem kwasowości miareczkowej była znacznie większa w retencie, przy jednoczesnym bardzo wolnym obniżaniu się pH.

Powolny spadek pH w retentacie w trakcie fermentacji wynika z wysokiej zdolności buforującej zagęszczonego metodą UF mleka, powodowanej dużą koncentracją białek i soli mineralnych [5, 10, 11, 14, 15, 21]. Mistry i Kosikowski [16] odnotowali największe działanie buforujące w czasie ukwaszania retentatów w zakresie pH 5,1–5,3. W niniejszej pracy, obniżanie pH retentatu od wartości 5,2 przebiegało również bardzo wolno, osiągając po trzech kolejnych godzinach fermentacji wartość 5,06.

Wyniki oznaczeń liczby bakterii jogurtowych w retentatach ukwaszonych do pH 5,1–5,2 przy użyciu szczepionek YC-X11 i YC-180 przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Liczba *S. thermophilus* i *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* w retentatach ukwaszonych za pomocą szczepionek YC-X11 i YC-180.

Number of *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in fermented retentates inoculated by YC-X11 and YC-180 culture.

Badana cecha Tested feature	Retentaty ukwaszone szczepionką / Retentates inoculated by culture										
	YC-X11							YC-180			
Współczynnik zagęszczenia Concentration factor (CF)	5,2	5,3	5,3	5,3	5,3	5,0	5,3	4,5	4,3	4,2	4,0
pH	5,15	5,10	5,20	5,22	5,20	5,20	5,20	5,11	5,12	5,09	5,03
Kwasowość miareczkowa Titratable acidity [°SH]	56,50	58,40	58,00	54,00	58,30	58,50	56,00	59,80	57,00	54,60	52,80
Liczba <i>S. thermophilus</i> [jtk/g] / [cfu/g]	$3,1 \cdot 10^9$	$3,2 \cdot 10^9$	$2,0 \cdot 10^9$	$2,5 \cdot 10^9$	$2,9 \cdot 10^9$	$2,8 \cdot 10^9$	$2,3 \cdot 10^9$	$3,2 \cdot 10^9$	$2,5 \cdot 10^9$	$4,1 \cdot 10^9$	$1,7 \cdot 10^9$
Liczba <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> [jtk/g] / [cfu/g]	$5,2 \cdot 10^5$	$4,5 \cdot 10^5$	$3,3 \cdot 10^5$	$2,1 \cdot 10^5$	$8,4 \cdot 10^4$	$8,5 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^5$	$3,2 \cdot 10^8$	$1,9 \cdot 10^8$	$4,3 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^8$

We wszystkich ukwaszonych retentatach stwierdzono wysoką liczbę *S. thermophilus* kształtującą się w zakresie od $4,1 \cdot 10^9$ do $1,7 \cdot 10^9$ jtk/g (średnio $2,8 \cdot 10^9$ jtk/g), co wskazywało na bardzo dobry wzrost tych paciorkowców. Liczba *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* w ukwaszonych retentatach była zróżnicowana i wyraźnie zależała od rodzaju szczepionki stosowanej do ukwaszania mleka zagęszczonego. W doświadczeniach, w których stosowano szczepionkę YC-X11 zawartość pałeczek jogurtowych była zdecydowanie niższa (wahania $8,4 \cdot 10^4$ – $5,2 \cdot 10^5$ jtk/g) od zawartości tych bakterii

w retentatach z doświadczeń, w których użyto szczepionkę YC-180 (wahania $1,5 \times 10^8$ – $4,3 \times 10^8$ jtk/g). Różnice te wynikały z innej zawartości pałeczek jogurtowych w użytych kulturach (zastosowanie obu kultur do fermentacji zwykłego mleka wykazało o około 3 rzędy wielkości niższą liczbę *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* w mleku ukwaszonym kulturą YC-X11 niż kulturą YC-180). W niniejszym doświadczeniu bez względu na rodzaj użytej szczepionki około 4–4,5-godzinna fermentacja retentatów prowadziła do otrzymania zwięzłych skrzepów kwasowych o ustalonym pH. Stwierdzono, że bakterie jogurtowe wykazały dobry wzrost w silnie zagęszczonych retentatach, których wysoka buforowość utrzymywała stabilne pH i chroniła je przed wysoką zawartością kwasu. Badania wielu autorów wskazują na dobry wzrost bakterii mlekowych w retentatach właśnie dzięki ich wysokiej buforowości chroniącej bakterie przed rosnącą zawartością kwasu mlekowego [15, 16, 22].

W tab. 2. przedstawiono liczbę bakterii jogurtowych oraz pH ukwaszonego retentatu o CF = 5,3 podczas jego przechowywania w temp. 6 i -18°C przez 22 miesiące. W czasie przechowywania retentatu w temp. 6°C przez trzy miesiące liczba *S. thermophilus* utrzymywała się na stałym poziomie równym $1,8 \times 10^9$ jtk/g (wahania $2,0 \times 10^9$ – $1,4 \times 10^9$ jtk/g). W kolejnych miesiącach przechowywania liczba tych bakterii zaczęła zmniejszać się, tak że w 4., 5. i 6. miesiącu zmalała odpowiednio do $4,5 \times 10^8$, $2,5 \times 10^8$ i $8,5 \times 10^6$ jtk/g. Po 16 i 22 miesiącach przechowywania nie stwierdzono już obecności *S. thermophilus* w 0,1 g produktu. Z kolei w retentacie przechowywanym w temp. -18°C *S. thermophilus* zachował bardzo dużą przeżywalność, jego liczba po 22 miesiącach przechowywania wynosiła $3,4 \times 10^8$ jtk/g i była niższa od liczby początkowej tych bakterii tylko o jeden rząd wielkości. Przypuszcza się, że oporność *S. thermophilus* na zamrażanie i przechowywanie w stanie zamrożenia wynika ze specyficznego składu kwasów tłuszczowych błony komórkowej tych bakterii [1].

Liczba *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* w świeżo ukwaszonym retentacie wynosiła $3,5 \times 10^5$ jtk/g i była już na samym początku o 4 rzędy wielkości niższa od liczby *S. thermophilus*. Jak stwierdzono, fakt ten wynikał z mniejszej liczebności pałeczek w stosunku do paciorkowców w stosowanej do ukwaszania retentatu liofilizowanej szczepionce YC-X11. W retentatach przechowywanych w temp. 6°C i -18°C stwierdzono znacznie szybszy spadek liczby tych bakterii w porównaniu z liczbą *S. thermophilus*. W retentacie przechowywanym w temp. 6°C nastąpił spadek liczby *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* o jeden rząd wielkości po pierwszym miesiącu przechowywania i o cztery rzędy wielkości po sześciu miesiącach. W retentacie badanym po 16 miesiącach przechowywania nie stwierdzono już obecności pałeczek jogurtowych w 0,1g badanego produktu. Zmniejszenie liczby *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* następowało również w retentacie przechowywanym w temp. -18°C. Było ono wolniejsze niż w ukwaszonym retentacie przechowywanym w temp. 6°C, bowiem po 16 miesiącach przechowywania stwierdzono w nim jeszcze obecność pałeczek jogurtowych w liczbie $3,2 \times 10^2$ jtk/g.

Tabela 2

Liczba *S. thermophilus* i *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* oraz pH ukwaszonego dodatkiem kultury YC-X11 retentatu o CF = 5,3 w czasie jego przechowywania w temp. 6°C i -18°C.
 Number of *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and pH of retentate (CF = 5.3) acidified by YC-X11 culture during storage at 6°C and at -18°C.

Badana cecha Tested feature	Czas przechowywania [miesiące] w temperaturze [°C] / Time of storage [months] at temperature[°C]														
	6°C							-18°C							
	0	1	2	3	4	5	6	16	22	0	2	4	6	16	22
pH	5,20	4,89	4,70	4,67	4,64	4,62	4,60	4,61	4,63	5,20	5,22	5,21	5,20	5,23	5,26
Liczba <i>S. thermophilus</i> [jtk/g] / [cfu/g]	2,0·10 ⁹	1,9·10 ⁹	1,7·10 ⁹	1,4·10 ⁹	4,5·10 ⁸	2,5·10 ⁸	8,5·10 ⁶	nb w 0,1 g	nb w 0,1 g	2,0·10 ⁹	1,3·10 ⁹	8,5·10 ⁸	7,3·10 ⁸	8,7·10 ⁸	3,4·10 ⁸
Liczba <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> [jtk/g] / [cfu/g]	3,3·10 ⁵	8,6·10 ⁴	3,1·10 ³	2,8·10 ³	1,1·10 ³	9,1·10 ²	1,2·10 ¹	nb w 0,1 g	nb w 0,1 g	3,3·10 ⁵	1,0·10 ⁴	5,0·10 ²	9,7·10 ²	3,2·10 ²	nb w 0,1 g

Warto podkreślić, że w ciągu 22-miesięcznego okresu przechowywania ukwaszonych retentatów w temp. 6°C nie odnotowano w nich zmniejszenia pH poniżej wartości 4,6 (tab. 2). Badania innych autorów [6, 7, 20] potwierdzają, że sery produkowane z retentatów UF mleka charakteryzują się wyższą stabilnością pH w czasie przechowywania niż sery wyprodukowane z mleka niezagęszczonego. Voutsinas i wsp. [23], w serach z silnie zagęszczonego mleka owczego, wykazali brak obniżenia się pH poniżej wartości 4,6 podczas ich dojrzewania (kwasowość czynna serów wynosiła 5,15, 4,80 i 4,90 odpowiednio po 1, 20 i 60 dniach od produkcji). Dużą stabilność pH ukwaszonych retentatów, nieco powyżej wartości 4,6 podczas długotrwałego przechowywania w 6°C tłumaczyć można między innymi wysoką jego buforowością w tym zakresie wynikającą z wiązania protonów przez grupy karboksylowe łańcuchów bocznych białek mleka (pK grupy γ -karboksylowej kwasu glutaminowego wynosi 4,07 zaś grupy β -karboksylowej kwasu asparaginowego wynosi 3,90) [4]. Buforowość ta systematycznie rosła w miarę wydłużania okresu przechowywania ukwaszonego retentatu w temp. 6°C z powodu stopniowej proteolizy zachodzącej w tej temperaturze. Drugim czynnikiem wysokiej stabilności pH ukwaszonych retentatów może być ich dość wysokie ciśnienie osmotyczne wynikające ze znacznego stężenia molarnego kwasu mlekowego. Masa cząsteczkowa kwasu mlekowego jest bowiem 4 razy niższa niż laktozy, a ponadto przy pH 4,6 jest on w około 70% zdysocjowany, ponieważ jego pK = 3,86. Z badań innych autorów [25] wynika, że wysokie ciśnienie osmotyczne produktu o nazwie superjogurt otrzymanego z mleka zagęszczonego na wyparce silnie hamuje rozwój bakterii jogurtowych i stabilizuje pH tego produktu. W niniejszej pracy wysoka stabilność pH ukwaszonych retentatów w czasie przechowywania może również wynikać z faktu, że produkowane obecnie kultury jogurtowe zawierają wyselekcjonowane szczepy *S. thermophilus* i *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, co ma zapobiegać przekwaszeniu produktu podczas przechowywania.

Wnioski

1. Mleko zagęszczone metodą UF (współczynnik zagęszczenia mleka 4,0–4,5 i 5,0–5,3) stanowi dobre medium do rozwoju bakterii jogurtowych, o czym świadczy wysoka dynamika przyrostów kwasowości miareczkowej, znacznie wyższa niż w mleku niezagęszczonym.
2. Wysoki stopień zbuforowania retentatu UF (około 2-krotnie wyższy niż zwykłego mleka) powoduje, że założony w pracy poziom jego ukwaszenia mierzony wartością pH 5,1–5,2 osiąga się przy użyciu kultury jogurtowej w czasie dłuższym niż mleka niezagęszczonego.
3. *S. thermophilus* i *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* wykazały wyższą przeżywalność w ukwaszonych retentatach przechowywanych w temp. -18°C (odpowiednio 22 i 16 miesięcy) niż w temp. 6°C (6 miesięcy).

Praca była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszawa, 24–25 maja 2006.

Literatura

- [1] Beal C., Fonseca F., Corrieu G.: Resistance to freezing and frozen storage of *Streptococcus thermophilus* is related to membrane fatty acid composition. *J. Dairy Sci.*, 2001, **84**, 2347-2356.
- [2] Cheryan M. (red.): *Ultrafiltration Handbook*. Technomic Publishing Company Inc. 1986, pp. 235-245.
- [3] Christopherson A.T., Zottola E.A.: Growth and activity of mesophilic lactic acid streptococci in ultrafiltered skim milk and in reconstituted nonfat dry milk of differing total solids content. *J. Dairy Sci.*, 1989, **72**, 2856.
- [4] Copeland R.A.: Introduction to protein structure. In: *Methods for protein analysis. A practical guide to laboratory protocols* – ed. Copeland R.A., Chapman & Hall, London 1994, p. 3.
- [5] Covacevich H.R., Kosikowski, F.V.: Buffer, lactic fermentation and rennet coagulation properties of skim milk retentates produced by ultrafiltration. *J. Dairy Sci.*, 1979, **62**, 204.
- [6] El-Zayat A.I., Omar M.M.: Kareish cheese prepared from ultrafiltered milk. *J. Dairy Res.*, 1987, **54**, 545-550.
- [7] Green M.L., Glover F.A., Scurlock E.M.W., Marshall R.J., Hatfield D.S.: Effect of use of milk concentrated by ultrafiltration on manufacture and ripening of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.*, 1981, **48**, 333-341
- [8] Hickey M.W., Roginski H., Broom M.C.: Growth and acid production of group N streptococci in ultrafiltered milk. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1983, **38**, 138.
- [9] Kelly P.M.: Membrane separation. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* - eds.: H. Rogiński, J. Fuquay, P. Fox. Academic Press, Amsterdam, 2002, vol. 3, pp. 1777-1785.
- [10] Lucey J.A., Fox P.F.: Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: a review. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 1714-1724.
- [11] Lucey J.B., Hauth C.G., Fox P.F.: The acid-base buffering properties of milk. *Milchwissenschaft*, 1993, **48**, 268-272.
- [12] McMahon D.J., Orme B.J., Ernstrom C.A.: Improving fermentation and fat retention when making cheese from ultrafiltered milk. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1997, **52**, 53-57.
- [13] Meijer W.C., Tacken M., Noomen A., Hugenholtz J.: Determination of growth parameters of *lactococci* in milk and ultrafiltered milk. *J. Dairy Sci.*, 1995, **78**, 17-23.
- [14] Mistry V.V., Kosikowski F.V.: A naturally buffered milk retentate starter from ultrafiltered milk. *J. Dairy Sci.*, 1986, **69**, 945.
- [15] Mistry V.V., Kosikowski F.V.: Fermentation of ultrafiltered skim milk retentates with mesophilic lactic cheese starters. *J. Dairy Sci.*, 1985, **68**, 1613.
- [16] Mistry V.V., Kosikowski F.V.: Growth of lactic acid bacteria in highly concentrated ultrafiltered skim milk retentates. *J. Dairy Sci.*, 1985, **68**, 2536-2543.
- [17] Orme B.J., McMahon D.J., Thunell R.K.: Variable growth and acid production of *lactococci* in whole milk concentrated by ultrafiltration and diafiltration. *J. Dairy Sci.*, 1994, **77**, 3454-3459.
- [18] PN-A-86034-15:1998. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Jogurt. Oznaczenie liczby charakterystycznych drobnoustrojów
- [19] Salaün F., Mietton B., Gaucheron F.: Buffering capacity of dairy products. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 95-109.
- [20] Sharma S.K., Ferrier L.K., Hill A.R.: Effect of modified manufacturing parameters on the quality of Cheddar cheese made from ultrafiltered (UF) milk. *J. Food Sci.*, 1989, **54**, 573-577.

- [21] Srilaorkul S., Ozimek L., Stiles M.E.: Growth activity of *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* in ultrafiltered skim milk. J. Dairy Sci., 1989, **72**, 2435-2443.
- [22] Tineke, H.J., Ozimek L., Stiles M.E.: Comparative evaluation of bulk starter substrates on activity and storage of two commercial starter strains. J. Dairy Sci., 1990, **73**, 1166-1172.
- [23] Voutsinas L.P., Katsiari M.C., Pappas C.P., Mallatou H.: Production of brined soft cheese from frozen ultrafiltered sheep's milk. Part 2. Compositional, physicochemical, microbiological and organoleptic properties of cheese. Food Chem., 1995, **52**, 235-247.
- [24] Zmarlicki S. (red.): Ćwiczenia z analizy mleka i produktów mlecznych. Wyd. SGGW. Warszawa 1981.
- [25] Zmarlicki S., Gawęł J., Pijanowski E., Molska I.: Superjogurt – nowy produkt mleczny. Przegl. Mlecz. - dodatek naukowy, 1973, **3**, 1-3.


GROWTH AND SURVIVAL OF YOGURT BACTERIA IN UF MILK RETENTATES

Summary

The aim of the study was to define the growth of yogurt bacteria in UF milk retentates as well as examining their survival in acidified retentates during their storage at 6°C and -18°C for the period of 22 months.

Retentates (concentration factor between 4.0–4.5 and 5.0–5.3) were obtained from pasteurized milk (3.2% fat) by its concentration using ultrafiltration. Retentates after pasteurization (72°C/15s) were fermented (temp. $44 \pm 1^\circ\text{C}$) to the pH 5.1–5.2 by yogurt cultures: YC-X11 and YC-180. During the fermentation process the acidification rate of retentate and pasteurized milk by measuring the pH and titratable acidity were investigated. After 24 hours from processing in retentates acidified to pH 5.1–5.2 the plate count of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* were determined. The survival of yogurt bacteria in acidified retentates were determined by measuring their counts in retentates after 1, 2, 3, 4, 5, 6, 16 and 22 months of storage at 6° and -18°C.

It was found out that retentates showed different rates of acidification compared with milk because of their higher buffer capacity. In general yogurt cultures showed good growth in milk highly concentrated by UF. In retentates acidified to pH 5.1–5.2 the mean plate count of *S. thermophilus* was really high (2.8×10^9 cfu/g). *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* counts were depended from yogurt's culture type used for fermentation and was lower for retentates acidified with YC-X11 culture (2.6×10^5 cfu/g) than for retentates in which YC-180 culture was used (2.7×10^8 cfu/g). Finally both yogurt bacteria showed much better survival in acidified retentates stored at -18°C than stored at 6°C.

Key words: ultrafiltration, retentate, yogurt culture 

MAŁGORZATA ZIARNO, SŁAWOMIR WIĘCŁAWSKI

WPLYW DODATKU MLECZANU WAPNIA NA ROZWÓJ BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ W BULIONIE MRS I W MLEKU

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu, jaki wywiera mleczan wapnia, rozpuszczalna w wodzie sól wapniowa, na rozwój bakterii fermentacji mlekowej w płynnym podłożu hodowlanym - bulionie MRS i mleku. Obserwowano wpływ dodatku tej soli, w ilości 2 lub 4 g do 100 cm³ podłoża hodowlanego, na rozwój mezofilnych i termofilnych paciorkowców i pałeczek fermentacji mlekowej, obecnych w wybranych handlowych kulturach starterowych, powszechnie stosowanych w przemyśle mleczarskim.

Stwierdzono, że mleczan wapnia w użytych dawkach nie wpływał znacząco na dynamikę rozwoju bakterii mlekowych. Przyrost liczby bakterii w podłożach wzbogaconych mleczanem wapnia i podłożach niezawierających dodatku tej soli był podobny (brak statystycznie istotnych różnic przy $P < 0,05$). Stwierdzono jednak inny wpływ, jaki badana sól wapniowa wywierała na bakterie fermentacji mlekowej. Po 24 godz. inkubacji wartość pH podłoża z dodatkiem mleczanu wapnia była wyższa średnio o około 0,2 jednostki w porównaniu z podłożami bez dodatku tej soli. Ponadto, po 24 godz. inkubacji bakterii mlekowych w mleku z dodatkiem 4 g mleczanu wapnia (do 100 cm³ mleka), obserwowano skrzep o słabszej konsystencji niż w mleku bez dodatku mleczanu wapnia. Osiągnięcie kwasowości i zwięzłości skrzepu, takich jak w próbie kontrolnej (w mleku bez dodatku mleczanu wapnia), wymagało dłuższego czasu fermentacji mleka zawierającego dodatek tej soli. Wykazano brak znaczącego wpływu badanych ilości mleczanu wapnia na dynamikę rozwoju mezofilnych i termofilnych kultur starterowych.

Słowa kluczowe: mleczan wapnia, bakterie mlekowe, wzbogacanie, wapń, mleko

Wprowadzenie

Wzbogacanie żywności polega na dodawaniu jednego lub kilku składników odżywczych do środków spożywczych bez względu na to czy normalnie występują w nim, czy nie, w celu zapobiegania i korygowania występujących niedoborów tych składników odżywczych w diecie określonych grup ludności [6]. Dużym zainteresowaniem cieszy się wzbogacanie żywności solami wapniowymi z uwagi na rolę, jaką wapń odgrywa w organizmie człowieka [3, 7].

Dr inż. M. Ziarno, mgr inż. S. Więclawski, Zakład Biotechnologii Mleka, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa

Wzbogacanie mlecznych produktów fermentowanych solami wapniowymi może dawać dodatkowe korzyści. Następuje wówczas połączenie prozdrowotnych właściwości bakterii fermentacji mlekowej z suplementacją produktu w potrzebne minerały. Mleczne napoje fermentowane wydają się być bardzo dobrym źródłem wapnia na skutek niskiego pH, które wpływa korzystnie na wchłanianie tego pierwiastka w jelicie cienkim. Przy produkcji mlecznych napojów fermentowanych ważną cechą jest liczba żywych komórek bakteryjnych znajdujących się w produkcie końcowym oraz ich przeżywalność (stabilność) podczas przechowywania. W czasie starzenia się mlecznych napojów fermentowanych istnieje tendencja do przekwaszania produktu (obniżania pH), czego następstwem jest znaczne zmniejszenie liczby bakterii. Dodatek soli wapniowej rozpuszczalnej w wodzie powoduje zmiany pojemności buforowej, co znacząco wpływa na pH produktu. Dzięki temu, a także z powodu obniżenia kwasowości, powstaje środowisko bliskie optymalnemu dla rozwoju bakterii fermentacji mlekowej [3].

Celem pracy było określenie wpływu, jaki wywiera mleczan wapnia na rozwój bakterii fermentacji mlekowej w płynnym podłożu hodowlanym - bulionie MRS i mleku.

Material i metody badań

Materiałem do badań było odtłuszczone mleko UHT, wolne od substancji hamujących, oraz bezwodny mleczan wapnia (FLUKA, nr kat. 21175) o ciężarze cząsteczkowym 218,22 i zawartości wapnia 13% (m/m). Wzbogacanie pożywek (bulionu MRS i mleka) badaną solą odbywało się już po ich wyjałowieniu. Wszystkie czynności po procesie sterylizacji podłoży wykonano zachowując warunki jałowości.

Doświadczenia przeprowadzono z zastosowaniem sześciu przemysłowych kultur starterowych, w tym trzech termofilnych i trzech mezofilnych. Były to następujące kultury: MY BIO 2 i MY BIO 6 (EZAL, Rhodia Food Biolacta), w których skład wchodzi: *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* sp.; MSK MIX ABN 1-45 (DANISCO), o składzie: *S. salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*; FL-DAN i CHN-19 (Chr Hansen), o składzie: *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetilactis*; PROBAT 505 (WISBY), o składzie: *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetilactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*.

Zakres badań obejmował hodowlę ożywionych kultur w płynnej pożywce MRS oraz w sterylnym mleku zawierających różne dodatki mleczanu wapnia (0; 2 i 4 g /100 cm³) przez 24 godz. w optymalnej temp. wzrostu danej kultury bakterii. Przed i po hodowli oznaczano metodą płytkową liczbę bakterii mlekowych, osobno paciorkowców i pałeczek i na tej podstawie określano wpływ stosowanej soli na wzrost obecnych

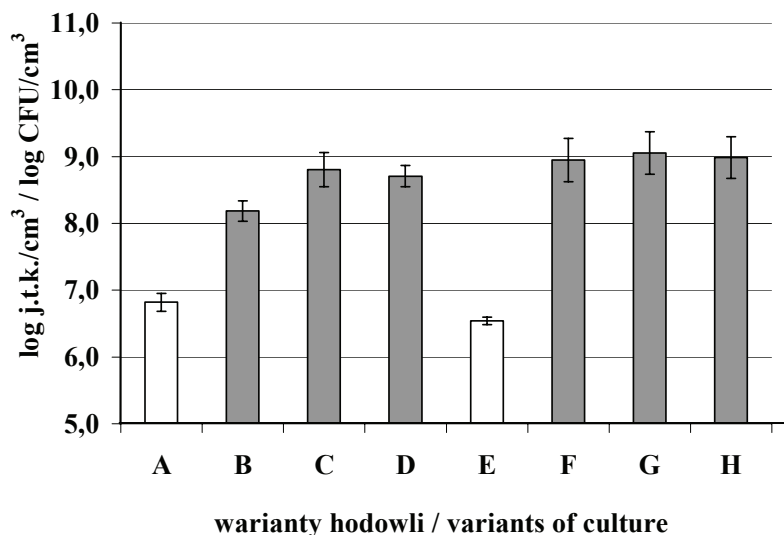
bakterii. Rozcieńczenia mikrobiologiczne wykonywano pipetą automatyczną, przenoszono 1 cm³ mieszaniny pożywki i kultury starterowej do probówki z 9 cm³ rozcieńczalnika. Uzyskiwano w ten sposób rozcieńczenie 10⁻¹. Kolejne rozcieńczenia, aż do 10⁻⁶ sporządzano przenosząc 1 cm³ pierwszego rozcieńczenia do kolejnej probówki z 9 cm³ rozcieńczalnika. W przypadku oznaczania liczby mezofilnych paciorkowców mlekowych płytki z posiewami inkubowano przez 48 godzin w temp. 30°C, w przypadku termofilnych paciorkowców, pałeczek mlekowych i bifidobakterii - w temp. 37°C. W zależności od wymagań hodowanych bakterii, inkubację płytek prowadzono w warunkach tlenowych (w przypadku paciorkowców mlekowych), bądź beztlenowych, w słojach do hodowli beztlenowych firmy Merck z użyciem wkładów wytwarzających warunki beztlenowe (w przypadku pałeczek mlekowych i bifidobakterii).

Po zakończeniu hodowli kultur bakterii w mleku mierzono również kwasowość czynną (przy użyciu pehametru typu PHT 003 EON, z dokładnością odczytu do 0,01), co pozwalało lepiej określić różnice między dynamiką wzrostu bakterii w mleku zawierającym różny dodatek badanej soli.

Badanie dynamiki rozwoju każdej kultury starterowej w bulionie MRS i w mleku wykonano w dwóch niezależnych powtórzeniach. Przy użyciu programu statystycznego Statgraphics Plus v. 4.0 przeprowadzono analizę wariancji dynamiki wzrostu bakterii mlekowych (osobno paciorkowców i pałeczek mlekowych) w podłożu (osobno w bulionie MRS i mleku) w zależności od wielkości dodatku zastosowanej soli wapniowej.

Wyniki i dyskusja

W niniejszych badaniach nie stwierdzono znaczącego wpływu mleczanu wapnia na rozwój bakterii fermentacji mlekowej w podłożu hodowlanym MRS lub w mleku. W większości przypadków hodowli w płynnej pożywce MRS obserwowano nieznaczną zmianę dynamiki wzrostu bakterii w pożywce, w której mleczan wapnia był obecny, jednak różnice te były statystycznie nieistotne. Tylko w dwóch przypadkach zaobserwowano wyższą dynamikę wzrostu w próbkach zawierających dodatek mleczanu wapnia, która okazała się statystycznie istotna. W pierwszym przypadku była to hodowla paciorkowców mlekowych pochodzących ze szczepionki FL-DAN w bulionie MRS zawierającym dodatek mleczanu wapnia (rys. 1), a w drugim przypadku była to hodowla pałeczek mlekowych pochodzących z kultury bakteryjnej PROBAT 505 inkubowanych w mleku z dodatkiem mleczanu wapnia (rys. 2). W większości przypadków hodowli kultur bakterii w mleku, mleczan wapnia nie wpływał istotnie na rozwój bakterii fermentacji mlekowej. Tylko w przypadku pałeczek mlekowych zawartych w szczepionce FL-DAN inkubowanych w mleku, dodatek soli mleczanu wapnia wykazywał znaczące hamowanie wzrostu bakterii (rys. 3).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

A - wyjściowa liczba bakterii w bulionie MRS / initial number of bacteria in MRS broth

B - liczba bakterii po hodowli w bulionie MRS bez dodatku mleczanu wapnia / the number of bacteria after the growth in MRS broth without calcium lactate addition

C - liczba bakterii po hodowli w bulionie MRS z dodatkiem 2 g mleczanu wapnia do 100 cm³ podłoża / the number of bacteria after the growth in MRS broth with 2 g calcium lactate addition into 100 cm³ of medium

D - liczba bakterii po hodowli w bulionie MRS z dodatkiem 4 g mleczanu wapnia do 100 cm³ podłoża / the number of bacteria after the growth in MRS broth with 4 g calcium lactate addition into 100 cm³ of medium

E - wyjściowa liczba bakterii w mleku / initial number of bacteria in milk

F - liczba bakterii po hodowli w mleku bez dodatku mleczanu wapnia / the number of bacteria after the growth in milk without calcium lactate addition

G - liczba bakterii po hodowli w mleku z dodatkiem 2 g mleczanu wapnia do 100 cm³ podłoża / the number of bacteria after the growth in milk with 2 g calcium lactate addition into 100 cm³ of medium

H - liczba bakterii po hodowli w mleku z dodatkiem 4 g mleczanu wapnia do 100 cm³ podłoża / the number of bacteria after the growth in milk with 4 g calcium lactate addition into 100 cm³ of medium

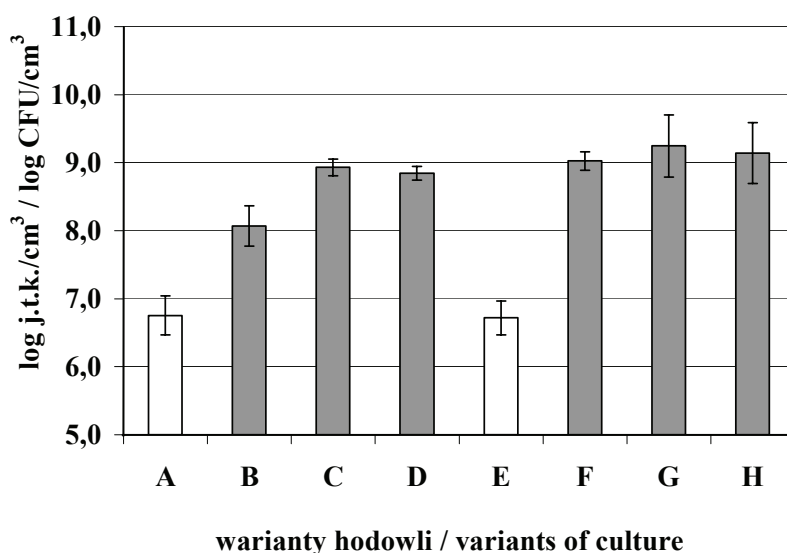
Rys. 1. Liczba mezofilnych paciorkowców mlekowych w hodowli przemysłowej kultury starterowej FL-DAN w płynnym podłożu MRS oraz w mleku bez dodatku i z dodatkiem mleczanu wapnia (średnia wartość z dwóch powtórzeń i odchylenia standardowe).

Fig. 1. The number of mesophilic lactococci of FL-DAN starter culture during growth in MRS broth and milk with and without calcium lactate addition (means for two trials and standard deviations).

Generalnie, na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że dodatek mleczanu wapnia w ilości 2 lub 4 g do 100 cm³ podłoża nie wywierał żadnego istotnego wpływu na rozwój pałeczek i paciorkowców mlekowych. Brak było również różnic w dynamice wzrostu pomiędzy bakteriami mlekowymi hodowanymi w mleku i po-

żywece modelowej MRS bulion. Dyskusja uzyskanych wyników jest jednak utrudniona ze względu na nieliczne dane literaturowe z tego zakresu.

Badania nad wpływem dodatku soli wapniowych na wzrost drobnoustrojów starterowych w jogurcie, przeprowadzone przez Pirkula i wsp. [3], dowodzą, że dodatek glukonianu lub mleczanu wapnia może korzystnie wpływać na liczbę pałeczek mlekowych w czasie przechowywania jogurtu. Badacze ci stwierdzili, że szczególnie korzystny wpływ na rozwój tych bakterii mlekowych wywierał dodatek mleczanu wapnia w ilości 0,4 g do 100 cm³ mleka, natomiast wpływ mleczanu wapnia na rozwój paciorkowców mlekowych nie był znaczący. Również Bielecka [1] zauważa, że dodatek mleczanu wapnia do mleka przeznaczonego do produkcji jogurtu powoduje modyfikację proporcji liczby *Lactobacillus* i *Streptococcus* na korzyść pałeczek.



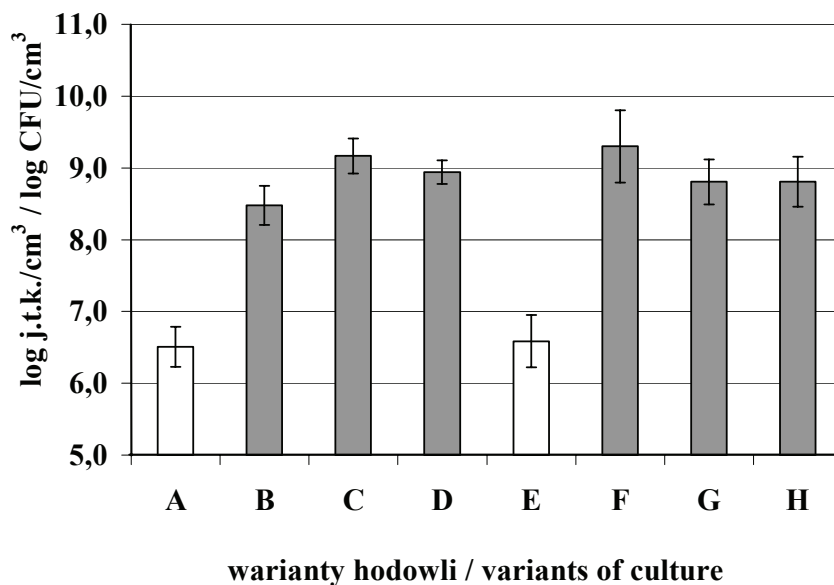
Objaśnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 2. Liczba mezofilnych pałeczek mlekowych w hodowli przemysłowej kultury starterowej PROBAT 505 w płynnym podłożu MRS oraz w mleku bez dodatku i z dodatkiem mleczanu wapnia (średnia wartość z dwóch powtórzeń i odchylenia standardowe).

Fig. 2. The number of mesophilic lactobacilli of PROBAT 505 starter culture during growth in MRS broth and milk with and without calcium lactate addition (means for two trials and standard deviations).

Obserwacje z niniejszych badań różnią się od wyników publikowanych w literaturze. Różnice mogą wynikać między innymi z różnych dodatków mleczanu wapnia. W przypadku niniejszej pracy, dodatek mleczanu wapnia wynosił 2 i 4 g/100 cm³ mleka lub bulionu MRS, natomiast ilość mleczanu wapnia stosowana przez Pirkula i wsp. [3]

wynosiła 0,4 g/100 cm³. Użycie tak dużych dawek soli wapniowej w niniejszej pracy pozwoliło na zbadanie wpływu stosowanej soli na rozwój bakterii fermentacji mlekowej w szerszym zakresie.



Objaśnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

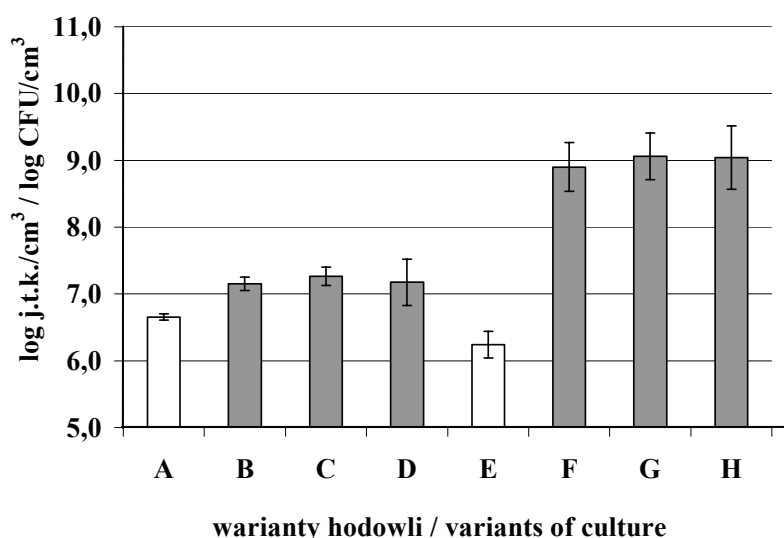
Rys. 3. Liczba mezofilnych pałeczek mlekowych w hodowli przemysłowej kultury starterowej FL-DAN w płynnym podłożu MRS oraz w mleku bez dodatku i z dodatkiem mleczanu wapnia (średnia wartość z dwóch powtórzeń i odchylenia standardowe).

Fig. 3. The number of mesophilic lactobacilli of FL-DAN starter culture during growth in MRS broth and milk with and without calcium lactate addition (means for two trials and standard deviations).

Można przypuszczać, że zastosowany w niniejszej pracy dodatek mleczanu wapnia był na tyle duży, że nie spowodował stymulacji wzrostu pałeczek mlekowych. Stwierdzona przez ww. badaczy średnia liczba pałeczek mlekowych *Lactobacillus* wzrosła z początkowej 1,1×10⁶ jtk/cm³ do 1,6×10⁷ jtk/cm³ w próbce kontrolnej (bez dodatku mleczanu wapnia), natomiast w próbce wzbogaconej mleczanem wapnia w ilości 0,4 g/100 cm³ mleka zaobserwowano wzrost liczby pałeczek mlekowych z początkowej wartości 1,1×10⁷ jtk/cm³ do 6,6×10⁷ jtk/cm³ po 24-godzinnej inkubacji. Zatem procentowy przyrost liczby pałeczek mlekowych w próbce bez dodatku soli wapniowej wyniósł po inkubacji 18,8%. Natomiast procentowy przyrost liczby pałeczek mlekowych w mleku zawierającym dodatek mleczanu wapnia w ilości 0,4 g/100 cm³ mleka wyniósł po inkubacji 29,2%. Po przeprowadzeniu analizy statystycznej

różnice we wzroście między tymi próbkami okazały się statystycznie istotne. W przypadku paciorkowców mlekowych różnice we wzroście pomiędzy próbką kontrolną a próbką wzbogaconą mleczanem wapnia nie były statystycznie istotne. Można zatem wnioskować, że istotny wpływ na dynamikę wzrostu bakterii fermentacji mlekowej wywiera ilość soli użytej do wzbogacania.

W przypadku wzbogacania podłoża hodowlanych mleczanem wapnia, w niniejszej pracy nie było mierzone ich pH po inkubacji. Natomiast wyniki takich pomiarów przedstawili cytowani wcześniej Pirkul i wsp. [3]. Wynika z nich, że w próbkach jogurtu wzbogaconych glukonianem lub mleczanem wapnia, przechowywanych przez 14 dni w warunkach chłodniczych, wartość pH była wyższa niż w produkcie kontrolnym. Różnice kwasowości wynosiły około 0,1-0,2 jednostki (przy dodatku 1 g glukonianu wapnia do 100 cm³ mleka lub 0,4 g mleczanu wapnia do 100 cm³ mleka). Cytowani badacze zauważyli, że im większy był dodatek soli wapniowej, tym końcowe pH było wyższe od tego w próbce kontrolnej.



Objaśnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 4. Liczba termofilnych paciorkowców mlekowych w hodowli przemysłowej kultury starterowej MY BIO 2 w płynnym podłożu MRS oraz w mleku bez dodatku i z dodatkiem mleczanu wapnia (średnia wartość z dwóch powtórzeń i odchylenia standardowe).

Fig. 4. The number of thermophilic lactococci of MY BIO 2 starter culture during growth in MRS broth and milk with and without calcium lactate addition (means for two trials and standard deviations).

Dodatek do mleka soli wapniowej rozpuszczalnej w wodzie, takiej jak mleczan wapnia, powoduje zmniejszenie koncentracji fosforanów i cytrynianów w fazie wodnej, na skutek tworzenia się fosforanów i cytrynianów wapnia w fazie micelarnej. W efekcie, następuje podwyższenie pojemności buforowej przy niskim pH. Jak wykazali Salaün i wsp. [4], pojemność buforowa ma istotny wpływ na dynamikę rozwoju drobnoustrojów. Cytowani badacze wnioskuje, że wysoka pojemność buforowa przy wartości pH optymalnej dla wzrostu drobnoustrojów wydaje się być korzystna w biotransformacji, jednak zależy to od rodzaju drobnoustrojów. Podwyższona pojemność buforowa powoduje dłuższe utrzymywanie się pH na poziomie bliskim optymalnemu dla rozwoju drobnoustrojów w czasie fermentacji mlekowej. Ma to korzystny wpływ na żywotność mikroflory podczas przechowywania mlecznych napojów fermentowanych i zmniejsza tendencję do ich przekwaszania. Dynamiczny rozwój bakterii przyczynia się do lepszego odfermentowania laktozy z mleka, co ma również korzystne aspekty zdrowotne dla ludzi cierpiących na nietolerancję laktozy.

Tak znaczny dodatek mleczanu wapnia, jaki zastosowano w niniejszej pracy (2 i 4 g/100 cm³ podłoża), przyczynia się do osłabienia stabilności termicznej białek mleka, powodując ich koagulację [5, 8, 9]. W badaniach prowadzonych przez Pirkulę i wsp. [3] maksymalna ilość dodanej soli wapnia wynosiła 1 g glukonianu wapnia lub 0,4 g mleczanu wapnia do 100 cm³ mleka, z uwagi na to, że badacze uwzględniali wpływ dodatku tych soli na jakość sensoryczną otrzymywanych jogurtów. Wiadomo, że zbyt duża ilość dodatku soli wapniowej może niekorzystnie wpływać na smak gotowego produktu, powodując odczucie goryczki [2, 5]. W badaniach przeprowadzonych przez Ziarno i wsp. [8], przedstawiono ocenę sensoryczną serków cottage cheese wzbogaconych solami wapnia. Wynika z nich, że im większy jest dodatek mleczanu wapnia tym niższa jakość sensoryczna. Największa dawka mleczanu wapnia, użyta wówczas w badaniach, wynosiła 33 mg%, co w znacznym stopniu ujemnie wpływało na cechy sensoryczne. W niniejszej pracy dodatek 4 g soli mleczanu wapnia do 100 cm³ mleka odpowiadał dodatkowi 520 mg wapnia do 100 cm³ mleka, co wskazuje na możliwość silnego pogorszenia cech sensorycznych produktu. W niniejszych badaniach nie uwzględniano wpływu mleczanu wapnia na cechy sensoryczne.

Podczas przeprowadzania doświadczeń w niniejszej pracy zauważono osłabienie zwięzłości i stabilności skrzepu powstałego po inkubacji 100 cm³ mleka zawierającego dodatek 4 g mleczanu wapnia. Podobnych spostrzeżeń dokonali Pirkul i wsp. [3], którzy stwierdzili osłabienie konsystencji skrzepu podczas produkcji jogurtu z mleka z dodatkiem glukonianu wapnia w ilości 1 g do 100 cm³, natomiast przy dodatku 0,8 g mleczanu wapnia do 100 cm³ mleka nie zaobserwowali negatywnego wpływu dodanej soli.

Przyczyną osłabienia konsystencji skrzepu może być niedostateczne ukwaszenie mleka wzbogaconego solą wapniową rozpuszczalną w wodzie. Jak wspomniano wcze-

śniej, dodatek mleczanu wapnia powoduje, że po tym samym czasie inkubacji, wartość pH wzbogaconych próbek jest wyższa od próbek bez dodatku stosowanych dawek badanej soli, co bezpośrednio wpływa na zdolność do tworzenia skrzepu i jego zwięzłość. Z drugiej strony oznacza to, że do uzyskania podobnej zwięzłości skrzepu potrzeba dłuższego czasu w przypadku mleka wzbogaconego omawianą solą niż tradycyjnego mleka (niezawierającego dodatku soli wapniowej). W praktyce przemysłowej oznacza to dłuższą fermentację mleka z dodatkiem soli wapniowych rozpuszczalnych w wodzie niż zwykłego mleka.

Wnioski

1. Dodatek mleczanu wapnia w ilości 2 lub 4 g do 100 cm³ płynnego podłoża hodowlanego nie wpływa znacząco na dynamikę rozwoju mezofilnych i termofilnych paciorkowców oraz pałeczek mlekowych.
2. Obecność mleczanu wapnia w ilości 2 lub 4 g do 100 cm³ mleka przerobowego nie zmienia dynamiki rozwoju bakterii mlekowych (mezofilnych i termofilnych paciorkowców oraz pałeczek mlekowych).
3. Dodanie mleczanu wapnia do mleka przerobowego sprawia, że wartość pH mleka po fermentacji jest wyższa niż mleka bez tego dodatku i fermentowanego w tych samych warunkach czasowo-temperaturowych. Stosowanie dodatku tej soli do mleka, będącego solą wapniową rozpuszczalną w wodzie, powoduje osłabienie zwięzłości skrzepu powstałego po inkubacji mleka.

Literatura

- [1] Bielecka M.: Bakterie fermentacji mlekowej a przyswajalność wapnia, Mat. Konf. nt. „Szkola letnia. Bakterie fermentacji mlekowej - klasyfikacja, metabolizm, wykorzystanie”, Kazimierz Dolny 29 maj - 2 czerwiec 2000, s. 22.
- [2] Kitlas M., Ziarno M.: Próba wzbogacenia serów twarogowych w wapń. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2002, **3 (32) Supl.**, 79-88.
- [3] Pirkul T., Temiz A., Yasar K.E.: Fortification of yoghurt with calcium salts and its effect on starter microorganisms and yoghurt quality. *Int. Dairy J.*, 1997, **7**, 547-552.
- [4] Salaün F., Mietton B., Gaucheron F.: Buffering capacity of dairy products. *Int. Dairy J.* 2005, **15**, 95-109.
- [5] Shelef L.A., Ryan R.J.: Calcium supplementation of cottage cheese. *J. Dairy Sci.*, 1988, **71**, 2618-2621.
- [6] Świdorski F. (red): Żywność wygodna i żywność funkcjonalna. WNT, Warszawa 1990, s. 229-233, 240.
- [7] Ziarno M.: Wzbogacanie produktów mleczarskich w wapń. *Przegl. Mlecz.*, 2004, **9**, 4-9.
- [8] Ziarno M., Nowak A., Pluta A.: Możliwości zastosowania soli wapniowych do wzbogacania cottage cheese w wapń. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2004, **3**, 103-112.
- [9] Ziarno M., Semeniuk E., Kycia K.: Wpływ dodatku soli wapnia na stabilność mleka przeznaczonego do produkcji sera typu cottage cheese. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **2 (39)**, 81-91.

THE INFLUENCE OF THE CALCIUM LACTATE ADDITION ON THE GROWTH OF THE LACTIC ACID BACTERIA IN THE MRS BROTH AND MILK**S u m m a r y**

The aim of this study was to determine the influence of calcium lactate, water-soluble calcium salt, on the growth of lactic acid bacteria in liquid laboratory media (MRS broth) and milk. The addition of 2 and 4 g of calcium lactate into 100 cm³ of medium on the growth of mesophilic and thermophilic lactococci and lactobacilli, present in commercial dairy starter cultures, was observed.

It was affirmed, that calcium lactate in applied doses did not influenced significantly on the lactic acid bacteria. Increase of the bacteria numbers in calcium lactate fortified media and in the calcium lactate unfortified media were identical ($P < 0,05$). However the different influence of calcium lactate addition on lactic acid bacteria was affirmed. After 24h incubation, pH value of the calcium lactate fortified media was higher than pH of the media without calcium lactate addition. Moreover, after 24h incubation of lactic acid bacteria in milk contained 4 g of calcium lactate (into 100 cm³ of milk), weaker curd was observed than in milk without calcium lactate addition. Longer fermentation time of calcium fortified milk was needed to reach the acidity and the curd conciseness, such as in control sample (in milk without calcium lactate addition). The lack of significant influence of calcium lactate on the dynamics of mesophilic and thermophilic lactic acid bacteria was showed.

Key words: calcium lactate, lactic acid bacteria, fortification, calcium, milk ☒

DOROTA ZIELIŃSKA

BADANIA NAD PRZEŻYWALNOŚCIĄ BAKTERII *LACTOBACILLUS CASEI* KN291 W NAPOJU SOJOWYM

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było określenie przeżywalności bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym, przechowywanym w temp. 5 i 10°C. Napój sojowy zaszczerpiono kulturami bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus casei* KN291 w liczbie 4,5 log jtk/ml i poddano fermentacji, a następnie przechowywano w wybranych warunkach temperaturowych. W trakcie przechowywania, co 4 dni oznaczano liczbę bakterii oraz pH fermentowanego napoju sojowego.

Stwierdzono, że bakterie *Lactobacillus casei* KN291 przeżywają w napoju sojowym zarówno w temp. 5°C, jak i 10°C. W czasie przechowywania napoju sojowego w temperaturze 10°C nastąpiło znaczne obniżenie pH, co może być przyczyną pogorszenia jakości sensorycznej produktu.

Słowa kluczowe: fermentowany napój sojowy, probiotyki, przeżywalność, przechowywanie

Wprowadzenie

Probiotyki to żywe mikroorganizmy, które spożywane w odpowiedniej ilości mają korzystny wpływ na zdrowie organizmu [1]. Probiotyki wykazują wiele efektów prozdrowotnych, między innymi: redukują symptomy nietolerancji laktozy, stymulują system immunologiczny, utrzymują równowagę mikroflory jelitowej, modulują koncentrację cholesterolu we krwi, hamują proliferację komórek rakowych, a także poprawiają funkcje przewodu pokarmowego [8]. Z kolei prebiotyki są składnikami żywności, których korzystne działanie na organizm ludzki jest związane ze stymulacją wzrostu i aktywności niektórych szczepów mikroflory rodzimej lub wprowadzonej z zewnątrz wraz ze spożytą żywnością. Niektóre sacharydy (inulina, oligosacharydy) przez stymulację wzrostu bakterii probiotycznych mogą odgrywać istotną rolę w funkcjonowaniu przewodu pokarmowego człowieka, a szczególnie jelita grubego [7].

Mgr inż. D. Zielińska, Katedra Techniki i Technologii Gastronomicznej, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

Oligosacharydom zawartym w soi przypisuje się także funkcje prebiotyków [5]. Soja i produkty sojowe zawierają ponadto znaczne ilości składników odżywczych, takich jak: białka, o korzystnym składzie aminokwasów oraz wiele innych substancji odżywczych. Z drugiej strony soja zawiera antyodżywcze składniki (np.: inhibitory tripsyny, fityniany, hemaglutyniny). Problem stanowi także specyficzny, nie przez każdego akceptowany, smak soi. Dlatego fermentacja mlekowa odgrywa istotną rolę, gdyż nadaje nowym produktom atrakcyjny smak, poprawia strawność i podnosi biodostępność składników odżywczych [11].

Soja i produkty sojowe znane są również ze swoich właściwości prozdrowotnych, między innymi zapobiegają chronicznym chorobom, takim jak: arterioskleroza, nowotwory, osteoporoza oraz zmniejszają dolegliwości związane z menopauzą [10]. Fermentowane produkty sojowe (np. tempeh) wykazują działanie hamujące biegunkę wywołaną bakteriami *E. coli* przez zmniejszenie adhezji bakterii *E. coli* do komórek nabłonka [11]. Fermentowanym produktom sojowym przypisuje się funkcje przeciwutleniające, działanie przeciwnowotworowe oraz zapobieganie chorobom naczyniowym [3].

Napój sojowy (mleko sojowe) jest wodnym ekstraktem nasion soi. Jest to produkt bogaty w białka o wysokiej wartości odżywczej, niezawierający cholesterolu ani laktozy i tylko małe ilości nasyconych kwasów tłuszczowych [16]. W ostatnich latach podejmuje się próby fermentowania napoju sojowego różnymi szczepami bakterii probiotycznych. Biorąc pod uwagę występowanie w soi prebiotyków sacharydowych, napój sojowy fermentowany bakteriami kwasu mlekowego może być uznany za produkt synbiotyczny [6, 8].

Celem niniejszej pracy było określenie przeżywalności bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym, przechowywanym w dwóch warunkach temperaturowych.

Material i metody badań

Materiałem do badań był napój sojowy firmy Polgrunt o smaku naturalnym oraz szczep bakterii potencjalnie probiotycznych z kolekcji szczepów Politechniki Łódzkiej - *Lactobacillus casei* KN291. Do napoju dodawano 24-godzinne hodowle bakterii i poddawano procesowi fermentacji w temp. 37°C przez 6 godz. Optymalne warunki fermentacji ustalono we wcześniejszych badaniach [17]. Początkowa liczba bakterii kwasu mlekowego w zafermentowanym napoju sojowym wynosiła średnio 6,3 log jtk/cm³. W ten sposób przygotowano 20 prób po 200 cm³ każda. Po 10 próbach fermentowanego napoju sojowego przechowywano w temp. 5 i 10°C przez 28 dni. W trakcie przechowywania, co 4 dni, oznaczano liczbę bakterii kwasu mlekowego metodą płytkową na podłożu wybiórczym MRS firmy Biokar Diagnostic. Na płytce Petriego wylewano po 1 cm³ zawiesiny bakteryjnej z trzech kolejnych rozcieńczeń (w zależności od oczekiwanej liczby bakterii), w dwóch powtórzeniach. Płytki zalewano upłynnionym, ostudzonym agarem, mieszano

i pozostawiano do inkubacji (czas inkubacji 72 godz. w temp. 30°C [13]). Do liczenia wybierano płytki zawierające od 15 do 300 kolonii.

Jednocześnie w trakcie przechowywania, co 4 dni oznaczano pH fermentowanego napoju sojowego aparatem Elmetron Cp551, z uwzględnieniem temperatury napoju. Badanie prowadzono w 10 powtórzeniach w jednym niezależnym doświadczeniu.

Wyniki badań przechowalniczych poddano jednoczynnikowej analizie wariancji. Hipoteza pierwotna brzmiała, że liczba bakterii oraz pH napoju podczas przechowywania w temp. 5 i 10°C nie zmienia się istotnie czyli, że nie istnieje związek (korelacja) między liczbą bakterii a czasem przechowywania oraz pomiędzy pH a czasem przechowywania. Do szczegółowej analizy zastosowano test LSD.

Podjęto również próbę dopasowania funkcji opisującej zjawisko przeżywania bakterii w napoju do średnich wartości liczby bakterii w zadanej temperaturze i czasie przechowywania. Wyznaczono współczynniki determinacji, świadczące o stopniu dopasowania funkcji.

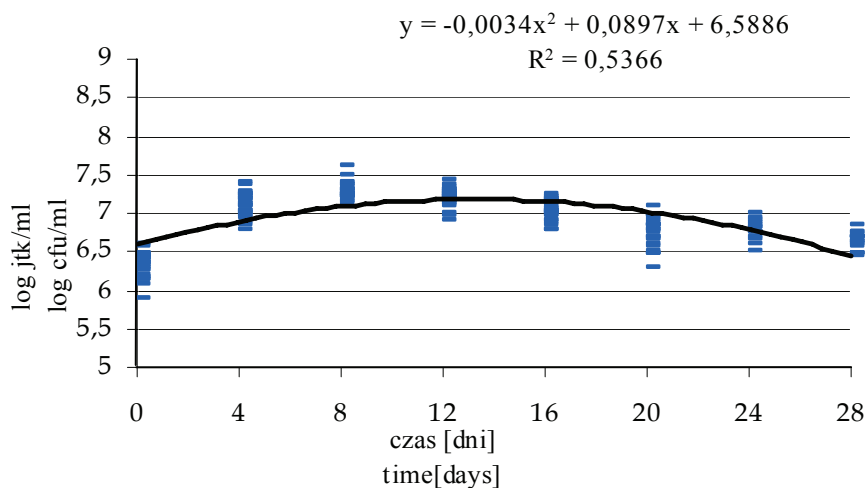
Wyniki i dyskusja

Liczba bakterii *Lactobacillus casei* KN291 bezpośrednio po zaszczepieniu wynosiła około 4,5 log jtk/cm³ i zwiększyła się do około 6 log jtk/cm³ po 6 godz. fermentacji. We wcześniejszych badaniach [17] wykazano, że większa liczba bakterii *L. casei* KN291 w napoju sojowym po 6 godz. fermentacji (tj. 8,8 log jtk/cm³) powoduje zbyt szybkie zakwaszenie środowiska (pH = 5,5), a co za tym idzie pogorszenie jakości sensorycznej napoju w porównaniu z napojem niefermentowanym. Ogólna jakość sensoryczna tego napoju po 7 dniach przechowywania w temp. 10°C była istotnie niższa, dlatego zdecydowano się zmniejszyć liczbę bakterii, tak aby zafermentowany napój zawierał liczbę bakterii około 6 log jtk/cm³. W przypadku żywności funkcjonalnej przyjmuje się minimalną dawkę żywej mikroflory probiotycznej wynoszącą od 10⁵ do 10⁶ komórek/cm³ lub g produktu. Wykazano bowiem, że w celu uzyskania wyraźnych efektów zdrowotnych niezbędne jest minimalne spożycie ok. 10⁸ do 10⁹ komórek żywych mikroorganizmów dziennie [9]. Taka liczba bakterii *Lactobacillus casei* KN291, jaką zdecydowano się użyć w badaniu, może zagwarantować probiotyczność fermentowanego napoju sojowego. Niemniej jednak przy stężeniu bakterii 10⁶ jtk/cm³ oznaczałoby to konieczność dziennego spożycia 1 litra fermentowanego napoju sojowego, co ze względu na inne składniki produktu nie powinno być zalecane. Dlatego dalsze badania koncentrować się będą nad poprawą walorów smakowych, tak aby było możliwe zwiększenie liczby bakterii w napoju.

Temperaturę przechowywania (5 i 10°C) dobrano celowo, aby ocenić wpływ przechowywania w warunkach chłodniczych na jakość produktu.

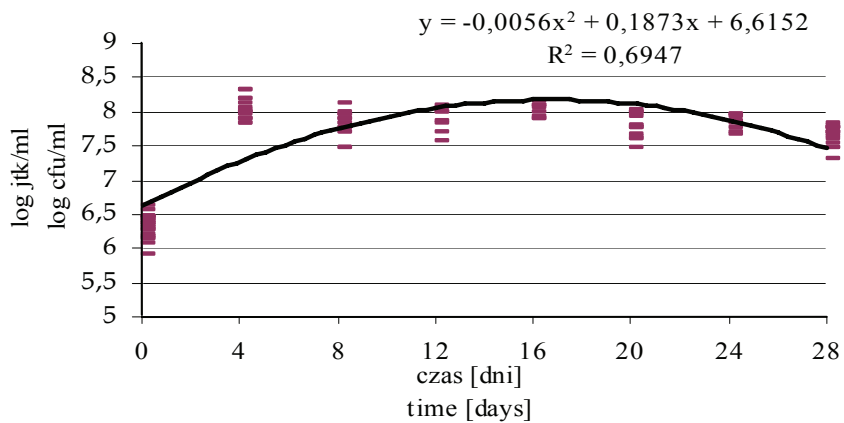
W napojach przechowywanych w temp. 5°C zaobserwowano wzrost liczby bakterii, średnio o 0,93 log jtk/cm³, w ciągu pierwszych 8 dni przechowywania (z liczby

średnio $6,35 \log \text{ jtk/cm}^3$ po fermentacji do liczby średnio $7,28 \log \text{ jtk/cm}^3$). W ciągu kolejnych dni przechowywania zaobserwowano powolne zmniejszanie się liczby bakterii (rys. 1 i 2).



Rys. 1. Krzywa przeżywalności bakterii *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym w temp. 5°C (n = 10).

Fig. 1. Survival curve of *Lactobacillus casei* KN291 in fermented soybean beverage at temp. 5°C (n = 10).



Rys. 2. Krzywa przeżywalności bakterii *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym w temp. 10°C (n = 10).

Fig. 2. Survival curve of *Lactobacillus casei* KN291 in fermented soybean beverage at temp. 10°C (n = 10).

W przypadku napojów przechowywanych w temp. 10°C wzrost liczby bakterii w ciągu pierwszych 4 dni przechowywania wyniósł średnio 1,7 log jtk/cm³ (z liczby średnio 6,33 log jtk/cm³ po fermentacji do liczby średnio 8,03 log jtk/cm³). W kolejnych dniach przechowywania w temp. 10°C obserwowano zmniejszanie się liczby bakterii.

Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji odrzucono hipotezę pierwotną, która brzmiała, że liczba bakterii podczas przechowywania w temp. 5 i 10°C nie zmieni się istotnie, ponieważ $p=0,00001$ i $p<0,05$.

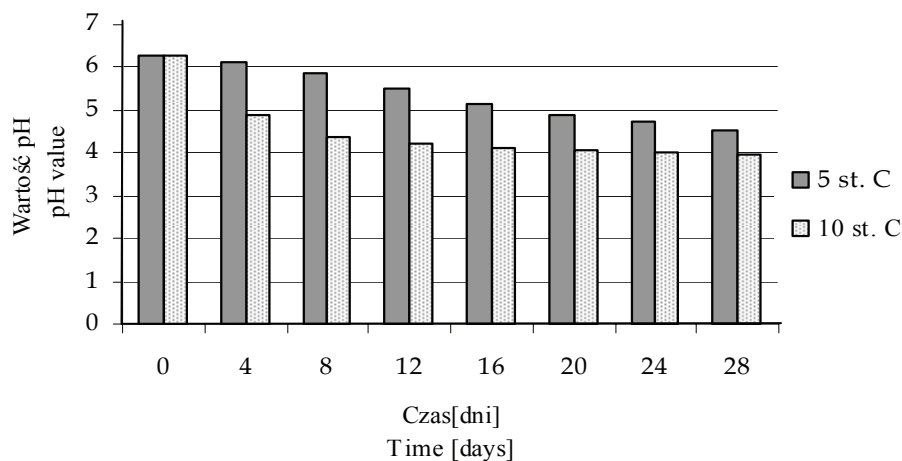
Przy zastosowaniu testu LSD dotyczącego napoju przechowywanego w temp. 5°C wyznaczono grupy homogeniczne, przy 95% poziomie istotności. Grupę homogeniczną stanowiły próby z 20. i 24. dnia przechowywania. Oznacza to, że przedłużenie czasu przechowywania z 20. do 24. dnia przechowywania nie spowoduje istotnej zmiany liczby bakterii.

Na podstawie testu LSD dotyczącego napoju przechowywanego w temp. 10°C wyznaczono trzy grupy homogeniczne, przy 95% poziomie istotności. Pierwszą grupę homogeniczną stanowiły próby z dni: 8., 12., 20., 24., kolejną: 12. i 16., ostatnią próby z dni: 4. i 16. Liczba bakterii potencjalnie probiotycznych od 4. dnia przechowywania utrzymywała się na prawie stałym poziomie do 24. dnia. Oznacza to, że przechowywanie fermentowanego napoju sojowego można wydłużyć do 24. dnia bez istotnej zmiany liczby bakterii potencjalnie probiotycznych.

Wartość pH fermentowanych napojów sojowych przechowywanych w temp. 10°C obniżyła się z 6,27, tuż po fermentacji, do 3,97 po 28 dniach przechowywania (rys. 3), przy czym największą różnicę zaobserwowano 4. dnia (o 1,4). W przypadku temp. przechowywania 5°C obserwowano łagodne obniżanie pH z wartości 6,26, tuż po fermentacji, do wartości 4,52 po 28 dniach przechowywania. W przypadku temp. 10°C, pH od 4. dnia przechowywania utrzymywało się na prawie stałym poziomie aż do 28. dnia składowania.

Na podstawie analizy wariancji odrzucono hipotezę pierwotną, która brzmiała, że pH napoju przechowywanego w temp. 5 i 10°C nie zmieni się istotnie w czasie, ponieważ $p=0,00001$ i $p<0,05$. Przy zastosowaniu testu LSD dotyczącego temp. 5°C wyznaczono grupy homogeniczne, przy 95% poziomie istotności. Grupę homogeniczną stanowią próby z 20. i 24. dnia przechowywania.

Na podstawie testu LSD dotyczącego temp. 10°C wyznaczono trzy grupy homogeniczne, przy 95% poziomie istotności. Pierwszą grupę homogeniczną stanowią próby z dni: 8., 12., 20., 24. i 28., kolejną: 8., 16., 20. i 24., ostatnią próby z dni: 4., 16., 20. i 24.



Rys. 3. Zmiana pH fermentowanego napoju sojowego przechowywanego w temp. 5 i 10°C.
Fig. 3. pH changes during fermented soybean beverage stored at 5°C and 10°C.

Przedstawione obliczenia wskazują, że liczba bakterii *L. casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym była zgodna z funkcją wielomianu. Po 8. dniach przechowywania liczba bakterii w napoju sojowym przechowywanym w 10°C stabilizowała się, natomiast w przypadku napoju przechowywanego w temp. 5°C, bakterie ulegały powolnemu zamieraniu. Prawdopodobnie temp. 5°C była za niska do wzrostu i przeżycia bakterii szczepu *L. casei* KN291. Zaskakujące jest jednak obniżanie pH, towarzyszące zamieraniu bakterii w fermentowanym napoju sojowym przechowywanym w temp. 5°C. Wydaje się, że przyczyną może być nagromadzenie innych metabolitów np. kwasu mlekowego, octowego, aldehydu octowego. W celu wyjaśnienia tego zjawiska w kolejnych badaniach planuje się oznaczenie zawartości wytworzonego kwasu mlekowego.

Podobny efekt wzrostu bakterii *Lactococcus lactis* do 7. dnia przechowywania (ok. 1 rząd logarytmiczny), a następnie zamierania do 14. dnia i ponowny wzrost do 21. dnia składowania w temp. 6°C zaobserwowali Beasley i wsp.[2]. Takiemu zachowaniu się bakterii towarzyszył nieznaczny spadek pH od 4,4 do 4,2.

Bakterie kwasu mlekowego to głównie mezofile, mogą jednak rosnąć zarówno w niskiej temp. 5°C, jak i w wysokiej 45°C. Podobnie wówczas, gdy większość szczepów rośnie w środowisku o pH 4,0-4,5, niektóre z nich są aktywne w pH 9,6, inne w pH 3,2. Szczepy te wykazują słabe właściwości proteolityczne i lipolityczne. Większość z nich wymaga również obecności w podłożu witamin: B₁ (tiamina), B₂ (ryboflawina), kwasu nikotynowego (niacyna), kwasu pantotenowego, kwasu foliowego, biotyny oraz puryn i pirymidyn. Wszystkie bakterie kwasu mlekowego produkują kwas mlekowy, który jest podstawowym produktem końcowym metabolizmu węglowodanów [4].

Wzrost bakterii *Lactobacillus casei* KN291 do 8. dnia przechowywania napoju w temp. 5°C i do 4. dnia w temp. 10°C świadczy o niezakończonyj fermentacji produk-

tu. Można przypuszczać, że bakterie po 6 godzinach fermentacji dopiero rozpoczęły fazę wzrostu, która trwa w czasie przechowywania napoju w temp. chłodniczych. Przypuszczenie to jest wskazówką, aby ponownie dopracować warunki fermentacji napoju sojowego. Wydaje się, że konieczna będzie faza dojrzewania produktu w obniżonej temperaturze. Dalsze badania będą koncentrować się na wyznaczeniu optymalnych warunków (czasu i temperatury) dojrzewania zafermentowanego napoju.

Owczarek i wsp. [12] badając napój sojowy naturalny firmy Polgrunt fermentowany szczepem bakterii probiotycznych *Bifidobacterium infantis* otrzymali podobne wyniki. Podczas przechowywania zafermentowanego napoju przez 4 tygodnie w temp. $4 \pm 1^\circ\text{C}$ liczba bakterii probiotycznych zwiększyła się z $7,15 \text{ jtk/cm}^3$ do $8,74 \text{ log jtk/cm}^3$. Z kolei Shimakawa i wsp. [14] otrzymali odmienne wyniki dotyczące napoju sojowego fermentowanego *Bifidobacterium breve*. W trakcie przechowywania napoju w temp. 10°C w warunkach beztlenowych przez 20 dni, liczba bakterii zmniejszyła się, w zależności od zastosowanego szczepu, o 2 do 4 rzędów logarytmicznych.

W badaniach przeprowadzonych przez Warmińską-Radyko i Łaniewską-Moroz [15], a dotyczących fermentowanych sałatek warzywnych, uzyskano również odmienne wyniki, tzn. zmniejszenie liczby bakterii *Lactobacillus acidophilus* o dwa rzędy logarytmiczne podczas przechowywania przez 14 dni w temp. 8°C .

Wnioski

1. Bakterie potencjalnie probiotyczne *Lactobacillus casei* KN291 przeżywają w zafermentowanym napoju sojowym przechowywanym w temp. 5 i 10°C przez 28 dni, co świadczy o zachowaniu właściwości probiotycznych produktu.
2. Wzrost bakterii *Lactobacillus casei* KN291 do 8. dnia przechowywania napoju w temp. 5°C i do 4. dnia w temp. 10°C świadczy o niezakończony burzliwej fazie fermentacji produktu, co jest wskazówką, aby wprowadzić fazę dojrzewania produktu w obniżonej temperaturze.

Praca wykonana pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Danuty Kołożyn-Krajewskiej była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszawa, 24–25 maja 2006.

Literatura

- [1] Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Raport a Joint FAO/WHO Working Group, 2002.
- [2] Beasley S., Tuorila H., Saris P. E. J.: Fermented soymilk with a monoculture of *Lactococcus lactis*. Int. J. Food Mikrob., 2003, **81**, 159-162.
- [3] Brouns F.: Soya isoflavones: a new and promising ingredient for the health food sector. Food Res. Int., 2002, **35**, 187-193.
- [4] Caplice E., Fitzgerald G. F.: Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. Int. J. Food Mikrob., 1999, **50**, 131-149.


- [5] Chow JM.: Probiotics and prebiotics: A brief overview. *J. Renal. Nutr.*, 2002, **12**, 76-86.
- [6] Gibson G. R., Roberfroid M. B.: Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 1995, **125**, 1401-1412.
- [7] Goderska K., Czarnecka M., Czarnecki Z.: Przeżywalność wybranych szczepów bakterii potencjalnie probiotycznych w sokach warzywnych. W: Bakterie fermentacji mlekowej. Metabolizm, Genetyka, Wykorzystanie. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 2003, s. 124-128.
- [8] I-Chi Cheng, Huey-Fang Shang, Tzann-Feng Lin, Tseng-Hsing Wang, Hao-Sheng Lin, Shyh-Hsiang Lin: Effect of fermented soy milk on the intestinal bacterial ecosystem. *World J. Gastroenterol.*, 2005, **11 (8)**, 1225-1227.
- [9] Klessen B., Bezirtzoglou E., Matto J.: Culture-based knowledge on biodiversity, development and stability of human gastrointestinal microflora. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 2000, **2 (12) Supl.**, 53-63.
- [10] Messina M., Gardner C., Barnes S.: Gaining insight into the health effects of soy but a long way still to go: commentary on the fourth international symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. *J. Nutr.* 2001, **132**, 547-551.
- [11] Nout R.: Food fermentation. In: Health functionality of fermented soybean foods. Ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen 2005, pp. 95-100.
- [12] Owczarek L., Bielecka M., Grzybowski A. R., Zduńczyk Z., Majkowska A., Biedrzycka E., Jasińska U., Sokołowska B., Juśkiewicz J.: Probiotic, fermented beverages based on soy and cereal preparations. *Roadshow 3 Gut Health Support*, 2005, **4**, 1.
- [13] PN-ISO: 15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
- [14] Shimakawa Y., Matsubara S., Yuki N., Ikeda M., Ishikawa F.: Evaluation of *Bifidobacterium breve* strain Yakult-fermented soymilk as a probiotic food. *Int. J. Food Mikrob.* 2003, **81**, 131-136.
- [15] Warmińska-Radyko I., Łaniewska-Moroz Ł., Kujawa K.: Bakterie propionowe w fermentowanych sałatkach warzywnych. *Przem. Spoż.* 1997, **7**, 38-39.
- [16] Yi-Chieh Wang, Roch-Chui Yu, Hsin-Yi Yang, Cheng-Chun Chou: Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria. *Food Microbiol.*, 2003, **20**, 333-338.
- [17] Zielińska D.: Dobór szczepów bakterii *Lactobacillus* i ustalenie warunków fermentacji napoju sojowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (43) Supl.**, 289 - 297.

LACTOBACILLUS STRAIN SURVIVAL STUDY IN FERMENTED SOY BEVERAGE

Summary

The aim of the study was to determine survival of potentially probiotic bacteria *Lactobacillus casei* KN291 in fermented soybean beverage, during storage at temperature 5°C and 10°C. Soybean beverage was inoculated with potentially probiotic bacteria *Lactobacillus casei* KN291 at initial number 4,5 log cfu/cm³, fermented and stored at various temperatures. During storage, every 4th day, the number of probiotic bacteria and pH in fermented soybean beverage were determined.

It was found that potentially probiotic bacteria *Lactobacillus casei* KN291 survive at fermented soybean beverage as well at temperature 5°C as 10°C (-). At temperature 10°C during storage of fermented soybean beverage, the significant decrease of pH was recognized what can be reason of soybean beverage sensory quality decreasing.

Key words: fermented soybean beverage, probiotics, survival, storage 

KAROLINA POSZYTEK, ANDRZEJ LENART

WŁAŚCIWOŚCI SORPCYJNE MODELOWYCH ODŻYWEK SPROSZKOWANYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie właściwości sorpcyjnych mieszanin proszków spożywczych z uwzględnieniem wpływu składu mieszaniny. Zakres pracy obejmował analizę wpływu wybranych proszków spożywczych i utworzonych z nich mieszanin na kinetykę i izotermę adsorpcji pary wodnej. Modelową żywność w proszku stanowiły mieszaniny tworzone z następujących proszków spożywczych: mleka w proszku, cukru pudru, proszku truskawkowego, kaszki kukurydzianej i kaszki ryżowej. Analizowane składniki i mieszaniny w proszku charakteryzowały się zróżnicowaną zdolnością adsorpcji pary wodnej. W przedziale aktywności wody a_w 0 – 0,9 występowały wyraźne różnice w przebiegu izoterm i krzywych kinetyki badanych proszków i utworzonych na ich podstawie mieszanin. Izotermę adsorpcji pary wodnej mleka w proszku, kaszki kukurydzianej i kaszki ryżowej oraz badanych mieszanin miały przebieg zgodny z przebiegiem izoterm typu II według klasyfikacji BET. Jedynie cukier puder i proszek truskawkowy cechowały się odmiennym przebiegiem izoterm od pozostałych proszków, charakterystycznym dla izoterm typu III według klasyfikacji BET.

Słowa kluczowe: proszki spożywcze, mieszaniny wieloskładnikowe, kinetyka adsorpcji, izotermę adsorpcji

Wprowadzenie

Zachowanie się produktów spożywczych w kontakcie z wilgotnym powietrzem jest opisane przez izotermę sorpcji pary wodnej, która wykazuje związek pomiędzy zawartością wody a aktywnością wody w danej temperaturze. Sorpcja pary wodnej na powierzchni artykułu żywnościowego może mieć charakter fizyczny lub chemiczny, a zaadsorbowana wilgoć może zajmować jedną lub kilka warstw. Izotermę sorpcji pary wodnej umożliwiają charakterystykę mikrostruktury oraz teoretyczną interpretację zjawisk fizycznych zachodzących na powierzchni kontaktu żywność – substancja lotna [5]. Produkty w formie sypkiej mają złożoną budowę i strukturę, włączając zdolne do

krystalizacji substancje rozpuszczalne, takie jak cukier, które podczas adsorpcji pary wodnej zmieniają się w substancje krystaliczne [4].

Większość produktów spożywczych to substancje o złożonym składzie chemicznym i niejednorodnej strukturze, a więc eksperymentalne wyznaczanie izoterm sorpcji jest konieczne, gdyż teoretyczne przewidywanie ich przebiegu jest utrudnione. Znajomość izoterm sorpcji jest niezbędna do ustalenia optymalnych warunków przechowywania żywności suszonej oraz doboru odpowiednich opakowań [1, 8]. Izotermy sorpcji są wykorzystywane przy mieszaniu suchej żywności w proszku o różnej higroskopijności (koncentratów, ciast, odżywek, napojów). W hermetycznie zamkniętej mieszaninie wieloskładnikowej ustala się równowaga aktywności wody przez przenikanie pary wodnej w materiale. Zwiększanie zawartości wody w składnikach o mniejszej aktywności odzwierciedla izoterma adsorpcji, a zmniejszanie wilgotności – izoterma desorpcji [7].

Wrażliwość produktów suszonych na wilgoć i zdolność chłonięcia wody może być określana na podstawie kinetyki sorpcji, czyli zależności pomiędzy zmianą masy produktu wskutek adsorpcji lub desorpcji pary wodnej [2, 3].

Celem pracy było określenie właściwości sorpcyjnych mieszanin proszków spożywczych z uwzględnieniem wpływu składu mieszaniny.

Zakres pracy obejmował analizę wybranych proszków spożywczych i utworzonych z nich modelowych mieszanin, o składzie surowcowym typowym dla odżywek dla dzieci, na kinetykę i izotermy adsorpcji pary wodnej.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiły dostępne na rynku produkty w proszku: mleko pełne w proszku (MP), cukier puder (CP), kaszka ryżowa (KR) o różnym składzie granulometrycznym - $0,2 < d < 0,63$ mm (KR_1) i $0,8 < d < 1,25$ mm (KR_2), kaszka kukurydziana (KK), i proszek truskawkowy (PT), z których w wyniku zmieszania w odpowiednich proporcjach utworzono modelowe mieszaniny:

- A (MP 40%, CP 25%, KR_1 33%, PT 2%),
- B (MP 40%, CP 25%, KR_2 33%, PT 2%),
- C (MP 40%, CP 25%, KK 33%, PT 2%),
- D (MP 0%, CP 25%, KR_1 73%, PT 2%),
- E (MP 40%, CP 25%, KR_1 35%, PT 0%),
- F (MP 73%, CP 25%, KR_1 0%, PT 2%).

W badanych surowcach oznaczano zawartość wody metodą suszenia w temp. 105°C przez 4 h [6] oraz aktywność wody w aparacie ROTRONIC, model Hygroskop DT1, w temp. $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Izotermy adsorpcji pary wodnej wyznaczano metodą statyczno-eksykatorową. Badane produkty umieszczano w ekzykatorach. Jako czynniki higrostatyczne zastosowano nasycone roztwory soli. Produkty przechowywano w stałej wilgotności względ-

nej 0–0,903 przez 3 miesiące. Na podstawie zmian masy określano zawartość wody w produktach po przechowywaniu.

Kinetykę adsorpcji pary wodnej oznaczano korzystając ze stanowiska umożliwiającego ciągły pomiar i komputerowy zapis zmian masy próbki w środowisku o aktywności wody 0,75 (nasycony roztwór NaCl) i w stałej temp. 25°C, w ciągu 24 h. W obydwu oznaczeniach próbki wcześniej dosuszano w temp. 70°C przez 24 h.

Uzyskane wyniki określające zdolność adsorpcji pary wodnej przez składniki modelowych odżywek dla dzieci, jak i same odżywki poddano statystycznej analizie wariancji w programie Statistica 5.0. W celu dokonania analizy porównawczej otrzymanych wyników badań i ich wzajemnych relacji obliczano NIR. Wnioskowanie statystyczne przeprowadzono na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wszystkie pomiary i oznaczenia powtarzano trzykrotnie.

Wyniki i dyskusja

Spośród badanych proszków spożywczych pobranych bezpośrednio z opakowania największą aktywnością wody cechował się cukier puder CP - $a_w = 0,37$, a najniższą aktywność wody wykazywała kaszka kukurydziana KK i mleko w proszku MP - $a_w = 0,09$. Natomiast największą zawartość wody oznaczono w proszku truskawkowym PT - 7,53 g H₂O/100 g s.s., najmniejszą w cukrze pudrze CP - 0,42 g H₂O/100 g s.s. (tab. 1). Wyniki te wskazują na brak prostej zależności między zawartością wody w danym produkcie żywnościowym a jej aktywnością [7].

Izotermy adsorpcji pary wodnej przez mleko w proszku MP, kaszkę kukurydzianą KK i kaszkę ryżową KR niezależnie od stopnia granulacji miały przebieg zgodny z przebiegiem izoterm typu II według klasyfikacji BET (rys. 1). Charakterystyczny sigmoidalny kształt uzyskanych izoterm związany jest z występowaniem zakresu adsorpcji monomolekularnej w atmosferze o niskiej aktywności wody ($a_w < 0,3$), zakresu adsorpcji wielowarstwowej ($0,3 < a_w < 0,65$) i kondensacji kapilarnej ($a_w > 0,65$). Tego typu izotermy są często spotykane w odniesieniu do produktów spożywczych wysoko-białkowych i skrobiowych [4, 7].

Izotermy adsorpcji pary wodnej przez cukier puder CP i proszek truskawkowy PT cechowały się tym samym kształtem, charakterystycznym dla produktów bogatych w cukry (rys. 1). Nie obserwowano przegięcia izoterm w zakresie niskich aktywności wody. Izotermy tego typu należą do izoterm III typu według klasyfikacji BET. Charakteryzują się one brakiem istotnej granicy w przejściu z adsorpcji monomolekularnej do adsorpcji wielowarstwowej. Wystąpiły dość duże różnice zawartości wody w poszczególnych składnikach odżywek sproszkowanych przy równych aktywnościach wody. Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej wykazano statystycznie istotne różnice ($P < 0,05$) zdolności adsorpcji pary wodnej przez poszczególne składniki modelowych odżywek dla dzieci.

Tabela 1

Zawartość i aktywność wody badanych proszków spożywczych (pobranych bezpośrednio z opakowania) i ich mieszanin.

Water content and water activity of investigated food powders (taken directly from packages) and their mixtures.

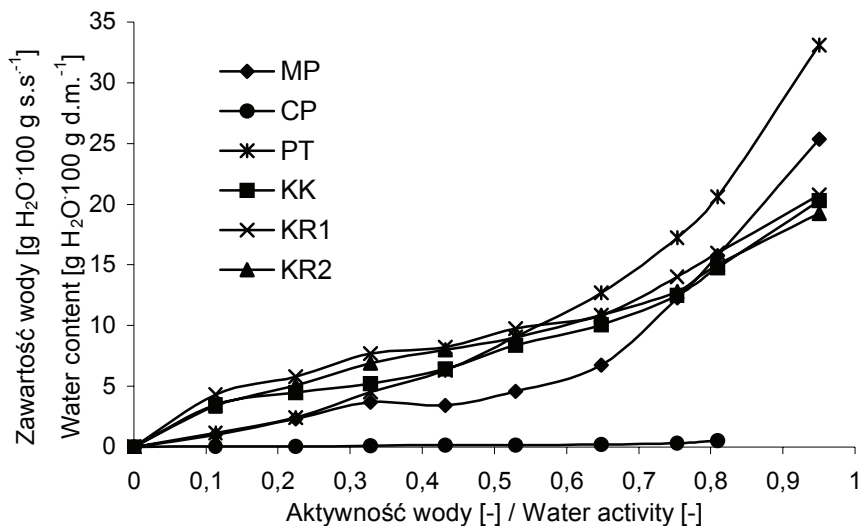
Produkt Product	Zawartość wody [g H ₂ O/100 g s.s.] Water content [g H ₂ O/100 g d.m.]	Aktywność wody [-] Water activity [-]
Kaszka kukurydziana / Corn gruel KK	4,13	0,09
Kaszka ryżowa / Rice gruel KR	5,48	0,12
Mleko w proszku / Milk powder MP	3,22	0,09
Cukier puder / Powdered sugar CP	0,42	0,37
Proszek truskawkowy / Strawberry powder PT	7,53	0,26
Mieszanina A / Mixture A	5,02	0,23
Mieszanina B / Mixture B	4,68	0,23
Mieszanina C / Mixture C	4,35	0,23
Mieszanina D / Mixture D	5,84	0,25
Mieszanina E / Mixture E	5,73	0,16
Mieszanina F / Mixture F	3,76	0,24

W przypadku mleka w proszku MP i mieszaniny F zawierającej (mleko w proszku MP 73%) duży udział jednego składnika tworzącego mieszaninę zaobserwowano nieciągłość izotermy w przedziale aktywności wody 0,33 – 0,44 (rys. 1 i 2), co ma związek z przemianami fazowymi laktozy, tzn. przejściem cukru ze stanu amorficznego w krystaliczny [3, 8].

Izotermy adsorpcji pary wodnej przez poszczególne składniki odżywek wykazały zróżnicowaną zdolność chłonięcia wody z otoczenia. Największą higroskopijność wykazywała kaszka ryżowa KR w przedziale aktywności wody a_w 0 – 0,53 i proszek truskawkowy PT w zakresie a_w 0,53 – 0,9. Najbardziej ograniczoną higroskopijność wykazywał cukier puder CP w zakresie a_w 0 – 0,81 (rys. 1 i 2).

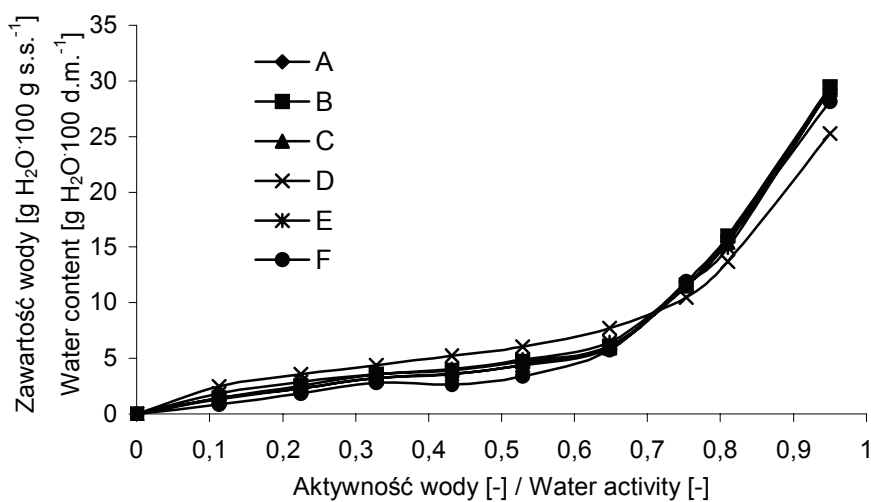
Odżywki o dominującym udziale w składzie jednego ze składników (73%), charakteryzowały się najbardziej zróżnicowanym przebiegiem izoterm adsorpcji pary wodnej. Udział proszku mlecznego w mieszaninie F (73%) spowodował zmniejszenie zdolności chłonięcia wody z otoczenia w przedziale a_w 0 – 0,75, a powyżej tej aktywności wody następował intensywny wzrost higroskopijności (rys. 2). Odwrotna zależność występowała w przypadku mieszaniny D, w której głównym składnikiem była kaszka ryżowa KR₁ (73%). Zastąpienie mleka w proszku MP kaszką ryżową KR₁ spowodowało statystycznie istotne różnice w przebiegu izoterm adsorpcji pary wodnej

pomiędzy mieszaniną D a mieszaninami A i F. Podobnie zastąpienie proszku truskawkowego PT kaszką ryżową KR₁ przyczyniło się do statystycznie istotnej różnicy ($P < 0,05$) w przebiegu krzywych A i E.



Rys. 1. Izotermi adsorpcji pary wodnej składników odżywek sproszkowanych.

Fig. 1. Adsorption isotherms of water vapour of powdered nutrients components.

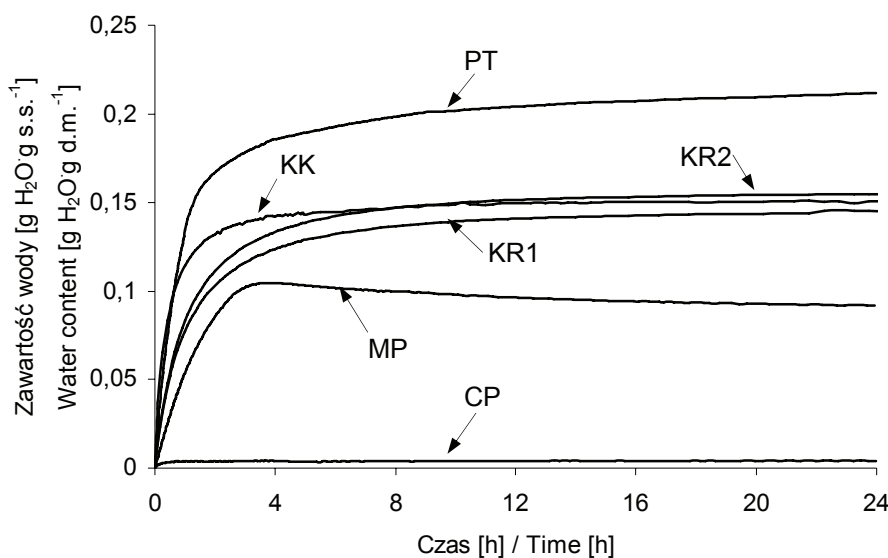


Rys. 2. Izotermi sorpcji mieszanin proszków spożywczych.

Fig. 2. Sorption isotherms of water vapour of food powders mixture.

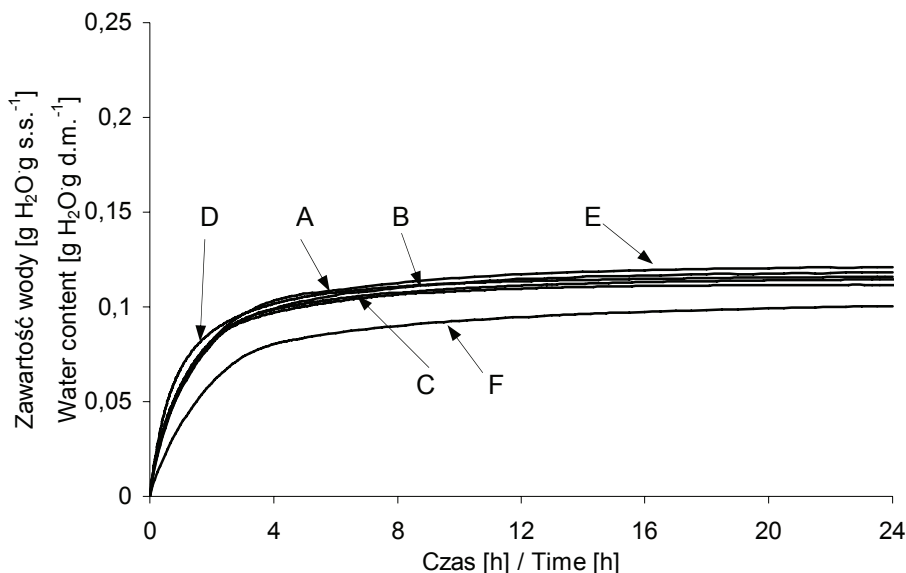
Kinetykę adsorpcji pary wodnej przez składniki odżywek sproszkowanych i mieszaniny odpowiadające składem surowcowym sproszkowanym odżywkom dla dzieci przedstawiono na rys. 3 i 4. Kinetyka adsorpcji pary wodnej składników, jak i samych mieszanin (modelowych odżywek), wykazywała podobną tendencję, przebiegając w sposób zbliżony do izoterm adsorpcji pary wodnej przez te produkty. Proszek truskawkowy PT charakteryzował się największą zdolnością adsorpcji wody. Najmniejszą zdolność chłonięcia wody wykazywał cukier puder CP. Podobną zdolność chłonięcia wody z otoczenia wykazywały kaszka kukurydziana KK i kaszka ryżowa KR niezależnie od wielkości cząstek (rys. 3). Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej wykazano statystycznie istotne różnice ($P < 0,05$) w przebiegu krzywych kinetycznych adsorpcji pary wodnej przez poszczególne składniki modelowych sproszkowanych odżywek.

Wymieszanie składników o różnej zdolności do adsorbowania wody spowodowało uśrednienie uzyskanych wartości równowagowej zawartości wody (rys. 4). Zdolność chłonięcia wody przez analizowane mieszaniny A, B, C, D i E była porównywalna i zawierała się w przedziale 0,11–0,12 $\text{H}_2\text{O}/\text{g s.s.}$ Jednakże przeprowadzona analiza statystyczna wykazała nieznaczne, ale statystycznie istotne ($P < 0,05$) różnice w przebiegu tych krzywych kinetycznych. W mieszaninie F, w której największy udział stanowiło mleko w proszku (73%), nastąpiło obniżenie krzywej kinetyki w stosunku do pozostałych mieszanin. Zdolność chłonięcia wody z otoczenia o aktywności wody 0,75 przez mieszaninę F wynosiła 0,1 $\text{H}_2\text{O}/\text{g s.s.}$ po 24 h adsorpcji (rys. 4).



Rys. 3. Kinetyka adsorpcji pary wodnej przez składniki odżywek sproszkowanych.

Fig. 3. Kinetic of water vapour adsorption of powdered nutrients components.



Rys. 4. Kinetyka adsorpcji pary wodnej przez mieszanki w proszku.

Fig. 4. Kinetic of water vapour adsorption of food powders mixture.

Wnioski

1. Analizowane składniki i mieszanki w proszku charakteryzowały się zróżnicowaną zdolnością adsorpcji pary wodnej. W całym przedziale aktywności wody $0 < a_w < 0,9$ występowały wyraźne różnice w przebiegu izoterm badanych proszków i utworzonych na ich podstawie mieszanin (modelowych odżywek sproszkowanych).
2. Izoterm adsorpcji pary wodnej przez mleko w proszku, kaszkę kukurydzianą i kaszkę ryżową oraz przez badane mieszanki miały przebieg zgodny z przebiegiem izoterm typu II według klasyfikacji BET. Jedynie cukier puder i proszek truskawkowy wykazały odmienny przebieg izoterm charakterystyczny dla typu III według klasyfikacji BET.
3. Zmieszanie składników o różnych zdolnościach adsorpcji pary wodnej wpłynęło na uśrednienie uzyskanych wartości równowagowej zawartości wody. Zwiększony udział mleka w proszku (73%) spowodował znaczne zmniejszenie zdolności chłonięcia wody z otaczającego środowiska przez badane modelowe odżywki dla dzieci.

Praca była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszawa, 24–25 maja 2006.

Literatura

- [1] Foster K.D., Bronlund J.E., Paterson A.H.J.: The prediction of moisture sorption isotherms for dairy powders. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 411–418.
- [2] Kowalska H., Domian E., Janowicz M., Lenart A.: Właściwości sorpcyjne wybranych mieszanin proszków spożywczych o składzie białkowo/węglowodanowym. *Inż. Rol.*, 2005, **11 (71)**, 259-266.
- [3] Kowalska J., Lenart A.: The influence of ingredients distribution on properties of agglomerated cocoa products. *J. Food Eng.*, 2005, **68 (2)**, 155-161.
- [4] Mathlouthi M., Roge B.: Water vapour sorption isotherms and the caking of food powders. *Food Chem.*, 2003, **82**, 61-71.
- [5] Medeiros M. L., Bartolomeu Ayrosa A.M., de Moraes Pitombo R.N., da Silva Lannes S.C.: Sorption isotherms of cocoa and cupuassu products. *J. Food Eng.*, 2006, **73**, 402–406.
- [6] PN/A/79011/3:1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości wody.
- [7] Praca zbiorowa pod red. Sikorskiego Z.E.: Woda jako składnik żywności. W: *Chemia żywności*. WNT, Warszawa 2003, s. 79-83.
- [8] Sukumar D., J. Hemavathy J., Bhatb K.K.: Moisture sorption studies on onion powder. *Food Chem.*, 2002, **78**, 479–482.

SORPTION PROPERTIES OF MODELLED POWDERED NUTRIENTS

Summary

The aim of this study was measurement of sorption properties of food powder mixtures with regards of mixture composition influence. The range of the work included analysis of water vapour adsorption on kinetics and isotherms of chosen food powders and formed from them mixtures. The modelled food powders were created on basis of following powders: milk powder, powdered sugar, strawberry powder, corn gruel and rice gruel. Analysed components and food powder mixtures were characterized with diversified ability of adsorption of water vapour. In the range of water activity 0–0.9 noticeable differences in course of isotherms and curves of kinetics of water adsorption ability for measured food powders and formed on their base mixtures were appeared. Isotherms of water vapour adsorption for milk powder, corn gruel and rice gruel and researched mixtures had a compatible course with course of II type isotherms according to BET classification. Only powdered sugar and strawberry powder were characterized with different course and were characterized with course of III type isotherms according to BET classification.

Key words: food powders, multiple mixtures, sorption kinetics, sorption isotherms 

ELWIRA WOROBIEJ, RAFAŁ WOŁOSIAK, MARTA CHWALISZ

WŁAŚCIWOŚCI BIAŁEK PREPARATÓW CZĘŚCI BIAŁKOWEJ JAJA W PROCESIE UTLENIANIA

Streszczenie

W pracy badano właściwości przeciwutleniające podstawowych frakcji białek części białkowej jaja kurzego (owoalbuminy, lizozymu) oraz preparatów handlowych białka jaja i albumin (żelującej i piennej). Badano też modyfikacje białek spowodowane autooksydacją kwasu linolowego.

Badane preparaty handlowe wykazały dobrą aktywność przeciwutleniającą wobec rodników $\cdot\text{OH}$, natomiast nieco słabiej działały jako inhibitory autooksydacji kwasu linolowego. Lizozym wykazał lepsze właściwości przeciwutleniające niż owoalbumina.

Zmiany białek pod wpływem działania nadtlenu kwasu linolowego badano przez pomiar zmian zawartości tryptofanu i powstających w wyniku utleniania pochodnych karbonylowych. Wyniki wskazują, że białka jaja uczestniczące w inhibicji utleniania kwasu linolowego ulegają zmianom wynikającym z modyfikacji oksydacyjnej wchodzących w ich skład aminokwasów (m.in. degradacja tryptofanu).

Słowa kluczowe: białka jaja kurzego, przeciwutleniacze, nadtlenu kwasu linolowego, utlenianie białek

Wprowadzenie

Białka jaja kurzego mają różnorodne właściwości funkcjonalne, takie jak: żelowanie, koagulowanie, tworzenie i stabilizowanie piany oraz utrzymywanie wody, dzięki czemu znalazły szerokie zastosowanie jako dodatki do żywności [12]. Są wykorzystywane w serowarstwie (sery dojrzewające), przemyśle mięsnym (mięso i ryby w stanie surowym, paszety, pieczenie, kiełbasy, konserwy mięsne), w ciastkarstwie, cukiernictwie artykułów piankowych, przy produkcji piwa, wina, miodów pitnych, a także w przemyśle tłuszczowym (oleje). Łatwość otrzymywania preparatów białkowych z jaja kurzego stanowi dodatkową zaletę ich zastosowania. Wykorzystanie białek jaja kurzego jako dodatków funkcjonalnych wzbogaca równocześnie wartość odżyw-

Dr inż. E. Worobiej, dr inż. R. Wołosiak, mgr inż. M. Chwalisz, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

czą żywności. Białka te charakteryzują się, bowiem kompleksowym składem aminokwasowym, mają bardzo dobrą strawność i są łatwo przyswajalne przez organizm człowieka.

Wyniki ostatnich badań wykazały, że białka pochodzące z różnych surowców mogą pełnić ponadto rolę naturalnych przeciwutleniaczy. Ich obecność zabezpiecza przed niekorzystnymi zmianami i stratami składniki żywności w procesie utleniania, szczególnie lipidy [15,16,17]. Działając jako przeciwutleniacze białka mogą ulegać jednocześnie licznym zmianom (modyfikacja reszt aminokwasów, fragmentacja lub tworzenie poprzecznych wiązań i agregacja białek), które skutkują obniżeniem ich wartości biologicznej [4, 6, 14].

Celem niniejszej pracy było określenie właściwości przeciwutleniających preparatów handlowych białka jaja i albuminy (żelującej i pianistej) oraz wybranych frakcji białek części białkowej jaja kurzego (owoalbuminy, lizozymu), a także określenie wpływu procesu utleniania na białka.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiły preparaty handlowe białek części białkowej jaja - albumina pianista, albumina żelująca, białko jaja w proszku (Zakłady Jajczarskie „Ovopol”) oraz standardy białek - owoalbumina (Sigma) i lizozym (Fluka).

Charakterystyka białek preparatów obejmowała oznaczenie:

- powierzchniowej hydrofobowości aromatycznej białek metodą z kwasem 8-anilino-1-naftalenosulfonowym (ANSA, Sigma) przez pomiar intensywności fluorescencji przy $\lambda_{wz} = 390$ nm i $\lambda_{em} = 479$ nm,
- zawartości dostępnych grup sulfhydrylowych w reakcji z 2,2'-ditiobis(5-nitropirydyną) (DTNP, Sigma) metodą spektrofotometryczną przy $\lambda = 386$ nm,
- zdolności chelatowania jonów żelaza(II) metodą spektrofotometryczną z ferrozyną przy $\lambda = 562$ nm,
- rozdział elektroforetyczny frakcji na żelach poliakrylamidowych z SDS [8].

Aktywność przeciwutleniającą białek części białkowej jaja oznaczano wobec rodników hydroksylowych, a także nadlenków w emulsji kwasu linolowego. Rodniki $\cdot\text{OH}$ wytwarzano w mieszaninie zawierającej Cu(II)/H₂O₂/benzoesan sodu/DTET [5]. Na podstawie wartości intensywności fluorescencji ($\lambda_{wz} = 308$ nm i $\lambda_{em} = 410$ nm) powstających w reakcji hydroksylowych pochodnych benzoesanu obliczano aktywność przeciwrodnikową preparatów wobec $\cdot\text{OH}$ [%].

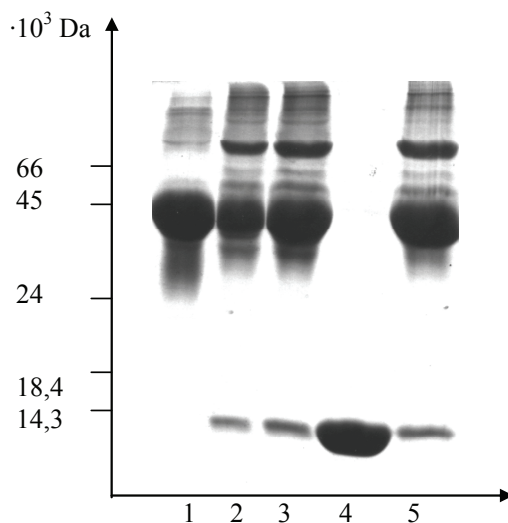
Właściwości przeciwutleniające białek wobec nadtlenków wytwarzanych w reakcji katalizowanej hemoglobina w emulsji kwasu linolowego badano metodą spektrofotometryczną z tiocyjanianem amonu przy $\lambda = 480$ nm [7], również przeliczając uzyskane wyniki absorbancji na aktywność wyrażoną w [%].

Zmiany białek w wyniku działania nadtlenków kwasu linolowego monitorowano po określonym czasie (0, 1, 3, 7, 14 dniach) inkubacji próbek w temp. 60°C poprzez pomiar zmian intensywności fluorescencji tryptofanu ($\lambda_{wz} = 282$ nm i $\lambda_{em} = 331$ nm) oraz pochodnych karbonylowych białek ($\lambda_{wz} = 350$ nm i $\lambda_{em} = 450$ nm) [13].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statgraphics Plus 3.0, obliczając współczynniki korelacji liniowej oraz statystyczną istotność różnic między wartościami średnimi (test LSD).

Wyniki i dyskusja

Na podstawie rozdziełów elektroforetycznych (rys. 1) wykazano, że w skład białek preparatów handlowych białka jaja i albumin (żelującej i pianistej) wchodziły frakcje o m.c.z.: $14,3 \cdot 10^3$ Da (lizozym), $45 \cdot 10^3$ Da (owoalbumina), oraz kilka frakcji powyżej $66 \cdot 10^3$ Da, między innymi owotransferyna o m. cz. $76 \cdot 10^3$ Da [12], która w warunkach denaturujących rozdziela się elektroforetycznie w nieco niższym zakresie masy [11]. W elektroforegramie preparatu wysoko oczyszczonej owoalbuminy widoczna jest charakterystyczna frakcja tego białka o m. cz. $45 \cdot 10^3$ Da, oraz śladowe ilości frakcji powyżej $66 \cdot 10^3$ Da.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

1 – albumina jaja / egg albumin; 2 – albumina żelująca / gelling albumin; 3 – albumina pianista / foaming albumin; 4 – lizozym / lysozyme; 5 – białko jaja w proszku / egg white powder

Rys. 1. Elektroforetyczny rozdział preparatów białek jaja.

Fig. 1. Gel electrophoresis patterns of egg white protein preparations.

W hamowaniu procesu utleniania lipidów, według Tonga i wsp. [15], ważną rolę pełnią grupy sulfhydrylowe białek. Wykazują one zdolność rozkładania wodoronadtlenków oraz wygaszania wolnych rodników. Zawartość dostępnych grup tiolowych (tab. 1) kształtowała się na podobnym poziomie w badanych preparatach białek jaja (22-25 μM -SH/g białka), z wyjątkiem lizozymu (ok. 10 μM -SH/g białka). Lizozym charakteryzował się również najniższą (5-krotnie niższą w porównaniu z oczyszczoną frakcją owoalbuminy) powierzchniową hydrofobowością aromatyczną (tab. 1). Wielkości hydrofobowości preparatów białka jaja oraz albuminy żelującej były zbliżone i nieco wyższe od standardu albuminy. Najwyższą, spośród badanych preparatów handlowych białek, powierzchniową hydrofobowość aromatyczną stwierdzono w przypadku albuminy pianistej. Mogło to być spowodowane dodatkiem substancji powierzchniowo czynnej (TEC – ester trietylowy kwasu cytrynowego) podczas produkcji preparatu albuminy pianistej, co poprzez obniżenie polarności środowiska wpłynęło na rozwinięcie struktury białka i zwiększenie dostępności aminokwasów hydrofobowych.

Tabela 1

Charakterystyka białek preparatów części białkowej jaja.

The characteristic of egg white protein preparations.

Preparat Preparation	Zawartość dostępnych grup tiolowych [μmole -SH/g białka] Available thiol groups content	Powierzchniowa hydrofobowość aromatyczna [j.u. FI/g białka] Aromatic surface hydrophobicity	Chelatowanie jonów żelaza(II) [μmole Fe/g białka] Fe(II) ions chelating
Owoalbumina Egg albumin	21,66	2477,77	n.w*
Albumina żelująca Gelling albumin	22,11	2939,93	36,50
Albumina pianista Foaming albumin	24,96	3642,12	36,44
Lizozym Lysozyme	9,88	477,83	32,33
Białko jaja w proszku Egg white powder	24,19	2862,92	47,88

*n.w. – nie wykazano / not indicated

Katalizatorem reakcji utleniania są jony metali przejściowych m.in. jony żelaza, które przyspieszają zarówno proces tworzenia rodników tlenowych, jak i nadtlenków

kwasów tłuszczowych oraz ich dalsze przemiany. Wykazano, że lepszą zdolnością wiązania jonów żelaza charakteryzował się preparat białka jaja (ok. 48 μM Fe/g białka) w porównaniu z preparatami albumin żelującej i pianistej (ok. 36 μM Fe/g białka). Na podstawie tych wyników i uzyskanych w rozdziałach elektroforetycznych można stwierdzić, że zdolność do wiązania jonów żelaza mają preparaty zawierające w swoim składzie owotransferynę – białko wykazujące dobre właściwości chelatujące [2], a także lizozym. Natomiast wysoko oczyszczona albumina jaja, w preparacie której nie występują wyżej wymienione frakcje białek, w zastosowanych warunkach oznaczenia nie wykazała właściwości chelatujących.

Preparaty handlowe albumin mają zbliżone wartości aktywności antyrodnikowej (63-64%), natomiast w przypadku wysoko oczyszczonej albuminy jaja uzyskano o połowę niższą zdolność do inaktywacji rodników hydroksylowych (tab. 2). Preparat białka jaja wykazał aktywność przeciwrodnikową na poziomie ok. 50%. Najwyższą aktywnością dezaktywacji rodników hydroksylowych charakteryzował się preparat lizozymu (82%).

Tabela 2

Aktywność przeciwutleniająca białek preparatów części białkowej jaja.
Antioxidant activities of the egg white preparation of white part of an egg.

Preparat Preparation	Aktywność wobec rodników $\bullet\text{OH}$ [%] Activity against $\bullet\text{OH}$	Aktywność wobec nadtlenuków [%] Activity against peroxides
Owoalbumina Egg albumin	36,9 \pm 0,8	37,8 \pm 0,1
Albumina żelująca Gelling albumin	64,1 \pm 0,9	35,2 \pm 0,1
Albumina pianista Foaming albumin	62,6 \pm 1,5	43,5 \pm 0,1
Lizozym Lysozyme	81,7 \pm 1,1	87,0 \pm 0,0
Białko jaja w proszku Egg white powder	51,48 \pm 0,6	62,9 \pm 0,1

Nie stwierdzono dodatniej korelacji między aktywnością antyrodnikową badanych preparatów białek wobec rodników hydroksylowych a ich zdolnością do chelatowania jonów żelaza. Nie wykazano również zależności pomiędzy aktywnością a zawartością dostępnych grup tiolowych - chelatorów jonów miedzi [10].

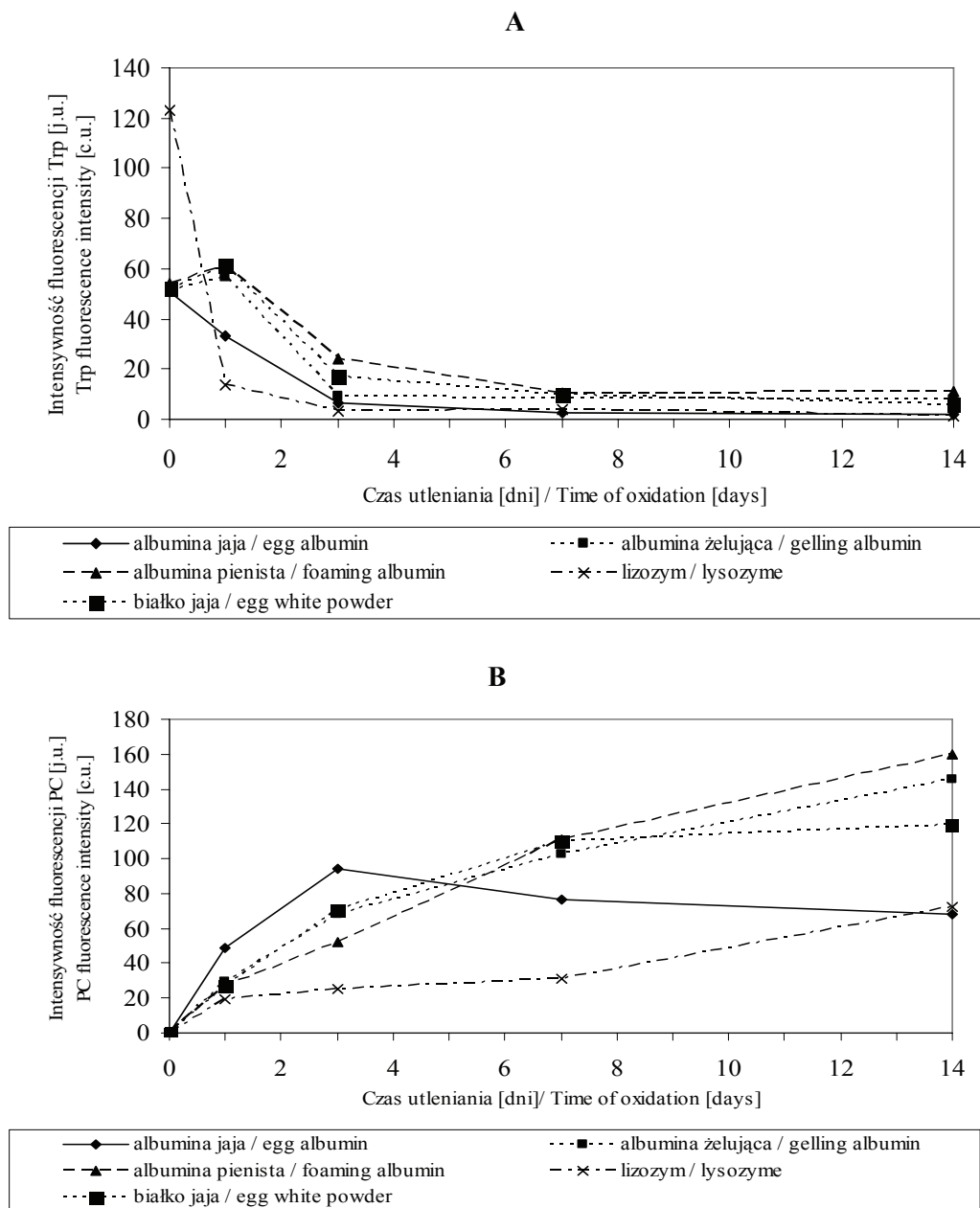
Preparat handlowy białka jaja był efektywniejszym przeciwutleniaczem wobec nadtlenków (63%) niż preparaty albumin (35-45%), z których wyższą aktywność wykazywała albumina pienista (tab. 2). Preparaty albumin są uszlachetnioną odmianą białka w proszku, w produkcji których stosuje się proces odcukrzania metodą enzymatyczną z dodatkiem H_2O_2 . W wyniku reakcji utleniania pod wpływem H_2O_2 część aminokwasów, charakteryzujących się dobrymi właściwościami przeciwutleniającymi wobec nadtlenków, uległa prawdopodobnie modyfikacji, zmniejszając przez to skuteczność działania preparatów w inhibicji reakcji autooksydacji kwasu linolowego.

Lizozym, pomimo najmniejszej wśród badanych preparatów białek jaja powierzchniowej hydrofobowości aromatycznej, wykazał najlepszą zdolność do hamowania utleniania emulsji kwasu linolowego (87%). Może to wynikać z dużej zawartości w jego cząsteczce aminokwasów alifatycznych (walina, leucyna, alanina, glicyna) [1], decydujących o hydrofobowości alifatycznej białka, która również zapewnia zdolność do inhibicji procesu utleniania. Chen i wsp. [3] stwierdzili, że obecność hydrofobowych aminokwasów alifatycznych (waliny i leucyny) na N-końcu łańcucha peptydowego ma wpływ na właściwości przeciwutleniające peptydów wyizolowanych z białek soi.

Zmiany w białkach zachodzące pod wpływem reakcji utleniania kwasu linolowego przedstawiono na rys. 2A i 2B.

W pierwszej dobie inkubacji preparatów albuminy żelującej i albuminy piennej z nadtlenkami kwasu linolowego następował wzrost intensywności fluorescencji Trp (rys. 2A). Mógł on być spowodowany zmianami konformacyjnymi cząsteczki białka i odsłonięciem aminokwasów (w tym tryptofanu), które w stanie natywnym są ukryte wewnątrz cząsteczki. W standardach owoalbuminy i lizozymu od początku inkubacji następowało zmniejszanie zawartości tryptofanu. Kolejne dni inkubacji powodowały istotne zmniejszenie zawartości tego aminokwasu we wszystkich preparatach do zbliżonego poziomu.

Od pierwszej doby inkubacji, aż do ostatniego dnia utleniania stwierdzono znaczny wzrost zawartości pochodnych karbonylowych pod wpływem działania nadtlenków kwasu linolowego w preparatach albuminy żelującej i albuminy piennej oraz w preparatach białka jaja (rys. 2B). W preparacie lizozymu następował mniej intensywny wzrost poziomu pochodnych karbonylowych w porównaniu z pozostałymi badanymi preparatami. Próbką owoalbuminy charakteryzowała się natomiast całkowicie niespecyficznym przebiegiem zmian zawartości pochodnych karbonylowych w czasie inkubacji z nadtlenkami kwasu linolowego. Po początkowym wzroście zawartości (do 3. dnia przechowywania) następowało zmniejszenie poziomu pochodnych karbonylowych (w 7. i 14. dniu inkubacji).



Rys. 2. Zmiany zawartości tryptofanu (A) i pochodnych karbonylowych (B) w preparatach części białkowej jaja pod wpływem reakcji utleniania kwasu linolowego.

Fig. 2. The changes of tryptophan (A) and carbonyl derivatives (B) content in the egg white preparations upon linoleic acid oxidation reaction.

Wnioski

1. Preparaty handlowe części białkowej jaja wykazały dobrą aktywność przeciwrodnikową wobec $\cdot\text{OH}$, nieco słabiej działały natomiast wobec nadtlenków w procesie autooksydacji kwasu linolowego.
2. Najskuteczniejsze działanie w zapobieganiu reakcji utleniania kwasu linolowego spośród preparatów handlowych stwierdzono w przypadku preparatu białka jaja.
3. Lizozym wykazał lepsze właściwości przeciwutleniające w porównaniu z główną frakcją białek jajka – owoalbuminą.
4. Badanie zmian zachodzących w białkach pod wpływem nadtlenków kwasu linolowego wykazało istotną degradację tryptofanu we wszystkich preparatach, przy czym najintensywniej proces ten zachodził w przypadku lizozymu.
5. Największy przyrost pochodnych karbonylowych, będących produktami modyfikacji oksydacyjnej aminokwasów, stwierdzono w przypadku preparatów handlowych albumin.

Praca była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszawa, 24–25 maja 2006.

Literatura

- [1] Belitz H.-D., Grosh W.: Food Chem.. Ed. Springer, 1999.
- [2] Beltran E., Pla R., Yuste Y., Mor-Mur M.: Use of antioxidants to minimize rancidity in pressurized and cooked chicken slurries. *Meat Sci.*, 2004, **66**, 719-725.
- [3] Chen H.M., Muramoto K., Yamauchi F.: Structural analysis of antioxidative peptides from soybean β -conglycinin. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 574-578.
- [4] Davies K.J.A., Delsignoret M. E., Lin S. W.: Protein damage and degradation by oxygen radicals. *J. Biol. Chem.*, 1987, **262**, 9902-9907.
- [5] Hunt J.V., Simpson J.A., Dean R.T.: Hydroperoxide-mediated fragmentation of proteins. *Biochemistry J.*, 1988, **250**, 87-93.
- [6] Kamin-Belsky N., Brillon A.A., Arav R., Shaklai N.: Degradation of myosin by enzymes of the digestive system: comparison between native and oxidative cross-linked protein. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 1641-1646.
- [7] Kuo J.M., Yeh D.B., SunPan B.: Rapid photometric assay evaluating activity in edible plant material. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3206-3209.
- [8] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, **227**, 680-685.
- [9] Larson R.A.: The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 1988, **27**, 969-978.
- [10] Lippard S.J., Berg J.M.: Podstawy chemii bionieorganicznej. PWN. Warszawa 1998.
- [11] Matsudomi N., Takasaki M., Kobayashi K.: Head - induced aggregation of lysozyme with ovotransferrin. *Agric. Biol. Chem.*, 1991, **55**, 1651-1653.
- [12] Mine Y.: Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6**, 225-232.
- [13] Rice-Evans C.A., Diplock A.T., Symons M.C.R.: Techniques in free radical research, Ed. Elsevier. Amsterdam 1991.

- [14] Sanchez-Vioque P., Vioque A., Pedroche J., Bautista J., Millan F.: Interaction of chickpea (*Cicer arietinum* L.) legumin with oxidized linolic acid. J. Agric. Food Chem., 1999, **47**, 813-818.
- [15] Tong L.M., Saski S., McClenents D.J., Decker E.A.: Mechanisms of the antioxidant activity of a hight molecular weight fraction of whey. J. Agric. Food Chem., 2000, **48**, 1473-1478.
- [16] Ulu H.: Effect of wheat flour, whey protein concentrate and soya protein isolate on oxidative processes and textural properties of cooked meatballs. Food Chem., 2004, **87**, 523-529.
- [17] Wołosiak R., Worobiej E., Aktywność antyoksydacyjna izolatu i hydrolizatów białek grochu. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1999, **3 (20) Supl.**, 105-111.

THE PROPERTIES OF EGG WHITE PROTEIN PREPARATIONS IN AN OXIDATION PROCESS

S u m m a r y

Antioxidant properties of egg white proteins were investigated in this study: main fractions (ovalbumin, lysozyme), commercial preparations (gelling and foaming albumin, egg white proteins). The protein modifications caused by acid autoxidation were also studied.

The commercial preparations investigated exhibited good antioxidant activity against the radicals, but were worse linoleic acid autoxidation inhibitors. Lysozyme showed better antioxidative properties then ovalbumin.

The protein change under linoleic acid peroxides were determined by the measurement of tryptophan and protein carbonyls content changes. The results indicate that an egg proteins participating in the inhibition of linoleic acid oxidation undergo changes resulting from the oxidative modification of their amino acid (tryptophan degradation).

Key words: egg white proteins, antioxidants, linoleic acid peroxides, protein oxidation ☒

JERZY A. BALEJKO

BADANIE METODĄ DYNAMICZNĄ ZMIAN WŁAŚCIWOŚCI LEPKOSPREŻYSTYCH MIĘSA WYWOŁANYCH OGRZEWANIEM

Streszczenie

Przeanalizowano reologiczne właściwości mięsa surowego oraz mięsa poddanego ogrzewaniu w różnicowanej temperaturze, stosując dynamiczną metodę jednoosiowej kompresji sinusoidalnej. Próbkę mięśnia *longissimus dorsi* poddano ścisłaniu prostopadle do kierunku włókien w komorze termostatu ograniczającej swobodne odkształcenia próbek tylko do jednego kierunku działania penetratora. Testy przeprowadzono na 30-procentowym poziomie deformacji, w temperaturze 20, 40, 60 i 80°C. Zbadano zmiany właściwości lepkich reprezentowanych przez składową rzeczywistą zespolonego modułu sprężystości oraz zmiany zachowań lepkich za pomocą współczynnika lepkości dynamicznej. Przedstawiono również dynamikę zmian stopnia sprężystości mięśnia odzwierciedlającego zmiany strukturalne w badanym materiale wywołane przez odkształcenie.

Stwierdzono, że zmiany maksymalnych wartości naprężeń występujących podczas cykli 30-procentowej deformacji mięśnia *longissimus dorsi* (LD) w temp. 20, 40, 60 i 80°C, można opisać równaniem $\tau = a \cdot t^c$. Współczynniki determinacji, opisujące dopasowanie krzywych teoretycznych do wyników eksperymentalnych, w większości przypadków osiągały wartość nie niższą niż $R = 0,97$.

Słowa kluczowe: mięso, własności mechaniczne, tekstura

Wstęp

Analiza mechanicznych właściwości mięsa polega najczęściej na ocenie kruchości i jest przeprowadzana za pomocą empirycznych lub naśladowczych testów, przy użyciu urządzeń naśladowczych efekt żucia. Przykładem takich urządzeń są szczęki Volodkevicha, noże Warner-Bratzlera, oraz urządzenie SATA [12]. Testowane za ich pomocą próbki przechodzą bardzo złożone deformacje. Obejmują one: ścinanie, ścisłanie i rozciąganie. Trudność w interpretacji wyników za pomocą podstawowych równań reologicznych wynika z faktu, że próbki odkształcane są we wszystkich kie-

runkach, co utrudnia ich matematyczną interpretację. Noel i Sale [12], Kamoun i Culioli [5] oraz Lepetit i Culioli [7] zastosowali komorę pomiarową umożliwiającą ograniczenie swobody odkształcania próbek tylko do jednego kierunku. Większość wymienionych testów ma charakter niszczący, co umożliwia głównie analizę wytrzymałości na zrywanie różnych struktur mięsnych.

Niektórzy autorzy, próbując dokonać fundamentalnej analizy reologicznych właściwości mięsa, używali testów nieniszczących, które zawierały prostsze i lepiej zdefiniowane odkształcenia. Segars i Kapsalis [16] podjęli próbę opracowania dwuwymiarowego mechanicznego modelu w celu wyjaśnienia reologicznych właściwości mięsa podczas ściskania. Segars i wsp. [17] przeanalizowali również współczynnik Poissona mięsa i poprzez testy sensoryczne ustalili powiązania pomiędzy wartościami tego parametru a kruchością. Inni autorzy przestudowali cechy reologiczne mięsa w testach rozciągania. Sale i wsp. [15] opracowali nową metodę badania mechanicznych właściwości mięsa, w której próbki poddawane są sinusoidalnej kompresji przy dużej prędkości. Metoda ta najpierw użyta do produktów modelowych [12] została wykorzystana w celu analizy mechanicznego zachowania mięsa surowego [7]. Badania Lepetita, Sale, Kamouna czy Mathoniere i wsp. [9] ograniczają się do jednego lub maksymalnie dwóch cykli pomiarowych.

Celem niniejszej pracy było zastosowanie metody dynamicznej jednoosiowej kompresji sinusoidalnej do określenia właściwości reologicznych mięsa poddanego działaniu zróżnicowanej temperatury oraz przy 30-procentowym poziomie nieniszczących odkształceń.

Material i metody badań

Materiałem badawczym był świeży (24 godz. po uboju) wieprzowy mięsień *longissimus dorsi* (LD) zakupiony w Zakładzie Przetwórstwa Mięsnego „MAS-AR” w Szczecinie. Testy pomiaru naprężeń wewnętrznych przeprowadzono w urządzeniu zaprojektowanym i zbudowanym w Zakładzie Inżynierii Procesowej i Maszynoznawstwa Akademii Rolniczej w Szczecinie, służącym do wyznaczania parametrów reologicznych żywności dynamiczną metodą jednoosiowej kompresji sinusoidalnej [1]. Precyzja zastosowanej metody pomiarowej wynosi $\varepsilon = \pm 0,2$ [N].

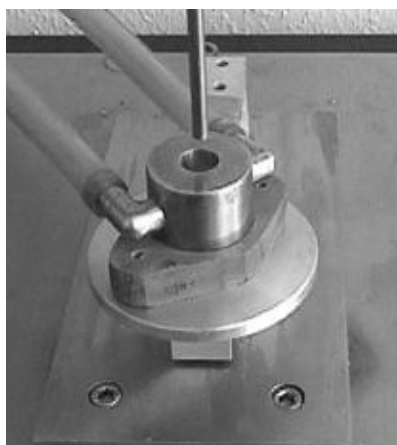
Mięsień pocięto wzdłuż włókien na plastry o grubości 0,015 m.



Rys. 1. Przyrząd do wycinania walcowych próbek.

Fig. 1. The cutting device for samples in the shape of the roller.

Za pomocą specjalnego przyrządu (rys. 1) z plastrów mięśnia wycinano próbki w kształcie walca o średnicy $d = 0,015$ m i wysokości $h = 0,01$ m i umieszczano w walcowej komorze (rys. 2) utrzymującej stałą temperaturę podczas testu.



Rys. 2. Komora z płaszczem wodnym utrzymująca stałą temperaturę próbki podczas testu.

Fig. 2. Chamber with the water coat maintaining the constant temperature of the sample during the test.

Próbki razem z komorą zanurzano w wannie termostatu doprowadzając do żądanej temperatury i utrzymywano w niej przez 15 min. Następnie próbki poddawano dynamicznej, sinusoidalnie zmiennej deformacji (w poprzek włókien) penetratorem walcowym o powierzchni czoła $s = 0,00177$ m² ($d = 0,01$ m). Płaszcz wodny komory pozwalał utrzymać w trakcie eksperymentu zadaną temperaturę: 20, 40, 60 lub 80°C. Każdą próbkę poddawano 30% deformacji w 20 następujących po sobie cyklach trwających 1 s. Na każdym z zadanych poziomów temperatury przebadano dziesięć próbek.

Omówienie wyników

Skurczenie się włókien mięśniowych oraz powstanie trwałych wiązań sieciujących w białkach miofibrylarnych zwiększa twardość mięsa. Największe naprężenia w próbach rejestrowano w temp. 60°C, przy 50% odkształceniu. Ogrzanie mięśnia do temp. 80°C spowodowało zmniejszenie naprężeń wewnętrznych.

Tabela 1

Średnie wartości naprężeń w kolejnych cyklach 30-procentowej deformacji próbek mięśnia LD, determinowane temperaturą pomiaru.

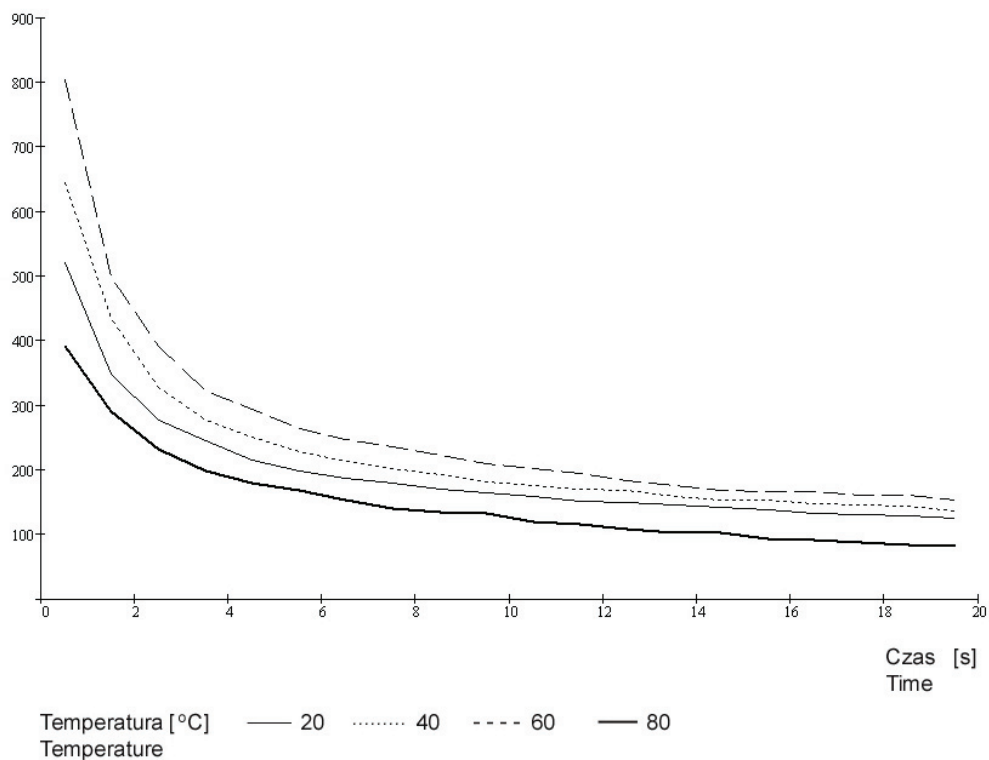
The mean values of stress of material during consecutive cycles of 30% deformation of LD muscle determined by temperature of test.

Czas wystąpienia maksimum naprężenia w kolejnym cyklu deformacji	Temperatura / Temperature [°C]			
	20	40	60	80
[S]	Naprężenie / Stress [kPa]			
0,5	520,16	644,10	802,54	390,55
1,5	348,55	433,97	497,43	290,14
2,5	277,27	327,12	390,52	231,21
3,5	245,57	277,32	332,41	198,33
4,5	215,10	249,56	293,33	179,88
5,5	198,30	228,14	264,06	167,10
6,5	185,87	212,03	246,72	152,59
7,5	179,03	201,01	235,00	140,11
8,5	169,73	191,72	222,62	133,82
9,5	163,53	180,44	209,31	131,45
10,5	157,93	175,11	201,16	120,00
11,5	151,70	170,36	194,41	116,24
12,5	148,60	167,84	183,35	108,36
13,5	144,87	159,13	175,18	102,56
14,5	141,13	153,56	167,22	101,95
15,5	138,03	152,06	165,81	93,25
16,5	133,03	147,34	165,12	90,77
17,5	129,93	144,89	160,54	86,41
18,5	128,07	144,15	160,06	83,93
19,5	125,60	136,00	152,52	80,82
a	397,91	484,52	587,54	311,66
b	-0,3928	-0,4297	-0,4566	-0,4007
r ²	0,999	0,996	0,999	0,979

a, b – wartości obliczonych stałych współczynników równania / regular equation coefficients values

Przebieg zmian naprężenia w badanych próbkach w trakcie kolejnych cykli sinusoidalnej jednoosiowej deformacji przedstawiono na rys. 3.

Naprężenie [$\text{Pa} \cdot 10^3$]
Stress



Rys. 3. Zmiany średnich wartości (z 10 pomiarów) maksymalnych naprężeń, przy 30% deformacji próbek mięśnia LD w każdej z czterech wartości temperatury.

Fig. 3. Changes of mean values (from 10 tests) of maximum stress in samples by 30% deformation of LD muscle at 4 different level of temperature.

Dopasowano równanie opisujące zmiany maksymalnych wartości naprężenia podczas kolejnych cykli deformacji:

$$\tau = a \cdot t^c \quad (1)$$

gdzie:

a i b – stałe współczynniki równania (tab.1),

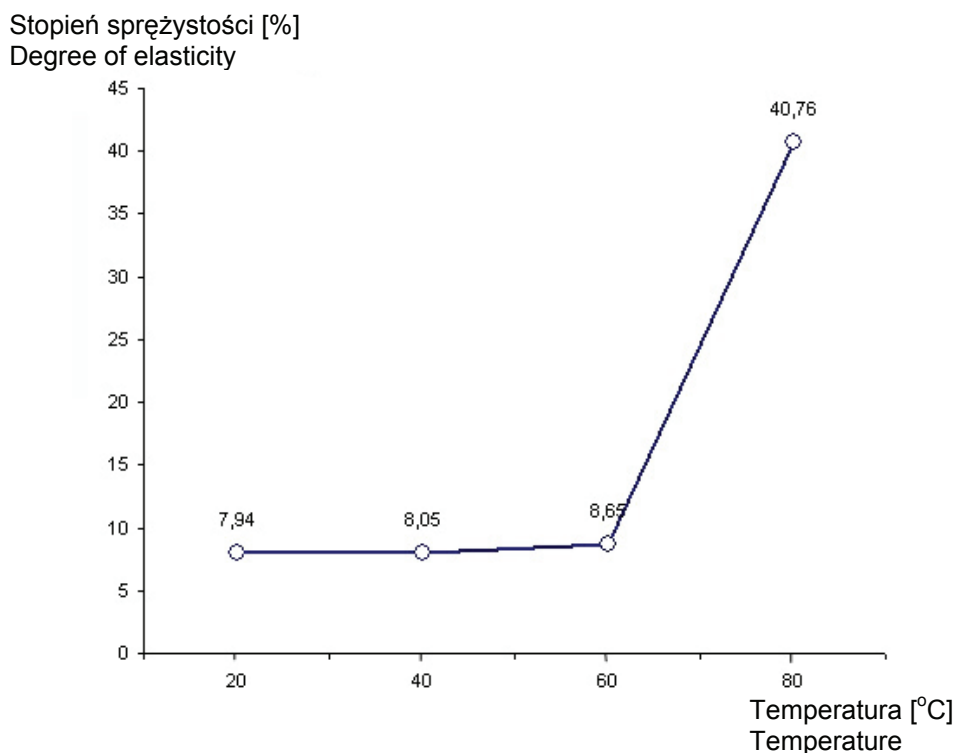
t – czas mierzony w dowolnym cyklu od początku pomiaru [s],

τ – naprężenie [Pa].

Dopasowanie krzywych teoretycznych (równanie 1) do wyników badań eksperymentalnych zestawionych w tab.1, przeprowadzono metodą Marquardta [8], Moré [11] i Bogdan [2].

Analiza istotności współczynników regresji wielorakiej nie wykazała istotnej zależności stałych współczynników a i b równania (1) i temperatury. Wykazano natomiast statystycznie istotną wzajemną zależność stałych a i b na poziomie $\alpha = 0,05$.

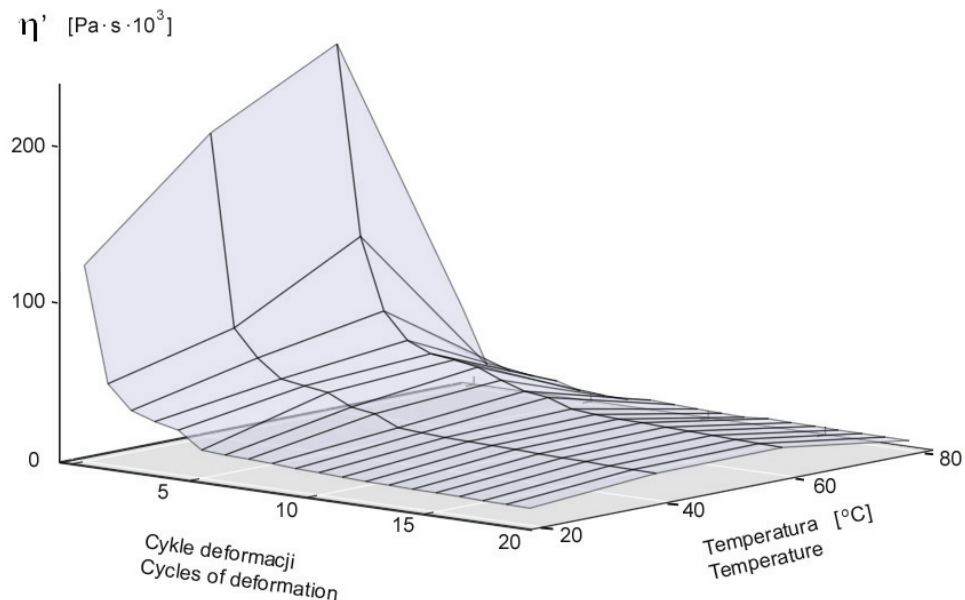
Zmiany strukturalne, spowodowane wyżej wspomnianymi procesami cieplnymi, w konsekwencji prowadzą do zmian właściwości lepkosprężystych mięśnia. Właściwości sprężyste badanych próbek przedstawiają zmiany stopnia sprężystości mierzonego podczas pierwszego cyklu deformacji [1] (rys. 4).



Rys. 4. Zmiany wartości stopnia sprężystości pierwszego cyklu 30-procentowej deformacji próbek mięśnia LD, w zależności od temperatury.

Fig. 4. Changes of degree of springiness during first cycle of 30% deformation of LD muscles samples depending on temperature.

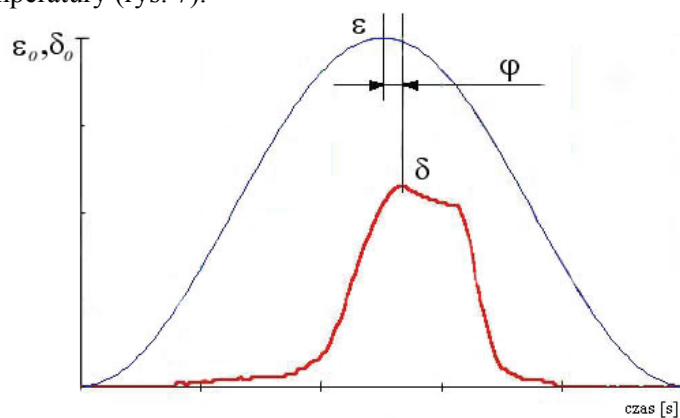
Natomiast zmiany lepkich właściwości mięśnia *longissimus dorsi* ściskanego w poprzek włókien odzwierciedla współczynnik lepkości dynamicznej η' (rys. 5).



Rys. 5. Zmiany lepkości dynamicznej w trakcie 30-procentowej deformacji próbek mięśnia LD w temp. 20, 40, 60 i 80°C.

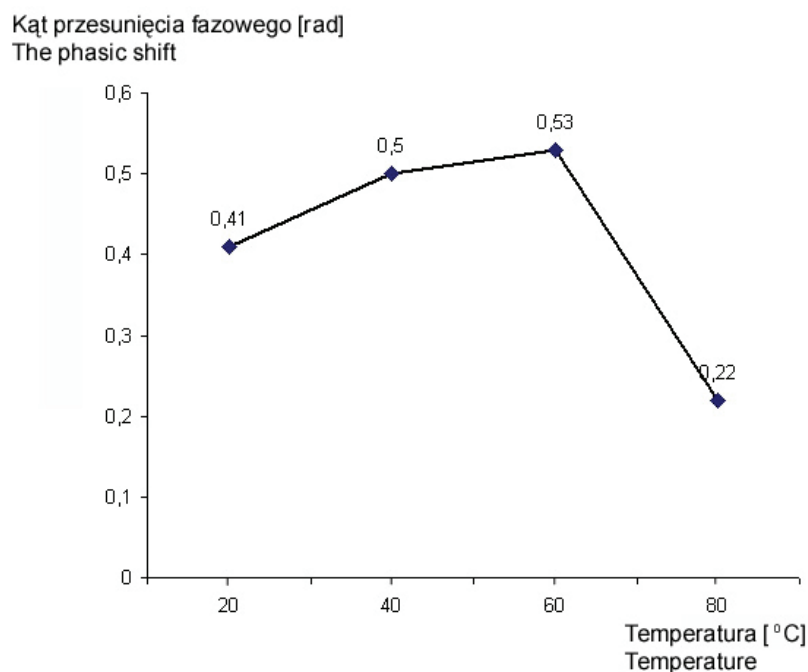
Fig. 5. Dynamic viscosity changes during 30% deformation of LD muscles at temperature of 20, 40, 60 and 80°C.

Wyliczono wartości kąta przesunięcia fazowego odpowiedzi sprężystej materiału (rys. 6) i przedstawiono wartości tego kąta z pierwszego cyklu deformacji na kolejnych poziomach temperatury (rys. 7).



Rys. 6. Przebieg harmonicznego wymuszenia dynamicznego i przesuniętej w fazie odpowiedzi badanej próbki mięśnia LD. ε - odkształcenie, δ - naprężenie, φ - kąt przesunięcia fazowego.

Fig. 6. Course of harmonic dynamic forcing and moved in the phase answer of the reinspected LD muscles sample. ε - strain, δ - stress, φ - angle of the phasic shift.



Rys. 7. Wartość kąta przesunięcia fazowego φ odpowiedzi sprężystej pierwszego cyklu deformacji badanych próbek mięśnia LD.

Fig. 7. Value of the phasic shift φ of springy answer of the first cycle of deformation of reinspected samples of LD muscles.

Wnioski

1. Zmiany maksymalnych wartości naprężeń występujących podczas kolejnych cykli deformacji mięśnia *longissimus dorsi* (LD), ściskanego w poprzek włókien, na poziomie 30-procentowej deformacji, w temp. 20, 40, 60 i 80°C, można opisać równaniem $\tau = a \cdot t^c$
2. Współczynniki determinacji, opisujące dopasowanie krzywych teoretycznych do wyników eksperymentalnych, w większości przypadków osiągały wartość nie niższą niż $R = 0,97$.

Literatura

- [1] Balejko J.A.: Opracowanie dynamicznej metody wyznaczania reologicznych właściwości artykułów żywnościowych. Rozprawa habilitacyjna nr 218. Wyd. AR. Szczecin 2003.
- [2] Bogdan L.: Metoda Marquardta regresji nieliniowej. Program dla maszyny cyfrowej Odra 1305. Pr. Inst. Bad. Syst. PAN, 1978, s. 16.
- [3] Bourne M.C. Texture profile of ripening pears. J. Food Sci., 1968, **33**, 223-228.
- [4] Kaletunc G., Normand M.D., Johnson E.A., Peleg M.: Degree of elasticity. Determination in solid foods. J. Food Sci., 1991, **4** (56), 950.

- [5] Kamoun M., Culioli J.: Mechanical behaviour of cooked meat under sinu-soidal compression. *J. Texture Stud.*, 1988, **19** (2), 117-136.
- [6] Lepetit J., Sale P.: Analyse du comportement reologique de la viande par une methode de compression sinusoidale. *Sci. Aliments*, 1985, **5**, 521-540.
- [7] Lepetit J. Culioli J.: Mechanical properties of meat. *Meat Sci.*, 1994, **36**, 203-237.
- [8] Marquardt D.: An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *SIAM. J. Appl. Math.*, 1963, **11**, 431-441.
- [9] Mathoniere C., Mioche L., Dransfield E., Culioli J.: Meat texture characterisation: comparison of chewing patterns, sensory and mechanical measures. *J. Texture Stud.*, 2000, **31** (2) 183-203.
- [10] Mohsenin N.N.: Physical properties of plant and animal materials. 2nd edition. Gordon & Breach. New York 1986.
- [11] Moré J.J.: The Levenberg-Marquardt Algorithm: Implementation and Theory. *Numerical Analysis*. Ed. G. A. Watson. *Lecture Notes in Mathematics*, 1977, **630**, 105-116.
- [12] Noel Y., Sale P.: Theoretical responses of different rheological models to a sinusoidal compression in a transient state. *J. Texture Stud.*, 1984, **15**, 115-130.
- [13] Olkku J.E., Sherman P.: Compression testing of cylindrical samples with an Instron Universal Testing Machine. *Food Texture and Rheology*. Ed. Sherman, Academic Press, 1979, p. 157.
- [14] Sale P., Noel Y., Lasteyras A., Oleon C.: A sinusoidal compression system to study rheological properties of foods in the transient state. *J. Texture Stud.*, 1984, **15**, 103-114.
- [15] Sale P., Noel Y., Lasteyras A., Oleon C.: Testing device for study of rheological properties of meat. *Proc. European Meeting of Meat Research Workers*, 1984, (30) **4**, 22, 204-205.
- [16] Segars R.A., Kapsalis J.G.: Contribution of the US Army Natic Research and Development Center to the objective measurement of the textural quality of meat. *J. Texture Stud.*, 1976, **7**, 129.
- [17] Segars R.A., Hamel R.G., Kapsalis J.G.: Use of Poisson's ratio for objectiv-subjectiv texture correlations in beef. An apparatus for obtaining the required data. *J. Texture Stud.*, 1977, **8**, 433-447.

DYNAMIC METHOD OF EVALUATION OF CHANGES VISCOELASTIC PROPERTIES OF MEAT BY HEATING EFFECT

S u m m a r y

The rheological performance of the raw meat and the meat boiled at four different temperatures was studied with the use of the dynamic method of the uniaxial sinusoidal compression.

The samples of meat were subject to compression perpendicular to fibres in a thermostat chamber that limited free strain to one direction of the action of a penetrator. Tests were carried out at 30% level of deformation, and in four different temperatures - 20, 40, 60 and 80°C.

Changes in viscous properties represented by the actual component of combined Young's modulus and changes of viscous performance represented by the coefficient of dynamic viscosity were studied. The dynamics of changes in springiness rate of a muscle representing the structural changes of the material under study and caused by the strain were also investigated.

It was stated that changes of maximum values of stress during 30% deformation of LD muscles cycles in 20, 40, 60 i 80°C temperature can be described by an equation of $\tau = a \cdot t^c$. The determination coefficients that describe the adjustment of theoretical curves to experimental results reached values not lower than $R^2 = 0,97$ in most of cases.

Key words: meat, mechanical properties, texture, sinusoidal compression 

ELIZA GRUCZYŃSKA, BOLESŁAW KOWALSKI,
MAŁGORZATA KOWALSKA, KRZYSZTOF ŚMIECHOWSKI

CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH MAJONEZÓW ORAZ WPŁYW TEMPERATURY I CZASU PRZECHOWYWANIA NA ICH STABILNOŚĆ

Streszczenie

W majonezach rynkowych oznaczano zawartości wolnych kwasów tłuszczowych oraz frakcji mono-, di- i triacylogliceroli. W matrycach triacylogliceroli oznaczano skład kwasów tłuszczowych. Mierzono również wielkości cząstek oraz określano ich rozkłady w emulsjach po upływie miesiąca oraz 4 miesięcy przechowywania próbek w temp. 20 i 2°C. Stosując metodę dyfrakcji laserowej zbadano wpływ temperatury i czasu przechowywania na stabilność badanych emulsji.

Wyniki badań wskazują że, do produkcji majonezów, obecnych na polskim rynku, najczęściej stosowany jest olej rzepakowy. W majonezach o obniżonej zawartości tłuszczu (niskotłuszczowe i stołowe) oznaczono wyższe ilości mono- i diacylogliceroli, które jako emulgatory gwarantowały tym produktom dobrą stabilność. Podczas przechowywania majonezów, w większości przypadków, postępował proces agregacji cząstek fazy rozproszonej, a w niskiej temperaturze także krystalizacja acylogliceroli. W rezultacie następowało wydzielanie fazy tłuszczowej i destabilizacja emulsji. Emulsje o mniejszej średniej wielkości cząstek nie ulegały destabilizacji podczas przechowywania.

Słowa kluczowe: majonez, emulsja, dyfrakcja laserowa, rozkład cząstek

Wprowadzenie

Zgodnie z PN [10] majonez to wyrób otrzymany przez zemułgowanie oleju roślinnego jadalnego w fazie wodnej, w obecności żółtka jaja kurzego. Olejami najczęściej stosowanymi do produkcji majonezów są: rzepakowy, sezamowy, słonecznikowy, bawelniany, sojowy, kukurydziany. Zawartość oleju wpływa na konsystencję majonezów, która determinuje zastosowanie tego rodzaju wyrobów [19]. Typowy majonez zawiera

Dr inż. E. Gruczyńska, prof. dr hab. B. Kowalski, Katedra Chemii, Wydz. Technologii Żywności Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, dr inż. M. Kowalska, dr hab. K. Śmiechowski, prof. PR, Wydz. Materiałoznawstwa i Technologii Obuwia, Politechnika Radomska, ul. Chrobrego 27, 26-600 Radom

70–80% tłuszczu. Jednakże, wbrew wysokiej zawartości tłuszczu w stosunku do wody, jest on emulsją typu olej w wodzie. Majonez, sklasyfikowany jako trwała emulsja, zostaje wytworzony, gdy przyłożona siła ścinania powoduje rozproszenie fazy olejowej w postaci kropelek w fazie wodnej. W idealnej emulsji o/w, złożonej z kulistych kropelek oleju upakowanych w fazie ciągłej (woda), faza rozproszona (olej) może stanowić maksymalnie 74% całkowitej objętości. Jeśli zawartość oleju przekroczy 74% objętości, to nastąpi inwersja faz. Jeżeli jednak wielkość cząstek jest zróżnicowana, tak jak ma to miejsce w majonezach, to małe kropelki mogą wypełniać przestrzeń między dużymi kroplami [17]. Olej może tu stanowić 75% i więcej całkowitej objętości. Oznacza to, że kropelki oleju są zniekształcone, w porównaniu z ich normalnym kulistym kształtem. Ścisłe upakowanie kropelek pozwala im także silnie oddziaływać ze sobą [5].

Wskutek wysokiego stężenia fazy olejowej w stosunku do wodnej, czynnikiem stabilizującym tego rodzaju emulsje jest wysoka lepkość. Z drugiej strony wysokie stężenie fazy rozproszonej wpływa na obniżenie trwałości, gdyż zwiększa się prawdopodobieństwo łączenia kropelek. W majonezach dobrej jakości największe krople mają średnice 6–8 μm , przy czym wiele spośród nich ma średnice wynoszące tylko 2–4 μm . W produktach o gorszej jakości występują krople o średnicy 10 μm . Z upływem czasu majonezy zmieniają konsystencję, gdyż następuje koalescencja, a później rozwarstwienie. Wstrząsy, jak również obniżenie temperatury do poziomu, w którym zaczyna się krystalizacja acylogliceroli, powodują rozpad emulsji. Przy inwersji faz następuje spadek lepkości [9].

Stale rosnące wymagania konsumentów oraz konieczność konkurowania producentów żywności sprawiają, że na rynku dostępna jest szeroka gama majonezów. Zastosowanie szybkiej, niezawodnej metody pomiaru wielkości cząstek oraz określania ich rozkładu w tego typu produktach jest konieczne w kontroli jakości. Narzędziem wspomagającym ocenę towaroznawczą, a przy tym kontrolę cech jakościowych może być metoda dyfrakcji laserowej, zwana również małokątowym rozpraszaniem światła laserowego (LALLS) [3, 8]. W wielu gałęziach przemysłu spożywczego metoda LALLS staje się standardem w badaniach wielkości cząstek i ich rozkładu, między innymi w emulsjach tłuszczowych [3, 14, 15]. Metoda ta charakteryzuje się następującymi zaletami [1, 16]:

- jest metodą bezwzględną, dlatego nie ma potrzeby kalibrowania przyrządów według wzorców,
- charakteryzuje się szerokim zakresem pracy dynamicznej; dyfraktometry laserowe najwyższej klasy pozwalają na dokonywanie pomiarów w zakresie wielkości cząstek 0,02–2000 μm ,
- w badaniach emulsji oraz zawiesin ciekłych można stosować tzw. cele recyrkulacyjne, co zapewnia wysoką powtarzalność ($\pm 0,5\%$) oraz odtwarzalność ($\pm 1\%$) wyników [14],

- wiązka laserowa przechodzi przez całą reprezentatywną próbkę danego materiału, dzięki temu rejestrowana dyfrakcja pochodzi od wszystkich cząstek,
- jest to metoda nieniszcząca i nieinwazyjna, stąd też cenne próbki mogą zostać odzyskane,
- bezpośrednio mierzony jest rozkład objętościowy, który w przypadku stałej gęstości jest identyczny z rozkładem masowym,
- czas pomiaru jest krótszy od 1 min [15], co oznacza natychmiastowe sprzężenie pomiarów z pracą urządzeń produkcyjnych i łatwość wykonywania powtórnych analiz oraz daje możliwości pomiarów „on line”.

Celem niniejszej pracy była charakterystyka różnego typu majonezów obecnych na polskim rynku, przy zastosowaniu chemicznych metod analitycznych oraz określenie wpływu temperatury i czasu przechowywania na stabilność badanych emulsji.

Material i metody badań

Materiał do badań stanowiło 12 majonezów zróżnicowanych pod względem zawartości tłuszczu, tzn. niskotłuszczowe, stołowe oraz wysokotłuszczowe, dostępne na polskim rynku. Wszystkie produkty, stanowiące materiał doświadczalny, kupowano w jednym ze stołecznych supermarketów.

W tłuszczach wyekstrahowanych z majonezów wyjściowych oznaczano zawartość frakcji wolnych kwasów tłuszczowych (WKT), niepełnych acylogliceroli (MAG + DAG) i triacylogliceroli (TAG). W matrycach TAG oznaczano skład kwasów tłuszczowych. Mierzono również wielkości cząstek oraz wyznaczano ich rozkłady w emulsjach po upływie 1 i 4 miesięcy przechowywania próbek w temp. $20 \pm 1^\circ\text{C}$ i $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Próbkę majonezów przechowywano w zamkniętych pojemnikach bez dostępu światła. Nazwy badanych majonezów kodowano odpowiednimi symbolami (tab. 1–3).

Ekstrakcja tłuszczu metodą Mojonnier [2]

Próbkę majonezu traktowano NH_4OH , w celu zobojętnienia kwasów, następnie dodawano fenoloftaleinę, aby wyraźniej zaobserwować granicę podziału między fazami eterową i wodną. Tłuszcz ekstrahowano mieszaniną eterów naftowego i dietylowego (1:1, v/v). Ekstrakcję wykonywano trzykrotnie. Ekstrakt eterowy dekantowano, a następnie mieszaninę eterów odparowywano. Wyodrębniony tłuszcz suszono do stałej masy. Średnie zawartości tłuszczu, nieodbiegające znacząco od deklarowanych przez producenta, podano w tab. 1–3.

Oznaczanie zawartości wolnych kwasów tłuszczowych

Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych oznaczano metodą miareczkową wg PN [12]. Wykonywano dwa równoległe oznaczenia. Bezwzględne różnice między otrzymanymi wynikami były nie większe niż 3%.

Oznaczanie zawartości frakcji niepełnych acylogliceroli i triacylogliceroli

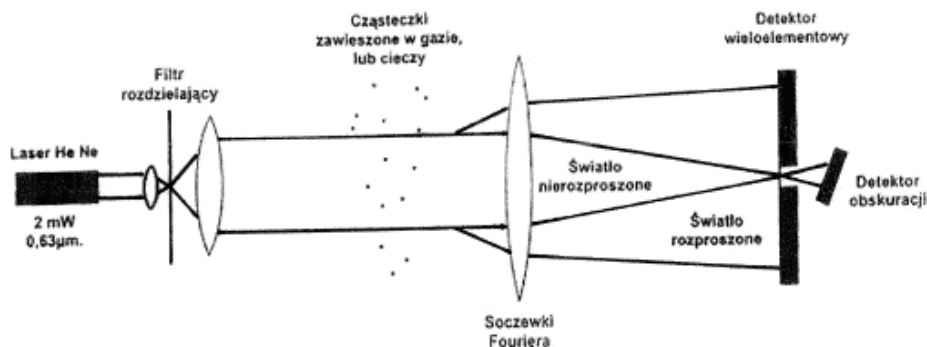
Zawartość frakcji (MAG + DAG) oraz TAG oznaczano, stosując technikę chromatografii kolumnowej [2, 13]. Wyniki, stanowiące średnią arytmetyczną dwóch równoległych oznaczeń, nie różniły się między sobą o więcej niż 1% (wartość bezwzględna).

Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych

Skład kwasów tłuszczowych oznaczano metodą chromatografii gazowej (GLC) wg PN [11].

Pomiary wielkości cząstek oraz ich rozkład

Pomiarów dokonywano metodą LALLS w zakresie 0,12–704 μm [7, 18], stosując dyfraktometr laserowy (He/Ne) Microtrac, produkcji firmy Leed's & Northrup. Układ pomiarowy przedstawiono na rys. 1.



Filtr rozdzielający – separating filter

Cząsteczki zawieszony w gazie lub cieczy – Molecules in gas or liquid

Światło nierozproszone – non-diffused light

Soczewki Fouriera – Fourier's lenses

Światło rozproszone – Diffused light

Detektor wieloelementowy – Multielements detector

Detektor obskuracji – Obscuration detector

Rys. 1. Schemat dyfraktometru laserowego.

Fig. 1. The laser diffractometer scheme.

Na podstawie uzyskanych wyników obliczano współczynniki dyspersji (K). Obliczenia wykonywano posługując się wzorem:

$$K = D_{90} - D_{10} / D_{50}$$

gdzie: D_{90} , D_{50} , D_{10} średnice cząstek (μm), odczytywane z krzywej rozkładu (odpowiednio 90, 50, 10% cząstek ma średnice nie większe od tych wartości).

Wyniki i dyskusja

Wyniki analiz GLC olejów roślinnych oraz tłuszczów wyekstrahowanych z majonezów przedstawiono w tab. 1. Wybrano następujące kwasy tłuszczowe: palmitynowy (16:0), oleinowy (18:1, 9-cis), erukowy (22:1, 13-cis), linolowy (18:2, all-cis) i linolenowy (18:3, all-cis). Uzyskane wyniki wskazują na podobieństwo tłuszczów wyekstrahowanych z majonezów do odpowiednich olejów roślinnych, pod względem zawartości określonych kwasów tłuszczowych. Udziały procentowe kwasów palmitynowego i oleinowego w produktach oznaczonych symbolami 1.4, 2.1, 2.4 i 3.3 kształtowały się na podobnym poziomie jak w oleju sojowym (SBO), tj. odpowiednio ok. 11 i 23%. W tłuszczach wyodrębnionych z pozostałych majonezów ilości wymienionych kwasów były zbliżone do wartości charakteryzujących olej rzepakowy (RSO).

Tabela 1

Skład wybranych kwasów tłuszczowych w TAG tłuszczów wyekstrahowanych z majonezów oraz w olejach: sojowym (SBO) i rzepakowym (RSO).

Selected fatty acids composition in TAG of the fats extracted from mayonnaise and for soybean (SBO) and rapeseed (RSO) oils.

Grupa majonezów lub olej roślinny The group of mayonnaise or vegetable oil	Symbol produktu Symbol of the product	Procentowy udział danego kwasu The percentage of a given fatty acid				
		16:0	18:1, 9-cis	22:1, 13-cis	18:2, all-cis	18:3, all-cis
Niskotłuszczowe Low fat 45% tłuszczu	1.1	4,9	58,5	0,9	17,9	8,4
	1.2	4,8	57,9	1,1	17,9	9,0
	1.3	5,3	57,7	0,4	19,8	8,1
	1.4	11,8	22,6	0,1	52,1	4,6
Stołowe Regular 60% tłuszczu	2.1	10,4	27,8	0,2	47,5	5,8
	2.2	4,9	58,3	0,7	18,3	8,4
	2.3	4,8	58,1	1,1	17,8	9,2
	2.4	11,6	28,4	0,7	47,4	4,0
Wysokotłuszczowe High fat 80% tłuszczu	3.1	4,6	58,5	0,9	18,2	8,5
	3.2	7,8	42,1	0,5	34,3	6,4
	3.3	11,6	22,4	0,0	52,4	5,0
	3.4	5,3	57,5	0,3	20,8	7,5
Oleje roślinne Vegetable oils	SBO	11,0	22,7	0,0	51,9	6,4
	RSO	4,5	61,1	0,9	16,9	8,5

Powyższą prawidłowość potwierdzono również wynikami oznaczeń składu kwasów polienowych. Udziały procentowe kwasów linolowego i linolenowego w próbkach o symbolach 1.4, 2.1, 2.4 i 3.3 były zbliżone do wartości charakteryzujących olej so-

jowy i wynosiły odpowiednio ok. 50% oraz ok. 5,2%. Ilości tych kwasów w pozostałych tłuszczach kształtowały się odpowiednio na poziomach ok. 20 i 8% i były zbliżone do wartości oznaczonych w oleju rzepakowym.

W przypadku próbki tłuszczu wyekstrahowanego z majonezu o symbolu 3.2 można przypuszczać, że został on wyprodukowany na bazie mieszanki olejów rzepakowego i sojowego. Wskazują na to ilości rozważanych kwasów tłuszczowych, które kształtują się na poziomach pośrednich między wartościami charakterystycznymi dla wymienionych olejów roślinnych.

W tab. 2. zamieszczono wyniki oznaczeń zawartości frakcji WKT, (MAG + DAG) i TAG w tłuszczach wyekstrahowanych z badanych majonezów oraz w olejach: sojowym i rzepakowym.

Tabela 2

Zawartość WKT, (MAG + DAG) i TAG w badanych majonezach oraz w olejach: sojowym (SBO) i rzepakowym (RSO).
The FFA, (MAG + DAG) and TAG contents in mayonnaise studied and in soybean (SBO) and rapeseed (RSO) oils.

Grupa majonezów lub olej roślinny The group of mayonnaise or vegetable oil	Symbol produktu Symbol of the product	Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) [%] The percentage content of free fatty acids (FFA)	Zawartość mono-i diacylogliceroli (MAG + DAG) [%] The percentage content of mono- and diacylglycerols (MAG + DAG)	Zawartość triacylogliceroli (TAG) [%] The percentage content of triacyl- glycerols (TAG)
Niskotłuszczowe Low fat 45% tłuszczu	1.1	0,0 ₅	2,6	97,3
	1.2	0,0 ₅	2,3	97,6
	1.3	0,1	4,1	95,8
	1.4	0,1	5,5	94,4
Stołowe Regular 60% tłuszczu	2.1	0,1	5,2	94,6
	2.2	0,1	3,1	96,8
	2.3	0,1	4,3	95,6
	2.4	0,1	6,7	93,2
Wysokotłuszczowe High fat 80% tłuszczu	3.1	0,0 ₅	2,7	97,2
	3.2	0,0 ₅	2,7	97,2
	3.3	0,1	3,1	96,8
	3.4	0,0 ₅	2,4	97,5
Oleje roślinne Vegetable oils	SBO	0,1	1,0	98,9
	RSO	0,0 ₅	1,6	98,3

Zawartość WKT w tłuszczach będących składnikami majonezów były zbliżone do wartości oznaczonych w olejach roślinnych. Potwierdza to wysuniętą wcześniej hipotezę dotyczącą olejów roślinnych użytych do produkcji badanych majonezów. Świadczy także o właściwej jakości oraz świeżości tych majonezów.

W większości badanych majonezów zawartość frakcji (MAG + DAG) kształtowała się na poziomie ok. 3%, jednak niektóre z nich, np. produkty o symbolach: 1.3, 1.4, 2.1, 2.3 i 2.4, charakteryzowały się większą zawartością mono- i diacylogliceroli. Są to produkty z grupy majonezów niskotłuszczowych i stołowych, można zatem przypuszczać, że podczas ich produkcji wprowadzono dodatkowe ilości tych składników, które pełnią funkcje emulgatorów spożywczych.

W majonezach niskotłuszczowych zawartość frakcji TAG przyjmowała wartości 94,4–97,6%, w majonezach stołowych mieściła się ona w przedziale od 93,2–96,8%, natomiast w majonezach wysokotłuszczowych kształtowała się na poziomie ok. 97%.

Reasumując, można stwierdzić, że pochodzące od tego samego producenta majonezy 1.4, 2.1, 2.4 i 3.3 zostały wyprodukowane na bazie oleju sojowego. Pozostałe majonezy zawierały w swym składzie olej rzepakowy. Udział procentowy kwasów tłuszczowych w próbkach tłuszczów wyodrębnionych z majonezów nie był jednak identyczny, jak w czystych olejach jadalnych danego typu, co mogło być spowodowane obecnością kwasów tłuszczowych wprowadzanych do majonezu jako produktu wieloskładnikowego, np. z żółtkiem jaja, musztardą itp.

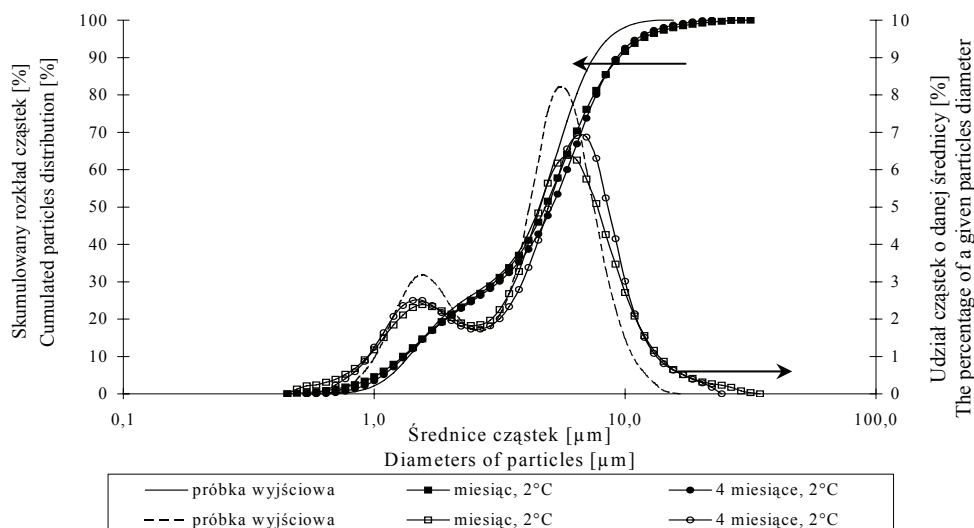
Średnie wielkości cząstek oraz współczynniki dyspersji w majonezach wyjściowych i w przechowywanych próbkach zamieszczono w tab. 3. Wybrane wyniki, typowe dla większości zbadanych emulsji, zilustrowano także na rys. 2–5.

Analizując uzyskane wyniki stwierdzono, że emulsje o mniejszej średniej wielkości cząstek (1.4, 2.4, 3.2, 3.3, 3.4) nie ulegały destabilizacji podczas przechowywania. Jak wspomniano wyżej, majonezy 1.4, 2.4, 3.3 pochodziły od tego samego producenta, majonezy oznakowane symbolami 3.2, 3.4 były także produktami jednej firmy.

Na rys. 2. i 3. zilustrowano udział procentowy cząstek o danej średnicy oraz ich rozkład w emulsji 3.2. Nie stwierdzono zasadniczych zmian w rozkładzie cząstek fazy rozproszonej. Wyjątek stanowiła próbka przechowywana przez 4 miesiące w temp. 20°C (rys. 3). W tym przypadku przechowywanie spowodowało wzrost średniej wielkości cząstek fazy zdyspergowanej od 5,4 do 7,5 μm . W próbce wyjściowej 90% cząstek miało średnicę nie większą niż 9,5 μm . Po 4 miesiącach przechowywania w 20°C parametr ten osiągnął wartość 1,7 razy większą (15,9 μm). Niezależnie jednak od stwierdzonych zmian średnic cząstek fazy rozproszonej, emulsja w dalszym ciągu pozostawała stabilna. W każdej próbce emulsji 3.2 zaobserwowano występowanie co najmniej dwóch frakcji fazy zdyspergowanej, zróżnicowanych pod względem średnicy cząstek. Produkt ten należy do grupy majonezów wysokotłuszczowych, w których mniejsze kropelki oleju, w procesie wytwarzania emulsji, zostały ciasno upakowane

między kroplami o większych średnicach, tworząc przy tym strukturę siatki przestrzennej [5, 17]. Prawdopodobnie fakt ten oraz optymalna wielkość cząstek fazy tłuszczowej zagwarantowały dobrą stabilność emulsjom 3.2, 3.3 i 3.4. Wyniki te potwierdzono także obliczeniami współczynników dyspersji, których wartości kształtowały się na podobnym poziomie i wskazują na wysoki stopień rozproszenia fazy tłuszczowej w wodzie.

W wyjściowych próbkach emulsji 1.4 i 2.4 oznaczono wyższe zawartości frakcji (MAG + DAG) w odniesieniu do produktów wysokotłuszczowych oraz olejów roślinnych, wynoszące odpowiednio 5,5 i 6,7% (tab. 2). Najbardziej prawdopodobnym wyjaśnieniem wysokiej stabilności majonezów 1.4 oraz 2.4, należących odpowiednio do grupy niskotłuszczowych i stołowych, była zatem obecność dodatkowych ilości frakcji (MAG + DAG), wprowadzonych jako emulgatory. W rezultacie możliwość rozpadu tych emulsji w wyniku redukcji zawartości tłuszczu została zniwelowana.



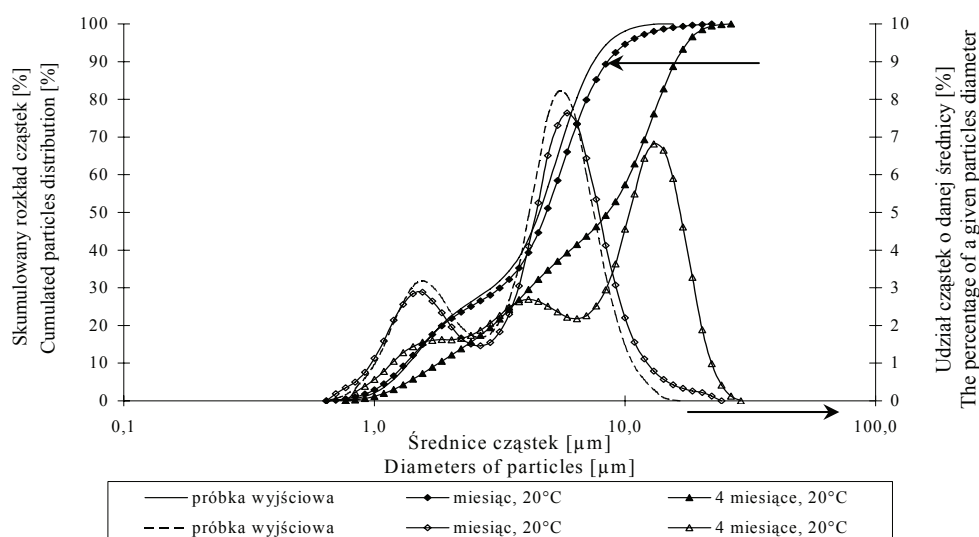
próbka wyjściowa – initial sample
miesiąc – month
4 miesiące – 4 months

Rys. 2. Udział procentowy cząstek o danej średnicy i ich rozkład w emulsji wyjściowej (3.2) oraz po przechowywaniu (temp.: 2°C, czas: 1 miesiąc, 4 miesiące).

Fig. 2. The percentage of a given particles diameter and their distribution in the initial emulsion (3.2) and after storage (temp.: 2°C, time: 1 month, 4 months).

Podczas przechowywania próbek pozostałych majonezów postępował proces koalescencji, prowadzący do agregacji cząstek fazy zdyspergowanej, czego dowodzą zarówno wyniki pomiarów zmian wielkości cząstek w trakcie przechowywania, jak rów-

niez obliczone współczynniki dyspersji [4, 6, 8]. Średnie wielkości cząstek fazy rozproszonej wzrastały prawie 2-krotnie (majonezy 1.1, 1.2, 1.3 i 2.2) lub 3-krotnie (majonez 3.1) w odniesieniu do wartości początkowych, podczas przechowywania próbek przez 4 miesiące w temp. 2°C. Zmianom tym towarzyszył wzrost współczynników dyspersji. W trakcie przechowywania w obniżonej temperaturze największe zmiany stwierdzono w przypadku emulsji 2.3 (tab. 3, rys. 4 i 5). Średnia wielkość cząstek fazy zdyspergowanej w próbce przechowywanej przez 1 miesiąc w temp. 2°C była ponad 6 razy większa (27,8 μm) w stosunku do wartości początkowej (4,5 μm) i przez kolejne 3 miesiące utrzymywała się na podobnym poziomie (29,3 μm). Równocześnie zanotowano 10-krotny wzrost współczynnika dyspersji.



Rys. 3. Udział procentowy cząstek o danej średnicy i ich rozkład w emulsji wyjściowej (3.2) oraz po przechowywaniu (temp.: 20°C, czas: 1 miesiąc, 4 miesiące).

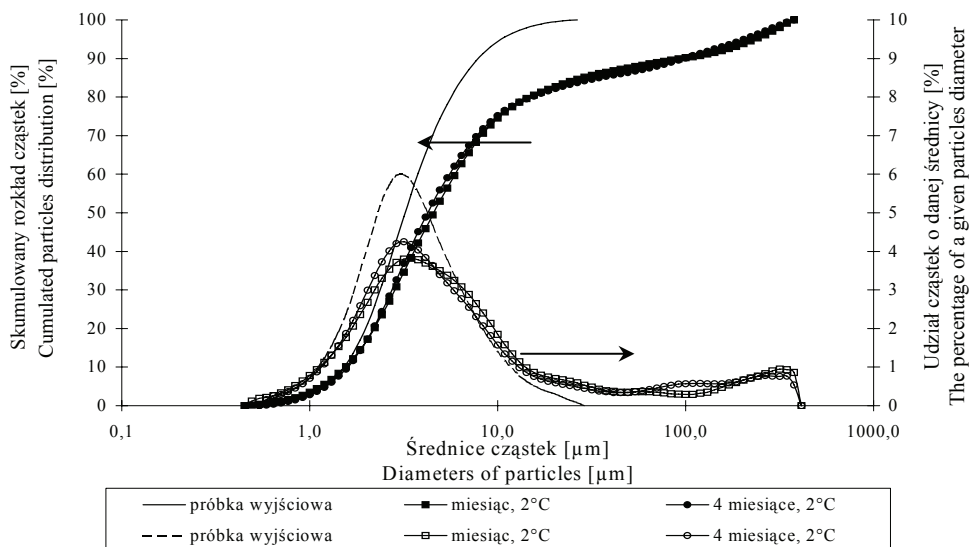
Fig. 3 The percentage of a given particles diameter and their distribution in the initial emulsion (3.2) and after storage (temp.: 20°C, time: 1 month, 4 months).

W próbce wyjściowej 90% cząstek miało średnicę nie większą niż 8,0 μm (rys. 4). W trakcie miesięcznego przechowywania w temp. 2°C wartość tego parametru zwiększyła się ponad 11 razy i ukształtowała się na poziomie 91,0 μm. Obserwowane zmiany zostały prawdopodobnie wywołane przez proces krystalizacji acylogliceroli, który w efekcie doprowadził do wydzielenia fazy tłuszczowej i destabilizacji emulsji.

Tabela 3

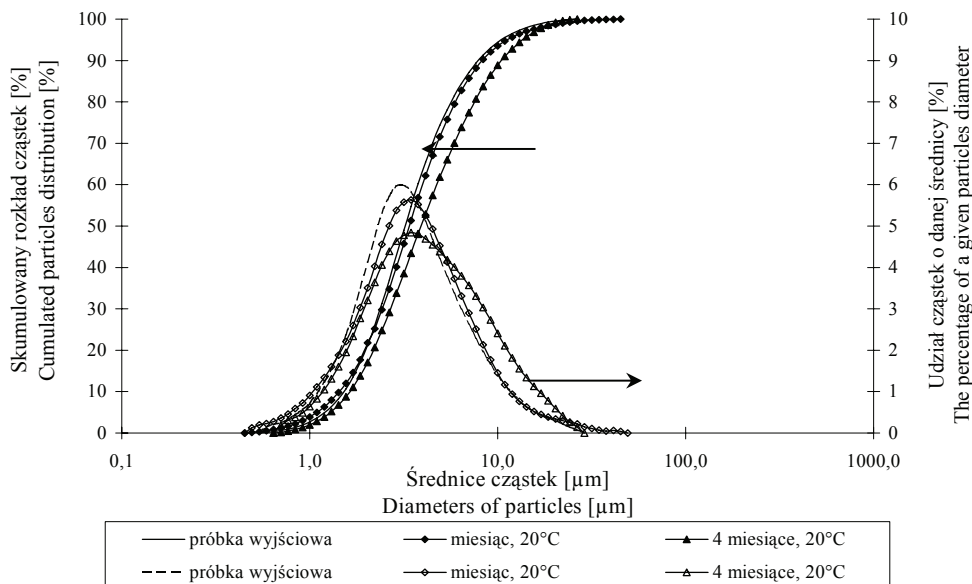
Średnie wielkości cząstek oraz współczynniki dyspersji w majonezach wyjściowych i w przechowywanych próbkach.
The average sizes of particles and dispersion indexes in the initial mayonnaise and in the samples after storage.

Grupa majonezów The group of mayonnaise	Symbol produktu Symbol of the product	Średnia wielkość cząstek [µm] The average size of particles [µm]			Współczynnik dyspersji (K) The dispersion index (K)					
		Próbka wyjściowa The initial sample	Warunki przechowywania The conditions of storage		Próbka wyjściowa The initial sample	Warunki przechowywania The conditions of storage				
Niskotłuszczowe Low fat 45% tłuszczu	1.1	11,7	16,2	16,2	19,6	21,3	1,7	2,2	1,9	2,4
	1.2	20,2	29,2	31,9	38,3	41,2	2,9	13,5	3,3	14,1
	1.3	14,3	16,9	20,5	17,3	25,3	1,7	2,2	1,9	2,4
	1.4	2,6	2,7	2,6	2,8	2,8	1,5	1,4	1,6	1,4
Stołowe Regular 60% tłuszczu	2.1	22,7	29,7	30,5	33,8	35,5	1,9	2,5	2,8	2,3
	2.2	25,5	33,2	37,7	38,7	49,8	1,2	1,5	2,1	1,9
	2.3	4,5	5,3	27,8	5,8	29,3	1,7	2,0	19,0	2,3
	2.4	2,6	3,2	3,0	2,9	3,1	1,2	1,3	1,5	1,4
Wysokotłuszczowe High fat 80% tłuszczu	3.1	4,2	4,6	5,6	4,9	13,6	1,9	2,5	3,0	2,9
	3.2	5,4	5,4	5,6	7,5	6,1	1,3	1,5	1,4	1,8
	3.3	4,3	4,7	4,9	5,0	5,7	1,1	1,2	1,4	1,5
	3.4	4,5	4,7	5,1	6,1	6,8	1,8	2,1	1,9	2,1



Rys. 4. Udział procentowy cząstek o danej średnicy i ich rozkład w emulsji wyjściowej (2.3) oraz po przechowywaniu (temp.: 2°C, czas: 1 miesiąc, 4 miesiące).

Fig. 4. The percentage of a given particles diameter and their distribution in the initial emulsion (2.3) and after storage (temp.: 2°C, time: 1 month, 4 months).



Rys. 5. Udział procentowy cząstek o danej średnicy i ich rozkład w emulsji wyjściowej (2.3) oraz po przechowywaniu (temp.: 20°C, czas: 1 miesiąc, 4 miesiące).

Fig. 5. The percentage of a given particles diameter and their distribution in the initial emulsion (2.3) and after storage (temp.: 20°C, time: 1 month, 4 months).

Wnioski

1. Wyniki analizy GLC wskazują, że przy produkcji majonezów, obecnych na polskim rynku, najczęściej stosowany jest olej rzepakowy. Występują również produkty na bazie oleju sojowego. Podstawę fazy tłuszczowej może stanowić także mieszanina olejów rzepakowego i sojowego, co potwierdza skład kwasów tłuszczowych majonezu o symbolu 3.2.
2. Podczas przechowywania, w większości badanych majonezów postępował proces koalescencji, a w niskiej temperaturze także krystalizacja acylogliceroli. W rezultacie następowało wydzielanie fazy tłuszczowej i destabilizacja emulsji.
3. Stabilności majonezów sprzyjają: obecność dodatkowych ilości emulgatorów (w przypadku produktów o obniżonej zawartości tłuszczu), optymalne, niewielkie (2,6–5,4 μm) średnice cząstek fazy rozproszonej oraz występowanie co najmniej dwóch frakcji fazy zdyspergowanej, zróżnicowanych pod względem wielkości cząstek.

Literatura

- [1] Allen T.: Particle size measurements. Chapman and Hall, London 1990.
- [2] Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Washington 1990.
- [3] Coupland J. N., McClements D. J.: Droplet size determination in food emulsions: comparison of ultrasonic and light scattering methods. *J. Food Eng.*, 2001, **50**, 117-120.
- [4] Cyr M., Tagnit-Hamou A.: Particle size distribution of fine powders by laser diffraction spectrometry. Case of cementitious materials. *Mater. Structur.*, 2000, **34**, 342-350.
- [5] Depree J. A., Savage G. P.: Physical and flavour stability of mayonnaise. *Food Sci. Technol.*, 2001, **12**, 157-163.
- [6] Huang X., Kakuda Y., Cui W.: Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 2001, **15**, 533-542.
- [7] ISO 13320-1:1999 (E). Particle size analysis – laser diffraction methods – Part 1: General principles.
- [8] McClements D. J.: *Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques*. CRC Press LLC, New York 1999.
- [9] Niewiadomski H.: *Technologia tłuszczów jadalnych*. WNT, Warszawa 1979.
- [10] PN-A-86950: 1995. Majonez.
- [11] PN-EN ISO 5509:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [12] PN-EN ISO 660:2005. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [13] PN-EN ISO 8420:2004. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości związków polarnych.
- [14] Rawle A.: Podstawowe pojęcia z dziedziny analizy ziarnistości cz. I. Laboratoria Aparatura Badania, materiały firmowe, 2001.
- [15] Rawle A.: Podstawowe pojęcia z dziedziny analizy ziarnistości cz. II. Laboratoria Aparatura Badania, materiały firmowe, 2001.

- [16] Seville J. P. K., Coury J. R., Ghadiri M., Clift R.: Comparison of techniques for measuring the size of fine non-spherical particles. *Particle Characterization*, 1984, **1**, 45-52.
- [17] Stauffer C. E.: *Emulgatory*. WNT. Warszawa 2001.
- [18] Śmiechowski K.: Badanie wpływu sposobu modyfikacji tłuszczów na wielkość i rozrzut cząstek w emulsji do natłuszczania skór. *Pol. J. Commodity Sci.*, 2004, **1**, 107-128.
- [19] Świderski F. (red.): *Żywność wygodna i żywność funkcjonalna*. WNT. Warszawa 1999.

CHARACTERISTIC OF SELECTED MAYONNAISE AND EFFECT OF TEMPERATURE AND STORAGE TIME ON THEIR STABILITY

S u m m a r y

In commercial mayonnaise the percentage of free fatty acids, mono- di- and triacylglycerols fractions were determined. In fractions of triacylglycerols fatty acids composition was determined. Sizes of particles were measured and particles distributions were set in the emulsions after storage samples for a month and four months, at 20°C and 2°C. The laser diffraction method was applied to investigate the effect of storage temperature and time on the emulsions stability.

It has been found that generally rapeseed oil was used in the production of mayonnaise, which is available in polish market. In low fat and regular mayonnaise the higher amounts of mono- and diacylglycerols fractions were determined. Mono- and diacylglycerols as emulsifiers assured high stability of these products. In most cases, at the storage conditions the aggregation of dispersed phase particles and crystallisation of acylglycerols at the low temperature have been proceeded. These processes resulted in the separation of oil phases and destabilisation of the emulsions. The emulsions characterised by the lower droplet size were not destabilised at the storage conditions.

Key words: mayonnaise, emulsion, laser diffraction method, particles distribution ☒

KAMILA MYSZKA, KATARZYNA CZACZYK

ROLA ZEWNĄTRZKOMÓRKOWYCH BIAŁEK W PROCESIE ADHEZJI *PROTEUS VULGARIS* DO POWIERZCHNI STALI NIERDZEWNEJ

Streszczenie

Celem badań było określenie roli zewnątrzkomórkowych białek w procesie adhezji *Proteus vulgaris* do powierzchni stali nierdzewnej. Zbadano również zależności pomiędzy zawartością ATP w komórkach bakteryjnych, zmianami w profilu zewnątrzkomórkowych białek a adhezją *Proteus vulgaris* do powierzchni abiotycznych. Hodowle mikroorganizmów prowadzono na pożywce o optymalnej oraz zredukowanej zawartości składników pokarmowych. W przeprowadzonych eksperymentach warunki głodowe środowiska wzrostu indukowały zjawisko adhezji komórek do płaszczyzn stałych. Trwała kolonizacja powierzchni stali nierdzewnej występowała już w początkowych etapach badania adhezji. Bakterie *Proteus vulgaris* narażone na oddziaływanie stresu głodowego charakteryzowały się wyższym stanem energetycznym, co skutkowało wyraźnym ograniczeniem lub nawet brakiem syntezy części egzogennych białek o względnej masie cząsteczkowej mieszczącej się w zakresie $14,2 \times 10^3$ Da - 36×10^3 Da.

Słowa kluczowe: biofilm, adhezja, *Proteus vulgaris*, stal nierdzewna, SDS-PAGE

Wprowadzenie

Bakterie *Proteus vulgaris* są szeroko rozpowszechnione w środowisku wodnym. Mogą także powodować psucie się żywności. Dotyczy to zwłaszcza produktów o wysokiej zawartości białka (głównie mięsa, ryb i jaj). Komórki *Proteus* spp. poddane oddziaływaniu stresu głodowego uruchamiają szereg mechanizmów umożliwiających efektywną kolonizację powierzchni stałych. Biofilm bakteryjny utworzony na płaszczyznach abiotycznych stanowi potencjalne zagrożenie mikrobiologicznego skażenia żywności.

Tworzenie błon biologicznych rozpoczyna się w momencie osadzania się pojedynczych komórek na powierzchni stałej. Fizykochemiczne interakcje, zachodzące w trakcie przyłączania się komórki bakteryjnej do płaszczyzny abiotycznej, są odpowiedzią swoistą danego gatunku na warunki środowiskowe [13]. Zmniejszona zawartość składników pokarmowych w środowisku wzrostu determinuje zarówno sposób, jak i szybkość przyczepiania się komórek bakteryjnych do powierzchni nieożywionych [18]. W warunkach głodowych na skutek ograniczenia syntezy części zewnątrzkomórkowych białek, zmieniają się właściwości błony zewnętrznej bakterii G (-) [1, 8]. Zmodyfikowana struktura błony zewnętrznej skutecznie chroni komórki bakteryjne przed działaniem antybiotyków oraz detergentów [1]. Takich właściwości nie wykazują komórki *Proteus vulgaris* inkubowane na pożywkach o optymalnej zawartości substancji pokarmowych. Poznanie mechanizmu syntezy zewnątrzkomórkowych cząsteczek w warunkach głodowych i określenie ich roli w procesie tworzenia się biofilmu bakteryjnego na powierzchniach abiotycznych ma więc istotne, aplikacyjne znaczenie.

Celem badań było określenie roli zewnątrzkomórkowych białek w procesie adhezji *Proteus vulgaris* do powierzchni stali nierdzewnej typu 316L. Zbadano również zależności pomiędzy zawartością ATP w komórkach bakteryjnych, zmianami w profilu zewnątrzkomórkowych białek a adhezją *Proteus vulgaris* do powierzchni abiotycznych.

Material i metody badań

Drobnoustroje i warunki hodowli

W badaniach wykorzystano gatunek *Proteus vulgaris* ATCC 6380. W czasie prowadzenia hodowli drobnoustroje trzykrotnie pasażowano na podłoże płynne zaproponowane przez Mossela [15]. Hodowle mikroorganizmów prowadzono w temp. 35°C w warunkach dynamicznych na podłożu o optymalnej oraz zredukowanej (o 90%) dostępności składników odżywczych, przy pH = 7 pożywki. Czas prowadzenia hodowli wynosił 151 h.

Przygotowanie powierzchni stali nierdzewnej do badań

Płytki ze stali nierdzewnej (typ 316L) o wymiarach 1 cm x 6,5 cm x 1 mm, traktowano 50% roztworem HNO₃ w temp. 70°C przez 10 min. Po dokładnym wypłukaniu w wodzie destylowanej płytki umieszczano w szklanych naczyniach i autoklawowano w temp. 121°C przez 15 min [16].

Badanie adhezji

Badanie adhezji rozpoczynano w 143. h każdego doświadczenia. W płynnych hodowlach *Proteus vulgaris* umieszczano płytki ze stali nierdzewnej. W 144., 145., 147.

oraz 151. h płytki usuwano i przemywano roztworem PBS (pH = 7,2) celem usunięcia komórek nietrwale związanych z badanymi powierzchniami. Płytki zabarwiano następnie 0,01% roztworem oranżu akrydyny i prowadzono obserwację pod mikroskopem fluorescencyjnym (CARL-ZAISS, Axiovert 200, Niemcy). Określenia stopni adhezji komórek *Proteus vulgaris* do powierzchni stali nierdzewnej dokonano metodą opisaną przez Le Thi i wsp. [12]. Technika ta polega na oszacowaniu 50 pól widzenia wg 9-stopniowej skali:

- 1 stopień - od 0 do 5 komórek w polu widzenia;
- 2 stopień - od 5 do 50 komórek w polu widzenia;
- 3 stopień - tylko pojedyncze komórki (powyżej 50 w polu widzenia), brak mikroskopisk;
- 4 stopień - pojedyncze komórki + małe mikroskopiska;
- 5 stopień - duże, nielączące się mikroskopiska + pojedyncze komórki;
- 6 stopień - łączące się mikroskopiska + pojedyncze komórki;
- 7 stopień - ¼ pola widzenia pokryta biofilmem;
- 8 stopień - ½ pola widzenia pokryta biofilmem;
- 9 stopień - całe pole widzenia pokryte biofilmem.

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

Bioluminescencyjny pomiar ATP

Pomiaru stężenia ATP w komórkach *Proteus vulgaris* dokonywano w 4., 24., 72., 120. oraz 144. h każdego eksperymentu. Płynne hodowle wirowano w temp. 20°C przez 20 min (3000 g). Uzyskany osad zawieszano w sterylnej dejonizowanej wodzie i ustalano gęstość optyczną (OD_{540nm}) odpowiadającą 1×10^8 jtk/ml. Celem ekstrakcji komórkowego ATP do 100 µl próby wprowadzano 200 µl buforu litycznego (Lumitech, Holandia). Po dokładnym wymieszaniu, do prób wprowadzano następnie 100 µl kompleksu lucyferyna-lucyferaza (Lumitech, Holandia). Zawartość ATP w komórkach bakteryjnych oznaczano lumenometrem Cesis-Lumac Lumenometr Biocounter M1500 (Lumitech, Holandia). Uzyskane wyniki przekształcono wg zależności: 7200 RLU (ang. Relative Light Unit) odpowiada 200 pg ATP komórkowego.

Ekstrakcja zewnątrzkomórkowych białek

W badaniach zastosowano metodę ekstrakcji zewnątrzkomórkowych białek zaproponowaną przez Tavares i Sellstedt [19]. Płynne hodowle wirowano w temp. 20°C przez 20 min (3000 g). Uzyskany osad zawieszano w dejonizowanej wodzie i ustalano gęstość optyczną (OD_{540nm}) odpowiadającą 1×10^8 jtk/ml. Celem usunięcia niezwiązanych z powierzchnią komórki zewnątrzkomórkowych białek, komórki przemywano 62,5 mM roztworem Tris- HCl (pH 6,8). Osad komórkowy następnie zawieszano w 1 ml 62,5 mM roztworu Tris- HCl (pH 6,8), zawierającym 0,1% (v/v) Triton- X 100 (Serva) i 1% (v/v) Pmsf (Sigma, USA). Próby ostrożnie mieszano i wirowano w temp. 4°C przez 20 min (15000 g). Zawartość wyekstrahowanych białek zewnątrzkomórkowych w próbce oznaczano spektrofotometrycznie metodą Bradforda [3]. Jako wzorzec zastosowano roztwory BSA (Sigma USA) o stężeniu 0,1 - 1 mg/ml.

SDS - PAGE

Roztwór zewnątrzkomórkowych białek wprowadzono do buforu denaturującego, zawierającego: 62,5 mM Tris- HCl (pH 6,8), 2% (w/v) SDS, 5% (v/v) β -merkaptioetanol, 0,025% (m/v) bromofenol blue oraz 10% (v/v) glicerol. Przed nałożeniem na żel, próby ogrzewano we wrzącej łaźni wodnej (100°C) przez 3 min [19].

Rozdziału wyekstrahowanych zewnątrzkomórkowych molekuł dokonywano techniką jednokierunkowej elektroforezy w obecności 0,1% roztworu SDS przy napięciu 100 V [11]. W doświadczeniu zastosowano 12% żel poliakrylamidowy. Czas trwania eksperymentu wnosił 5 h. Jako wzorzec zastosowano mieszaninę białek o znanym ciężarze cząsteczkowym (Sigma, USA).

Wizualizacja rozdzielonych zewnątrzkomórkowych białek w żelach SDS-PAGE

Wizualizacji rozdzielonych biopolimerów na żelach poliakrylamidowych dokonywano techniką wybarwiania pasm związkami srebra [4]. Żel przetrzymywano w mieszaninie 40% roztworu etanolu i 10% roztworu kwasu octowego przez 12 h. Żel następnie przetrzymywano w 30% roztworze etanolu (20 min), w wodzie (20 min) oraz 1,6 mmol/l roztworze $Na_2S_2O_3$ (1 min). Żel 3-krotnie przepłukiwano w wodzie (20 s) i zanurzano na 20 min w mieszaninie: 0,2% roztworu azotanu srebra i 0,007% roztworu formaldehydu. Żel przepłukiwano 3-krotnie w wodzie (20 s), a następnie zanurzano na 5 min w mieszaninie: 280 mmol/l węgla sodu, 0,018% roztworze formaldehydu, 40 μ mol/l tiosiarczanu sodu. Zanurzenie żelu w 133 mmol/l glicyny (5 min) zatrzymywało proces wybarwiania rozdzielonych pasm.

Wyniki i dyskusja

Wyniki badania wpływu dostępności składników pokarmowych w pożywce hodowlanej na kinetykę tworzenia się biofilmu przez komórki *Proteus vulgaris* na po-

wierzchni stali nierdzewnej, typ 316L, przedstawiono w tab. 1. Jako dominujące stopnie adhezji uznano te, których udział wynosił minimum 20%. Badano również pojawianie się wyższych stopni adhezji (6-9 stopień). We wszystkich wariantach przeprowadzonych doświadczeń liczba komórek *Proteus vulgaris* w płynie hodowlanym kształtowała się na poziomie średnio 10^5 - 10^6 jtk/ml.

Tabela 1

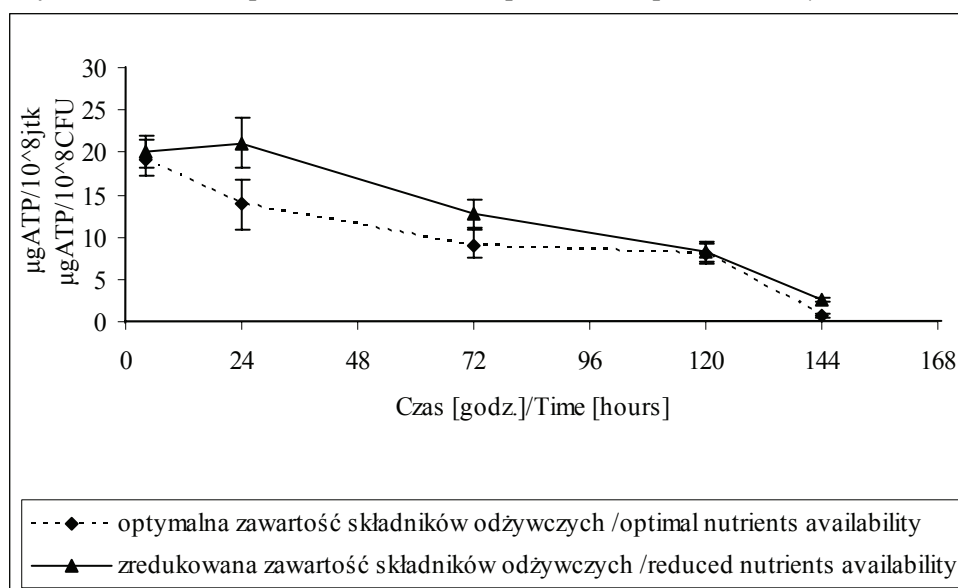
Stopień adhezji komórek *Proteus vulgaris* do powierzchni stali nierdzewnej 316L w zależności od dostępności składników pokarmowych w pożywce hodowlanej
Proteus vulgaris adhesion degree to the surface of stainless steel 316L in dependence on nutrients availability in the culture medium

Czas hodowli [h] Time of incubation [hours]	Dostępność składników pokarmowych w pożywce Nutrients availability in the culture medium					
	Optymalna Optimal			Zredukowana Reduced		
	Liczba komórek w płynie hodowlanym [jtk/ml] Cell number in the medium [CFU/ml]	Dominujące stopnie adhezji Dominant adhesion degrees	Pojawienie się wyższych stopni adhezji (6,7,8,9) Appearance of higher adhesion degrees (6,7,8,9)	Liczba komórek w płynie hodowlanym [jtk/ml] Cell number in the medium [CFU/ml]	Dominujące stopnie adhezji Dominant adhesion degrees	Pojawienie się wyższych stopni adhezji (6,7,8,9) Appearance of higher adhesion degrees (6,7,8,9)
144	$1,4 \times 10^6$	1, 2	-	$4,6 \times 10^5$	3	6
145	$1,5 \times 10^6$	2, 1	-	$8,2 \times 10^5$	3	6
147	$1,6 \times 10^6$	2, 1	-	$4,7 \times 10^5$	3	6
151	$2,0 \times 10^6$	3, 1	-	$4,7 \times 10^5$	3	6

Powierzchnie ze stali nierdzewnej typu 316L efektywnie zasiedlane były przez komórki *Proteus vulgaris* w warunkach głodowych środowiska wzrostu (tab.1). We wszystkich wariantach przeprowadzonych doświadczeń zaobserwowano wyraźną dominację 3. stopnia adhezji oraz pojawienie się 6. stopnia adhezji. W hodowlach *Proteus vulgaris* prowadzonych na pożywkach o optymalnej dostępności substancji pokarmowych odnotowano dominację głównie 1. oraz 2. stopnia adhezji i nie stwierdzono obecności wyższych stopni adhezji (6-9 stopień).

Rodzaj powierzchni, do której przyczepiają się drobnoustroje, jest czynnikiem warunkującym tworzenie się błon biologicznych [5]. W adhezji mikroorganizmów do powierzchni stali nierdzewnej istotną rolę odgrywa porowatość płaszczyzny. Han i wsp. [7] odnotowali, że obecność zarysowań, szczelin oraz pęknięć na powierzchni ma wpływ przede wszystkim na początkowe etapy rozwoju biofilmu bakteryjnego

w warunkach głodowych. Analogiczne zależności zaobserwowali Julien i wsp. [10], którzy wykazali, że porowatość stali nierdzewnej decyduje także o trudności usuwania mikroorganizmów z danej powierzchni. Jest to związane z redukcją pierwotnych wymiarów i zmianą kształtu komórek bakteryjnych, inkubowanych w warunkach głodowych [20]. Valcarce i wsp. [21] wykazali, że zabieg mechanicznego polerowania płaszczyzn abiotycznych nie ograniczył występowania w żywności bakterii patogennych. Powierzchnie kontaktujące się z żywnością muszą zatem mieć odpowiedni stopień wykończenia, a ich porowatość nie może przekraczać poziomu 0,8 μm [22].



Rys 1. Wpływ dostępności składników pokarmowych w pożywce hodowlanej na zawartość ATP w komórkach *Proteus vulgaris*.

Fig. 1. The influence of nutrients availability in the culture medium on the ATP content in *Proteus vulgaris* cells.

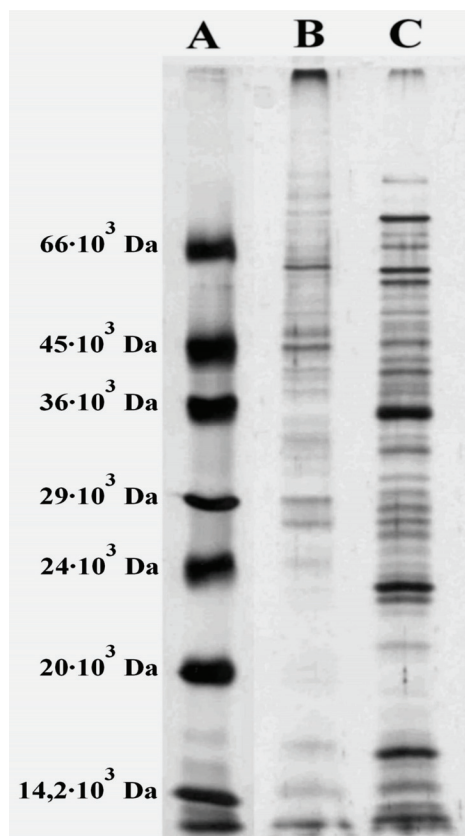
Istotną rolę w procesie tworzenia się biofilmów na powierzchniach abiotycznych odgrywa synteza przez drobnoustroje zewnątrzkomórkowych białek. Wstępnej oceny efektywności biosyntezy zewnątrzkomórkowych cząsteczek dokonano na podstawie bioluminescencyjnego pomiaru zawartości ATP w komórkach *Proteus vulgaris*. Wyniki badania wpływu dostępności składników pokarmowych w pożywce hodowlanej na stan energetyczny komórek *Proteus vulgaris* przedstawiono na rys.1. Bakterie *Proteus vulgaris* narażone na oddziaływanie stresu głodowego charakteryzowały się wyższą zawartością ATP. We wszystkich wariantach przeprowadzonych doświadczeń najwyższe stężenie ATP w komórkach *Proteus vulgaris* odnotowano w pierwszych 24 h hodowli. W 120. h trwania procesu poziom ATP w komórkach badanych drobnoustrojów

wyraźnie obniżył się do poziomu średnio $8 \mu\text{g}/10^8$ jtk. Było to widoczne w hodowlach *Proteus vulgaris* prowadzonych zarówno na pożywce o optymalnej, jak i zredukowanej dostępności składników pokarmowych.

Wysoka zawartość ATP w komórkach bakteryjnych jest odpowiedzią mikroorganizmów na warunki hodowli [2, 17]. W środowisku ograniczonej podaży substancji odżywczych następuje zmiana w budowie przestrzennej membran powierzchniowych drobnoustrojów [20]. Energia potrzebna do przeprowadzenia tych zmian zawarta jest w pozakomórkowych biopolimerach. Wyraźne ograniczenie lub brak syntezy części pozakomórkowych cząsteczek uruchamia przemiany, w rezultacie których następuje wytworzenie na powierzchniach stałych stabilnych kolonii bakteryjnych. Bioluminescencyjny pomiar ATP wskazuje na fakt, że zmiany metaboliczne, sprzyjające tworzeniu się biofilmu bakteryjnego w warunkach głodowych, są reakcją występującą głównie w początkowych etapach hodowli. Analogiczne zależności wykazali Blackburn i wsp. [2], badając wpływ dostępności składników pokarmowych w pożywce na adhezję *Pseudomonas fragi* do powierzchni polistyrenu. Dojrzałą matrycę biofilmu *Pseudomonas fragi* na badanej powierzchni stałej zaobserwowano przy najmniejszej zawartości składników pokarmowych w pożywce. Na tym etapie prowadzenia hodowli badane drobnoustroje odznaczały się wysoką zawartością komórkowego ATP [2].

W niniejszej pracy techniką SDS-PAGE dokonano wstępnej identyfikacji zmian w profilach zewnątrzkomórkowych biopolimerów syntetyzowanych przez komórki *Proteus vulgaris*. Ekstrakcje pozakomórkowych białek przeprowadzono w 144. h trwania hodowli. Wówczas bakterie *Proteus vulgaris* odznaczały się najniższym stanem energetycznym, co dowodziło przeprowadzeniu przez komórki zmian w strukturze pozakomórkowej membrany. Ponadto we wszystkich wariantach eksperymentu w 144. h efektywność kolonizacji powierzchni stali nierdzewnej przez badane drobnoustroje była analogiczna jak w 145., 147. oraz w 151. h procesu.

Wyniki badania wpływu dostępności składników odżywczych środowiska wzrostu mikroorganizmów na syntezę zewnątrzkomórkowych białek przedstawiono na rys. 2. W komórkach *Proteus vulgaris* inkubowanych w warunkach głodowych stwierdzono wyraźne ograniczenie syntezy zewnątrzkomórkowych białek o względnej masie cząsteczkowej, mieszczącej się w zakresie $14,2 \cdot 10^3$ Da – $36 \cdot 10^3$ Da. W tym wariantcie eksperymentu wystąpił brak syntezy białka o ciężarze cząsteczkowym wynoszącym około $36 \cdot 10^3$ Da. W hodowli *Proteus vulgaris*, prowadzonej na pożywce o optymalnej dostępności substancji odżywczych, efektywność biosyntezy białka o masie cząsteczkowej $36 \cdot 10^3$ Da, była duża (o czym świadczą intensywność barwy rozdzielonego pasma).



Rys. 2. Wpływ dostępności składników pokarmowych w pożywce na profil zewnątrzkomórkowych białek komórek *Proteus vulgaris* (B - inkubowanych w warunkach głodowych, C - inkubowanych w warunkach optymalnych, A - marker białkowy).

Fig. 2. The influence of the nutrients availability in the medium on extracellular protein profile of *Proteus vulgaris* cells (B - incubated under starvation conditions, C - incubated under optimal conditions, A - molecular weight marker).

Zewnątrzkomórkowe biopolimery są cząsteczkami, których biosynteza sygnalizuje bardzo niską koncentrację lub brak związków pokarmowych w środowisku wzrostu drobnoustrojów. W warunkach głodowych substancje te stanowią rezerwuar energii i monomerów, wykorzystywanych przez komórkę do podtrzymywania szeroko rozumianej aktywności fizjologicznej [14]. Redukcję syntezy pozakomórkowych białek w warunkach głodowych wykazywały patogenne szczepy *Vibrio* ssp. oraz *Pseudomonas* ssp. [9, 20]. Po 7 dniach prowadzenia hodowli w warunkach głodowych produkcja egzogennych białek przez te drobnoustroje zmalała o 50%, a po 30 dniach – o 80%, w porównaniu z wytwarzaniem tych związków w środowisku o optymalnej podaży substancji odżywczych. Liu i Tay [13] wykazali, że syntetyzowane przez *Bacillus ste-*

arothermophilus w warunkach głodowych pozakomórkowe białka są również inicjatorami procesu adhezji. Usunięcie zewnętrznej warstwy białkowej za pomocą trypsyny lub SDS powodowało znaczą (nawet 100-krotną) redukcję adhezji *Enterococcus* spp. i *Bacillus* spp. do powierzchni stali nierdzewnej [6, 16].

Wnioski

1. Wykazano bezpośredni wpływ ograniczonej zawartości składników pokarmowych w środowisku wzrostu na efektywność tworzenia się biofilmu *Proteus vulgaris* na powierzchni stali nierdzewnej.
2. Trwała kolonizacja powierzchni stali nierdzewnej przez drobnoustroje występowała już w początkowych etapach badania adhezji.
3. Komórki *Proteus vulgaris* inkubowane w warunkach głodowych odznaczały się wyższym stanem energetycznym, co związane było z wyraźną redukcją lub brakiem syntezy części zewnątrzkomórkowych białek.
4. Zmiany w profilach zewnątrzkomórkowych białek drobnoustrojów poddanych oddziaływaniu stresu głodowego indukowały proces adhezji komórek do powierzchni stali nierdzewnej.

Literatura


- [1] Beveridge T. J.: Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles. J. Bacteriol., 1999, **181**, 4725- 4733.
- [2] Blackburn C. W., Gibbs P. A., Roller S. D., Johal S.: Use of ATP in microbial adhesion studies. In: Stanely P. E., McCarthy B. J., Smither R.: ATP Luminescence: rapid methods in microbiology. Blackwell Scientific Publications, London 1989.
- [3] Bradford, M. M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. Anal. Biochem., 1976, **72**, 248- 254.
- [4] Blum H., Beier H., Gross H., J.: Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. Electrophoresis, 1987, **8**, 1 93- 99.
- [5] Czaczyk K.: Czynniki warunkujące adhezję drobnoustrojów do powierzchni abiotycznych. Post. Microbiol., 2004, **43 (3)**, 267-283.
- [6] Flint S. H., Brooks J. D., Bremer P. J.: The influence of cell surface properties of thermophilic streptococci colonising stainless steel. J. Appl. Microbiol., 1997, **83**, 508-511.
- [7] Han Y., Sherman D. M., Linton R. H., Nielsen S. S., Nelson P. E.: The effects of washing and chlorine dioxide gas on survival and attachment of *Escherichia coli* O157:H7 to green pepper surfaces. Food Microbiol., 2000, **17**, 521-533.
- [8] Hood M. A., Guckert J. B., White D. C., Deck F.: Effect of nutrient deprivation on lipid, carbohydrate, DNA, RNA and protein levels in *Vibrio cholerae*. Appl. Environ. Microbiol., 1986, **52**, 788-793.
- [9] Husevag B.: Starvation survival of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* in seawater. FEMS Microbiol. Ecol., 1995, **16**, 25-32.
- [10] Julien C., Benezech T., Carpentier B., Lebret V., Faile C.: Identification of surface characteristics relevant to the hygienic status of stainless steel for the food industry. J. Food Eng., 2002, **56**, 77-87.

- [11] Laemmli U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, **222**, 680- 685.
- [12] Le Thi T.-T., Prigent- Combaret C., Dorel C., Lejeune P.: First stages of biofilm formation: Characterization and Quantification of bacterial functions involved in colonization process. *Met. Enzymol.*, 2001, **336**, 152-159.
- [13] Liu Y., Tay J. H.: Detachment forces and their influence on the structure and metabolic behaviour of biofilms. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, **17**, 111-117.
- [14] Matin A.: Physiology, molecular biology and applications of the bacterial starvation response. *J. Appl. Bacteriol. Supl.*, 1992, **73**, 181-185.
- [15] Mossel D. A. A.: Use of a modified MacConkey agar medium for the selective growth and enumeration of all *Enterobacteriaceae*. *J. Bact.*, 1962, **84**, 381-386.
- [16] Parkar S. G., Flint S. H., Palmer J. S., Brooks J. D.: Factors influencing attachment of thermophilic bacilli to stainless steel. *J. Appl. Microbiol.*, 2001, **11**, 675-685.
- [17] Salusbury T. T., Deans J. S., Stewart I. W.: Rapid detection of airborne microorganisms by ATP assay. In: Stanely P. E., McCarthy B. J., Smither R.: *ATP Luminescence: rapid methods in microbiology*. Blackwell Scientific Publications, London 1989.
- [18] Sanin S. L., Sanin F. D., Bryers J. D.: Effect of starvation on the adhesive properties of xenobiotic degrading bacteria. *Process Biochem.*, 2003, **38**, 909-914.
- [19] Tavares F., Sellstedt A.: A simple, rapid and non- destructive procedure to extract cell wall- associated proteins from *Frankia*. *J. Microbiol. Met.*, 2000, **39**, 171- 178.
- [20] Wai S. N., Mizunoe Y., Yoshida S.: How *Vibrio cholerae* survive during starvation. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1999, **180**, 123-131.
- [21] Valcarce M. B., Busalmn J. P., de Sanchez S. R.: The influence of the surface condition on the adhesion of *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 17552) to copper and aluminium brass. *Inter. Biodegrad. Biodegrad.*, 2002, **50**, 61-66.
- [22] 3-A sanitary standards for storage tanks for milk and milk products. *3-A Sanitary Standard 01-07*. International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, Ames, Iowa, USA, 1990

THE ROLE OF EXTRACELLULAR PROTEINS IN *PROTEUS VULGARIS* ADHESION TO THE SURFACE OF STAINLESS STEEL

Summary

The aim of the study was to define the role of extracellular proteins in the *Proteus vulgaris* adhesion process to the stainless steel. The dependences between the ATP level in the cells, changes in the profiles of extracellular proteins and the *Proteus vulgaris* adhesion to the abiotic surfaces were also defined. Cultures of bacteria were led on the optimal and reduced nutrients content. In all experimental variants the starvation conditions induced the bacterial cells adhesion to the surfaces of stainless steel. Stable colonization of the stainless steel surface occurred at the beginning of adhesion analysis. Upon nutrient - limited conditions *Proteus vulgaris* cells were at the higher energetic level which influenced on the visible reduction or even lack of extracellular proteins synthesis with molecular weights between $14,2 \times 10^3$ Da and 36×10^3 Da.

Key words: biofilm, adhesion, *Proteus vulgaris*, stainless steel, SDS-PAGE 

GRAŻYNA MORKIS, WIOLETTA KARAŚ

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP oraz Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 1 grudnia 2006 r.

Polskie akty prawne

1. Ustawa o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. 2006 r. Nr 171, poz. 1225) Ustawa o bezpieczeństwie żywności i żywienia, zastąpiła ustawę o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia z dnia 11 maja 2001 r. (Dz. U. Nr 63, poz. 634) oraz ustawę o materiałach i wyrobach przeznaczonych do kontaktu z żywnością (Dz. U. Nr 128, poz. 1408).

Ustawa określa wymagania i procedury niezbędne w zapewnieniu bezpieczeństwa żywności i żywienia zgodnie z przepisami rozporządzenia nr 178/2002.

Określono m.in.:

- wymagania zdrowotne żywności;
- wymagania przestrzegania zasad higieny:
 - żywności (w zakresie nieuregulowanym w rozporządzenia (WE) nr 852/2004,
 - materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością w zakresie nieuregulowanym w rozporządzeniu (WE) nr 1935/2004,
- właściwość organów w zakresie przeprowadzania urzędowych kontroli żywności na zasadach określonych w rozporządzeniu (WE) nr 882/2004;
- wymagania dotyczące przeprowadzania urzędowych kontroli żywności w zakresie nieuregulowanym w rozporządzeniu nr 882/2004.

Ustawa weszła w życie z dn. 28 października 2006 r.

2. Ustawa z dn. 18 października 2006 r. o wyrobie napojów spirytusowych oraz o rejestracji i ochronie oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych (Dz. U. 2006 r. Nr 208, poz. 1539).

Ustawa określa:

- zasady wykonywania działalności gospodarczej w zakresie wyrobu lub rozlewu napojów spirytusowych oraz obrotu tymi napojami,
- warunki ochrony na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych zgodnie z wymaganiami określonymi w rozporządzeniu Rady (EWG) nr 1576/89 z dnia 29 maja 1989 r. ustanawiającym ogólne zasady definicji, opisu i prezentacji napojów spirytusowych (Dz. Urz. WE L 160 z 12.06.1989, str. 1, z późn. zm.; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 9, str. 59, z późn. zm.),
- wymagania dotyczące napojów spirytusowych w zakresie nieuregulowanym w rozporządzeniu nr 1576/89 i w rozporządzeniu Komisji (EWG) nr 1014/90 z dnia 24 kwietnia 1990 r. ustanawiającym szczegółowe przepisy wykonawcze dla definicji, opisu i prezentacji napojów spirytusowych (Dz. Urz. WE L 105 z 25.04.1990, str. 9, z późn. zm.; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 10, str. 64, z późn. zm.).

Przepisów ustawy nie stosuje się do napojów spirytusowych wytworzonych domowym sposobem, na własny użytek i nieprzeznaczonych do obrotu.

W ustawie określono także zasady wykonywania działalności gospodarczej w zakresie wyrobu lub rozlewu napojów spirytusowych i obrotu tymi napojami oraz krajową listę chronionych oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych.

Ustawa weszła w życie.

3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 24 sierpnia 2006 r. w sprawie sposobu oznaczania i zabezpieczenia owoców i warzyw nieprzeznaczonych do sprzedaży, uniemożliwiającego wprowadzenie tych owoców i warzyw do obrotu lub bezpośredniej konsumpcji (Dz. U. 2006. Nr 161, poz. 1140).

W rozporządzeniu określono zasady oznaczania i zabezpieczenia owoców i warzyw nieprzeznaczonych do sprzedaży, które zostały przeznaczone do zagospodarowania na cele określone w ust. 2 rozporządzenia Rady (WE) nr 2200/96 z dnia 28 października 1996 r. w sprawie wspólnej organizacji rynku owoców i warzyw (Dz. Urz. WE L 297 z 21.11.1996 r., str. 1, z późn. zm.; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 20, str. 55).

Czynności zabezpieczenia powinno dokonywać się w obecności wojewódzkiego inspektora jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych.

4. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju wsi z dn. 25 września 2006 r. w sprawie wzoru świadectwa przejęcia owoców i warzyw nieprzeznaczonych do sprzedaży (Dz. U. 2006 r. Nr 186, poz. 1374).

Załącznik do rozporządzenia zawiera wzór świadectwa przejęcia owoców i warzyw nieprzeznaczonych do sprzedaży.

5. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju wsi z dn. 11 września 2006 r. w sprawie upoważnienia wojewódzkich inspektorów jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych do wykonywania zadań w sprawach uznawania kwalifikacji w zawodach regulowanych (Dz. U. 2006 r. Nr 171, poz. 1228).

Upoważniono wojewódzkich inspektorów jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych do wykonywania zadań w sprawach uznawania nabytych w państwach członkowskich Unii Europejskiej, Konfederacji Szwajcarskiej lub państwach członkowskich Europejskiego Porozumienia o Wolnym Handlu (EFTA) - stron umowy o Europejskim Obszarze Gospodarczym kwalifikacji do wykonywania zawodu regulowanego "rzeczoznawca".

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 2 kwietnia 2003 r. w sprawie upoważnienia wojewódzkich inspektorów Inspekcji Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych do wykonywania zadań w sprawach uznawania kwalifikacji w zawodach regulowanych (Dz. U. Nr 65, poz. 606).

6. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 27 września 2006 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie metod pobierania próbek określonych środków spożywczych do celów urzędowej kontroli poziomów zanieczyszczeń oraz przygotowywania próbek i wytycznych dla metod analitycznych stosowanych do oznaczania zawartości tych zanieczyszczeń (Dz. U. 2006 r., Nr 181, poz. 1336).

Metody pobierania próbek środków spożywczych dla celów urzędowej kontroli poziomów mikotoksyn oraz przygotowywanie próbek i wytyczne dla metod analitycznych stosowanych do oznaczania zawartości mikotoksyn określa rozporządzenie Komisji (WE) nr 401/2006 z dnia 23 lutego 2006 r. ustanawiające metody pobierania próbek i analizy do celów urzędowej kontroli poziomów mikotoksyn w środkach spożywczych (Dz. Urz. UE L 70 z 09.03.2006 r., str. 12).

7. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 26 października 2006 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie znakowania środków spożywczych i dozwolonych substancji dodatkowych (Dz. U. 2006 r., Nr 194, poz. 1435).

W miejscu sprzedaży środków spożywczych bez opakowań, oprócz nazwy środka spożywczego, na wywieszce dotyczącej danego środka spożywczego, podaje się:

- klasę jakości handlowej albo inny wyróżnik jakości handlowej,
- dla wędlin - dodatkowo wykaz składników,
- dla produktów rybołówstwa mrożonych glazurowanych - dodatkowo informację dotyczącą ilościowej zawartości glazury lub ryby albo owoców morza w tych produktach.

W oznakowaniu owocowych dżemów, galaretek, marmolad, konfitur, wytwarzanych z więcej niż jednego gatunku owoców w opakowaniach nazwę środka spo-

żywczego uzupełnia się wykazem użytych gatunków owoców, w kolejności malejącego wagowego udziału, z tym że w przypadku środków spożywczych wytworzonych z trzech lub większej liczby gatunków owoców wykaz może być zastąpiony określeniem "owoce mieszane", innym określeniem o podobnym znaczeniu lub wskazaniem liczby użytych gatunków owoców."

Rozporządzenie wchodzi w życie z dniem ogłoszenia, z wyjątkiem przepisów § 1 pkt 3, które wchodzi w życie z dniem 16 maja 2007 r.

8. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 października 2006 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie wzoru świadectwa dostawy owoców i warzyw do przetwórstwa (Dz. U. 2006 r. Nr 200, poz. 1476).

W załączniku do rozporządzenia określono nowy wzór świadectwa dostawy owoców i warzyw do przetwórstwa.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1678/2006 z dn. 14 listopada 2006 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 92/2005 w odniesieniu do alternatywnych sposobów usuwania i wykorzystania produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 314 z 15.11.2006, s. 4-6).

Zmiany wprowadzone w rozporządzeniu dotyczą:

- przetwarzania i wykorzystania lub usuwania surowców:
 - kategorii 2, które obejmują produkty uboczne pochodzenia zwierzęcego lub dowolny surowiec zawierający takie produkty [szczegółową listę surowców kategorii 2 opisano w rozporządzeniu (WE) nr 1774/2002 w art. 5 ust. 1 lit. a) – g)] lub
 - kategorii 3, które obejmują produkty uboczne pochodzenia zwierzęcego lub dowolny surowiec zawierający takie produkty [szczegółową listę surowców kategorii 3 opisano w rozporządzeniu (WE) nr 1774/2002 w art. 6 ust. 1 lit. a) – l)].
- znakowania i ponownego usuwania lub wykorzystania surowców końcowych. Ponadto do rozporządzenia dodano załącznik VII dotyczący termomechanicznej metody produkcji paliwa ekologicznego.

2. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1619/2006 z dn. 30 października 2006 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1555/96 odnośnie do wartości progowych dodatkowych należności na ogórki, karczochy, klementynki, mandarynki i pomarańcze (Dz. Urz. UE L 300 z 31.10.2006, s. 11-12).

Zmiany rozporządzenia dotyczą załącznika odnośnie oznaczania towarów (tj.: pomidory, ogórki, karczochy, cukinie, pomarańcze, klementynki, mandarynki, cytryny, winogrona stołowe, jabłka, gruszki, morele, czereśnie, brzoskwinie, włącznie z nektarynami, śliwki), okresu ich stosowania oraz wartości progowych.

Opis oznaczenia towarów uznaje się za mający wartość indykatywną. Zakres zastosowania dodatkowych należności określono zgodnie z zasięgiem kodów CN.

Niniejsze rozporządzenie stosuje się od dnia 1 listopada 2006 r.

3. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1609/2006 z dn. 27 października 2006 r. zatwierdzające na okres dwóch lat wprowadzenie do obrotu preparatów dla niemowląt opartych na hydrolizatach białek serwatkowych otrzymywanych z białek mleka krowiego (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 299 z 28.10.2006, s. 9-10).

W rozporządzeniu zatwierdzono na okres dwóch lat, (na zasadzie odstępstwa od art. 2 i art. 4 ust. 1 dyrektywy 91/321/EWG) wprowadzenie na rynek preparatów dla niemowląt zgodnie ze specyfikacjami, w których określono źródło białka, przetwarzanie białka i jakość białka używanego do wytwarzania preparatu dla niemowląt opartego na hydrolizatach białek serwatkowych otrzymywanych z białek mleka krowiego.

4. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1559/2006 z dn. 18 października 2006 r. ustanawiające minimalne wymagania jakościowe dla gruszek odmian Williams i Rocha w syropie i/lub naturalnym soku owocowym objętych systemem pomocy produkcyjnej (Wersja skodyfikowana) (Dz. Urz. UE L 288 z 19.10.2006, s. 22-25).

W rozporządzeniu określono minimalne wymagania jakościowe, które muszą spełniać konserwowane gruszki odmian Williams i Rocha w syropie i/lub naturalnym soku owocowym. Wymagania te dotyczą m.in.:

- gatunków gruszek, które mogą być wyłącznie wykorzystane do produkcji gruszek w syropie i/lub naturalnym soku owocowym. Surowiec musi być świeży, zdrowy, czysty i nadający się do przetworzenia,
- postaci gruszek, w jakiej muszą być wyprodukowane,
- wymagań dotyczących opakowań,
- wymagań organoleptycznych, m.in.: koloru,
- wymagań dotyczących wartości tolerancji w odniesieniu do ilości sztuk uszkodzonych, czy obcych substancji pochodzenia roślinnego,

Zgodnie z niniejszym rozporządzeniem uchyla się rozporządzenie (EWG) nr 2319/89.

5. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1572/2006 z dn. 18 października 2006 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 824/2000 ustanawiające procedury przejęcia zbóż przez agencje interwencyjne oraz metody analizy do oznaczania jakości zbóż (Dz. Urz. UE. L 290 z 20.10.2006, s. 29-34).

Zmiany rozporządzenia dotyczą m.in. metod oznaczania jakości zbóż zaoferowanych agencjom interwencyjnym. Standardową metodą do oznaczania ciężaru właściwego jest metoda zgodna z normą ISO 7971/2:1995.

6. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1451/2006 z dn. 29 września 2006 r. zmieniające załączniki I i II do rozporządzenia Rady (EWG) nr 2377/90 ustanawiającego wspólnotową procedurę dla określania maksymalnego limitu pozostałości weterynaryjnych produktów leczniczych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego w odniesieniu do fluazuronu, azotan(III) sodu i peforeliny (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 271 z 30.9.2006, s. 37-39).

Zmiany rozporządzenia dotyczą wykazu substancji czynnych farmakologicznie, dla których ustalone zostały najwyższe dopuszczalne poziomy (załącznik I). Wprowadzono następujące substancje: środki przeciw pasożytnicze, środki przeciw ektopasożytom, pochodne acylomocznika, ponadto określono najwyższy dopuszczalny poziom pozostałości fluazuronu. Zmiany rozporządzenia dotyczą również wykazu substancji niepodlegających maksymalnym limitom pozostałości (załącznik II). Dodano następujące substancje: chemikalia nieorganiczne tj.: azotan(III) sodu i związki organiczne tj.: peforelina.

Stosuje się od dnia 29 listopada 2006 r.
7. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1231/2006 z dn. 16 sierpnia 2006 r. zmieniające załączniki I i II do rozporządzenia Rady (EWG) nr 2377/90 ustanawiającego wspólnotową procedurę dla określania maksymalnego limitu pozostałości weterynaryjnych produktów leczniczych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego w odniesieniu do ceftiofuru oraz monooleinianu i trioleinianu polioksyetylenosorbitolu (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 225 z 17.8.2006, s. 3-4).

Zmiany wprowadzone w rozporządzeniu dotyczą wykazu substancji czynnych farmakologicznie, dla których ustalone zostały najwyższe dopuszczalne poziomy (załącznik I). Wprowadzono następujące substancje: środki przeciwzakazne, antybiotyki, cefalosporyny oraz określono najwyższy dopuszczalny poziom pozostałości ceftiofuru. Zmiany dotyczą także wykazu substancji niepodlegających maksymalnym limitom pozostałości (załącznik II). Dodano substancje ogólnie uważane za bezpieczne, a mianowicie monooleinian i trioleinian polioksyetylenosorbitolu.

Stosuje się od dnia 16 października 2006 r. ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA MIERZEJEWSKA

WSPÓŁCZESNY LEKSYKON WIEDZY O ŻYWNOSCI

Prezentujemy 23. część haseł *Współczesnego leksykonu wiedzy o żywności*. Druk leksykonu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 3 (28), 2001.

AGROFARMACEUTYKA / AGROPHARMACEUTICS – wykorzystywanie roślin transgenicznych jako bioreaktorów do produkcji białek, które mogą być stosowane w terapii lub diagnostyce medycznej

ALARMON / ALARMON – nietypowy nukleotyd, tj. tetra-*ipentafosforan* guanozynowy, pełniący funkcje regulatorowe u bakterii, biorąc udział w mechanizmie adaptacji bakterii do warunków stresowych, tj. głód aminokwasowy, niedobór węgla, azotu czy fosforu

ANTYPORT / ANTIPORT – równoczesny ruch dwóch substancji w przeciwnych kierunkach z udziałem tego samego przekaźnika

BIOTRANSFORMACJA / BIOTRANSFORMATION – przekształcanie związków chemicznych pod wpływem enzymów; nowa dziedzina chemii organicznej

CIAŁKA INKLUZYJNE / INCLUSION – nierozpuszczalne agregaty białek gromadzące się w cytoplazmie, powstające w przypadku nadekspresji obcych genów w komórkach prokariotycznych, a szczególnie w przypadku biosyntezy białek z wieloma resztami cysteinowymi

FITODEGRADACJA / PHYTODEGRADATION – zdolność wybranych gatunków roślin do pobierania zanieczyszczeń ze skażonych miejsc, a następnie ich transformacji za pomocą kompleksów enzymatycznych cyklu metabolicznego

Prof. dr hab. H. Kostyra, dr D. Mierzejewska, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Oddział Nauki o Żywności, 10-747 Olsztyn, ul. Tuwima 10, prof. dr hab. E. Kostyra, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, 10-957 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 7.

FITOEKSTRAKCJA / PHYTOEXTRACTION – technika stosowana w oczyszczaniu gleb i osadów skażonych substancjami nieorganicznymi, głównie metalami i substancjami radioaktywnymi

FITOSTABILIZACJA / PHYTOSTABILISATION – zmiana fizycznych i chemicznych właściwości zanieczyszczeń w wyniku ich immobilizacji przez rośliny

FITOEWAPORACJA / PHYTOEVAPORATION – pobieranie zanieczyszczeń przez rośliny, transpiracja, a następnie ich odparowanie w zmodyfikowanej formie

MIKROINIEKCJA / MICROINJECTION – technika wprowadzania obcego DNA do komórek ssaków

PRION / PRION – czynnik zakaźny przenoszący niektóre choroby układu nerwowego, składający się z cząsteczek białka odpornego na działanie temperatury, mającego zdolność do powielania się (samoreplikacji)

SYMPORT / SYMPORT – równoczesny transport w tym samym kierunku dwóch substratów korzystających ze wspólnego przenośnika (permeazy)

TRANSPORT AKTYWNY / MEMBRANE ACTIVE TRANSPORT – ułatwiona dyfuzja substancji przez błonę cytoplazmatyczną, z udziałem specyficznych białek błonowych (permeazy). Efektem tego transportu jest podwyższenie stężenia transportowanej substancji w cytoplazmie do wartości znacznie przewyższającej stężenie zewnątrzkomórkowe

TOKSYKOGENOMIKA / TOXICOGENOMICS – pomiar zmian ekspresji genów w odpowiedzi na chemiczne działanie na poziomie szeroko rozumianego genomu

UNIPOINT / UNIPOINT – ruch jonów do lub z cytozolu, napędzany bezpośrednio gradientem elektrostatycznym ☒

NOWE KSIĄŻKI

Encyclopedia of human nutrition

[Encyklopedia - Żywienia człowieka]

Caballero B., Hopkins J, University of Maryland, USA; Allen L., University of California, USA; Prentice A., London School of Tropical Medicine, UK

Wydawnictwo: Elsevier Science, 2006, ISBN 978-0-12-150110-5, stron 2000, cena 900,00 €

Zamówienia: www.foodscience.elsevier.com

Jest to drugie wydanie poprawione i uzupełnione pod względem zawartości i, jak piszą autorzy, o 20% obszerniejsze od pierwowzoru, opublikowanego w 1998. Wprowadzone zmiany w pełni odzwierciedlają postęp nauki w dziedzinie ludzkiej diety. W 4 tomach zamieszczono prawie 300 opracowań zawierających zwięzłe aktualne informacje, a unikalny system indeksu ułatwia korzystanie z książki. Obecne wydanie uzupełniono o rozdziały poświęcone: epidemiologii chorób związanych z dietą, żywności funkcjonalnej, bezpieczeństwu żywności, odżywianiu klinicznemu i zaburzeniom żołądkowo-jelitowym. Encyklopedia 'Żywienia człowieka' jest pozycją niezwykle wartościową dla czytelnika.

Advances in Food and Nutrition Research

[Aktualny postęp w badaniach nad żywnością i dietą]

Wydawnictwo: Elsevier Science, 2006, ISBN 0-12-016450-7, stron 336, cena 94,95£

Zamówienia: www.foodscience.elsevier.com

W książce wskazano na istnienie ścisłych powiązań między dietą i naukami o żywieniu, poprzez publikację przedmiotowych i przekrojowych opracowań podkreślających istnienie takich powiązań. Informują one o odkryciach naukowych w dziedzinach nauk żywieniowych i dietetyki, dostarczając dietetykom i specjalistom ds. żywienia

zatrudnionym w ośrodkach akademickich i w przemyśle aktualnych informacji o bieżących badaniach i odkryciach w tych ważnych dziedzinach.

Flavour Science

Recent Advances and Trends Developments in Food Science

[Nauka o aromatach. Najnowsze postępy i tendencje rozwojowe w naukach żywieniowych]

Wydawnictwo: Elsevier Science, 2006, ISBN 0-444-52742-7, stron 662, cena 95,00 £
Zamówienia: www.foodscience.elsevier.com

W publikacji podsumowano wyniki najnowszych osiągnięć w dziedzinie aromatów w żywności. Podkreślono nowoczesne podejścia do produkcji aromatów przy zastosowaniu biotechnologii, enzymów i technologii genowej. Zawarto także szczegółowe omówienie procesów fizjologicznych zachodzących w organizmie człowieka związanych z uwalnianiem aromatów zawartych w żywności.

Biotechnologia molekularna

Jerzy Buchowicz

Wydawnictwo: Wyd. Nauk. PWN, ISBN 83-01-14822-5, stron 152, cena 25,90 zł;
Warszawa 2006

Autor w sposób systematyczny i zwięzły opisuje historię powstania nowoczesnej biotechnologii jako pochodnej postępu poznawczego w dziedzinie biologii molekularnej, a także przytacza różnorodne przykłady współczesnych osiągnięć tej dziedziny nauki, techniki i perspektywy dalszego rozwoju. Głównym celem podręcznika jest popularyzacja dokonań i możliwości inżynierii genetycznej. Autor nie unika także wątków kontrowersyjnych, a nawet wrażliwych, jak sprawa genetycznie zmodyfikowanej żywności lub wykorzystanie ludzkich komórek macierzystych w terapii transplantacyjnej. Zwięzłość opracowania wynika z pomijania zagadnień o wąsko specjalistycznym znaczeniu i skupieniu się na molekularnych aspektach transformacji genetycznej – wspólnego mianownika nowoczesnej biotechnologii drobnoustrojów, roślin i zwierząt.

Książka przeznaczona jest dla studentów wydziałów biologii (biochemia, inżynieria genetyczna, biologia molekularna), biotechnologii; wydziałów rolniczych, ogrodniczych, technologii żywności akademii rolniczych; wydziałów lekarskich akademii medycznych; wydziałów chemicznych wszystkich uczelni; młodych naukowców, nauczycieli i uczniów szkół średnich oraz dziennikarzy zajmujących się popularyzacją nauki.

Bromatologia. Zarys nauki o żywności i żywieniu

Gertig H., Przysławski J.

Wydawnictwo: Wyd. Lek. PZWL, ISBN 83-200-3240-7, stron 468, cena 93 zł. Warszawa 2006

Jest to nowoczesny, przejrzysty podręcznik akademicki, w którym omówiono podstawowe składniki odżywcze, witaminy i składniki mineralne oraz ich przemiany w organizmie. Przedstawiono też główne grupy produktów żywnościowych, ich wartość odżywczą, występowanie i pożądaną wielkość spożycia. Cenne jest uwzględnienie problemu interakcji witamin z lekami. Szczególną uwagę zwrócono na racjonalny sposób odżywiania się różnych grup ludności, metody oceny sposobu żywienia i stanu odżywienia oraz rolę dietetyki w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. Jeden z rozdziałów poświęcono różnym rodzajom współcześnie stosowanych diet oraz alternatywnym sposobom żywienia. Książka jest przeznaczona dla studentów wydziałów farmaceutycznych oraz nauki o zdrowiu akademii medycznych, a także innych uczelni (np. uczelni rolniczych), które w swych programach nauczania uwzględniają naukę o żywności i żywieniu

Biostatystyka – wykorzystanie metod statystycznych w pracy badawczej

Watała C.

Wydawnictwo: Alfa Medica Press, ISBN 83-88778-24-2, stron 423, cena 64,00 zł, Warszawa 2006

Publikacja przeznaczona jest dla pracowników naukowych wydziałów przyrodniczych, medycznych i rolniczych, a także studentów. Niewłaściwie dobrane lub zastosowane metody analizy statystycznej wyników badania naukowego mogą prowadzić do budowania nieprawdziwych wniosków płynących z takiej analizy. Niniejsze opracowanie skierowane jest do każdego, kto zajmuje się pracą naukową i w związku z tym ma do czynienia ze statystyczną analizą wyników badań. Zostało ono pomyślane jako wstępne ukierunkowanie i zainteresowanie badacza określonymi procedurami analizy statystycznej, które są powszechnie stosowane przy opracowaniach danych w naukach przyrodniczych, biomedycznych czy farmaceutycznych. Książka składa się z dwóch części, obejmujących wprowadzenie teoretyczne oraz przykłady i zadania. Jest ona zbiorem użytecznych wskazówek, uwag i sugestii na temat tego, jakimi przesłankami należy się kierować przy wyborze właściwych metod analizy statystycznej, czego unikać, jak przeprowadzić analizę danych w taki sposób, aby ilość uzyskanej informacji była jak największa oraz jakie niepoprawne wybory mogą prowadzić do przekłamania wniosków płynących z opracowania danych doświadczalnych. Dobór omawianych

metod oraz przykładów ich wykorzystania w praktyce badawczej jest subiektywnym wyborem autora.

The Food Industry in Europe. Tradition and Innovation

[Przemysł spożywczy w Europie. Tradycja i innowacje]

Tadeusz Sikora, Anna Strada (red.)

Wyd. AE w Krakowie, ISBN 83-922067-7-0, stron 300, cena 50 zł, Kraków 2006.

Zamówienie: mail: etsikora@cyf-kr.edu.pl

Książka jest pokłosiem Międzynarodowej Szkoły Letniej, która odbyła się w AE w Krakowie w lipcu 2006 r. W Szkole brali udział m.in. pracownicy Uniwersytetu Rolniczego w Atenach, Uniwersytetu w Bolonii, Uniwersytetu w Getyndze, Politechniki w Madrycie i AE w Krakowie. Wiodącym tematem było opracowywanie nowych produktów żywnościowych, względnie przedstawienie wyrobów tradycyjnych w ujęciu innowacyjnym.

Głównym celem Szkoły był przegląd innowacyjności w sektorze żywnościowym, począwszy od oferowania typowych produktów mających nowe cechy jakościowe, jak również projektowania i wprowadzania na rynek nowych produktów żywnościowych, co jest treścią książki.

Opracował: *Stanisław Popek*

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 16 Nr 4

grudzień 2006

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 20 listopada br., w Warszawie, odbyło się zebranie Zarządu Głównego PTTŻ, ostatnie w tej kadencji, na którym omówiono m.in. harmonogram Walnego Zebrania Delegatów Towarzystwa.

W dniu 21 listopada br., w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie odbyło się Walne Zebranie Delegatów PTTŻ. Delegaci udzielili absolutorium ustępującym władzom Towarzystwa. Prezesem VII Kadencji została wybrana prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska.

Uczestnicy Walnego Zebrania Delegatów wybrali ZG VII Kadencji. Bezpośrednio po Walnym Zebraniu Delegatów odbyło się pierwsze Zebranie ZG VII Kadencji, na którym dokonano wyboru **Prezydium**:

Prezes: prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska (SGGW), viceprezesi: prof. dr hab. Janusz Czapski (AR Poznań), prof. dr hab. Krzysztof Krygier (SGGW), sekretarz: dr inż. Stanisław Kalisz (SGGW), z-ca sekretarza: dr hab. Grażyna Jaworska (AR Kraków), skarbnik: dr inż. Małgorzata Wroniak (SGGW), z-ca skarbnika: prof. dr hab. inż. Piotr Przybyłowski (AM Gdynia).

Członkowie ZG: prof. dr hab. Barbara Baraniak (AR Lublin), prof. dr hab. Zygmunt Gil (AR Wrocław), dr hab. Grażyna Lewandowicz (AR Poznań), dr hab. inż. Katarzyna Majewska (UWM Olsztyn), dr inż. Katarzyna Marciniak-Lukasiak (SGGW), prof. dr hab. Stanisław Mleko (AR Lublin), prof. dr hab. Tadeusz Sikora (AE Kraków), prof. dr hab. Krzysztof Surówka (AR Kraków), prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert (SGGW).

Główna Komisja Rewizyjna w składzie: prof. dr hab. Henryk Kostyra (IRZiBŻ-PAN Olsztyn) – przewodniczący; członkowie: prof. dr hab. Piotr J. Bykowski (MIR Gdynia), prof. dr hab. Andrzej Lenart (SGGW), dr inż. Dorota Nowak (SGGW), prof. dr hab. Edward Pospiech (AR Poznań).

Sąd Koleżeński wybrany w składzie: prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kałucka (AR Poznań) – przewodnicząca; członkowie: dr inż. Piotr Gębczyński (AR Kraków), prof. dr hab. inż.

Tomasz Miśkiewicz (AE Wrocław), dr inż. Michał Olkiewicz (Instytut Przem. Mięś. i Tłuszcz. Warszawa), dr hab. Piotr Konieczny (AR Poznań), dr inż. Ewa Szukalska (AM Gdynia).

Dokonano wyboru nowych **Członów Honorowych Towarzystwa:**

Prof. dr hab. dr h c Adolf Horubała,

Prof. dr hab. Piotr P. Lewicki,

Prof. dr hab. Tadeusz Sikora.

Sekcja Analizy i Oceny Żywności

W dniu 17 listopada br. odbyła się VI Sesja Przeglądowa Analityki Żywności zorganizowana przez Sekcję Analizy i Oceny Żywności PTTŻ i Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego. Przewodniczącą Komitetu Organizacyjnego była doc. dr hab. Renata Jędrzejczak.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYNARODOWE I KRAJOWE KONFERENCJE I KONGRESY NAUKOWE W 2007 r.

Styczeń

29 – 30 POZNAŃ = NATURALNE PRZECIWUTLENIACZE: OD SUROWCA DO ORGANIZMU

Organizatorzy: Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu AR w Poznaniu, Oddział Wielkopolski PTTŻ, Centrum Doskonałości Biotechnologia Żywności w Poznaniu.

Kontakt: e-mail: konf.antyoskydanty@au.poznan.pl

Maj

23 – 24 LUBLIN = JAKOŚĆ I PROZDROWOTNE CECHY ŻYWNOSTI - XII Sesja Naukowa Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Akademia Rolnicza w Lublinie

Czerwiec

13 – 15 WROCLAW = III Międzynarodowa Konferencja Naukowa QUALITY AND SAFETY IN PRODUCTION CHAIN NT. - JAKOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO ZDROWOTNE W ŁAŃCUCHU ŻYWNOSTI

Organizatorzy: Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu i Oddział Wrocławski PTTŻ

e-mail: ktsz@wnoz.ar.wroc.pl

21 – 22 KRAKÓW = VIII Konferencja Naukowa z cyklu: ŻYWNOSTĆ XXI WIEKU nt. ŻYWNOSTĆ A CHOROBY CYWILIZACYJNE

Organizator: Oddział Małopolski PTTŻ, Wydział Technologii Żywności AR

e-mail: ewesierska@ar.karkow.pl

Wrzesień

09 – 12 POZNAŃ = III Krajowy Kongres Biotechnologii

Organizatorzy: Komitet Biotechnologii przy Prezydium PAN oraz poznańskie środowisko naukowe

e-mail: Kongresbiotech@au.poznan.pl

21 – 22 OLSZTYN = XXXVIII SESJA NAUKOWA KNoŻ PAN

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA
TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, RAISIO POLSKA FOODS Sp. z o.o. Karczew, FRITO – LAY POLAND Sp. z o.o. Grodzisk Mazowiecki, HORTIMEX Sp. z o.o. Konin.**

Przy Oddziale Łódzkim: **POLFARMEX S.A.**

Przy Oddziale Małopolskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO BIELMAR Sp. z o.o., Bielsko-Biała.**

Przy Oddziale Szczecińskim: **TECHNEX Sp. z o.o., Szczecin.**

Przy Oddziale Warszawskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO S.A., WARSZAWA.**

Przy Oddziale Wielkopolskim: **PRZEDSIĘBIORSTWO PRZEMYSŁU FERMENTACYJNEGO „AKWAWIT” S.A., Leszno, HORTIMEX Sp. z o.o., Konin, SŁAWSKI ZAKŁAD PRZETWÓRSTWA MIĘSA I DROBIU s.c. „BALCERZAK I SPÓŁKA”, Wróblów k. Sławy, POZMET S.A., Poznań.**

Przy Oddziale Wrocławskim: **REGIS Wieliczka.**

Materiał zawarty w Nr 4/2006 Biuletynu podano według stanu informacji do dnia 10 grudnia 2006 r.

Opracowanie: Antoni Rutkowski.

Materiały do Nr 1/2007 prosimy nadsyłać do dnia 1 marca 2007 r. na adres Redakcji Czasopisma.

KOMUNIKAT

1. Informujemy P.T. Autorów, że aktualne *Informacje dla Autorów oraz wymagania redakcyjne* publikujemy na stronie **www.pttz.org**

2. Informacji dotyczących punktacji czasopism specjalistycznych należy szukać na stronie **www.mnisw.gov.pl**

Po otwarciu tej strony trzeba kliknąć na ikonkę „Na skróty”, następnie wejść na „Listę czasopism”, po czym otworzyć „Zbiorczą listę czasopism”. Na str. 134 znajduje się informacja: „W przypadku czasopism lub wydawnictw niewymienionych imiennie na obecnej liście czasopism, zaś objętych listą punktową obowiązującą w latach 2001–2004, liczba punktów nie może być mniejsza niż dotychczasowa”.

Kwartalnik **Żywność**, jak większość czasopism z dziedziny nauk o żywności i żywieniu, z nieznanymi nam przyczynami nie znalazł się na „Zbiorczej liście czasopism”, wobec czego zacytowana uwaga odnosi się także do niego. W celu potwierdzenia liczby 4 punktów za publikację naukową umieszczoną w naszym czasopiśmie trzeba wrócić na stronę „Lista czasopism”, następnie otworzyć „Listę czasopism punktowanych byłych zespołów KBN” i w Zespole Nauk Rolniczych i Leśnych (P-06) odszukać poz. 170. W tej pozycji umieszczony jest kwartalnik **Żywność**, który ma nadaną kategorię B. Według objaśnień, zamieszczonych poniżej wykazu czasopism, tej kategorii odpowiadają 4 punkty.

SPIS TREŚCI
KWARTALNIKA „ŻYWNOŚĆ”
NR 46–49

Wykaz opublikowanych materiałów

Nr 45 Suplement

Od Redakcji	3
<i>Anna Brzozowska, Wojciech Roszkowski, Barbara Pietruszka, Joanna Kałuża</i> : Witaminy i składniki mineralne jako suplementy diety	5
<i>Henryk Żegota</i> : Napromieniowanie żywności w aspekcie technologicznym, prawnym i wdrożeniowym	17
<i>Zdzisław Targoński, Anna Stój</i> : Zafałszowania żywności i metody ich wykrywania.....	30
<i>Dorota Gumul, Jarosław Korus, Bohdan Achremowicz</i> : Wpływ procesów przetwórczych na aktywność przeciwutleniającą surowców pochodzenia roślinnego	41
<i>Marek Gibiński, Dorota Gumul, Jarosław Korus</i> : Prozdrowotne właściwości owsa i produktów owsianych	49
<i>Halina Gambuś</i> : Nasiona lnu oleistego (<i>Linum usitatissimum</i> L.) jako źródło składników odżywczych w chlebie bezglutenowym.....	61
<i>Agata Marzec, Małgorzata Borowiec, Piotr P. Lewicki</i> : Badanie tekstury pieczywa chrupkiego metodą emisji akustycznej.....	75
<i>Bronisław Buczek, Wojciech Chwialkowski</i> : Wpływ modyfikacji powierzchni węgla aktywnego na jego zdolność do oczyszczania zużytego oleju smażalniczego.....	85
<i>Waldemar Gustaw, Bartosz Sołowiej, Stanisław Mleko</i> : Otrzymywanie deserów mlecznych z białek serwatkowych z dodatkiem skrobi i karagenu	100
<i>Hanna Kowalska</i> : Wpływ witaminy C na przebieg odwadniania osmotycznego jabłek.....	109
<i>Hanna Kowalska, Ewa Domian, Monika Janowicz, Andrzej Lenart</i> : Wpływ aglomeracji na adsorpcję pary wodnej przez wieloskładnikową żywność w proszku.....	120
<i>Kinga Wieczorek, Jacek Osek</i> : Przydatność wybranych technik PCR w różnicowaniu termotolerancyjnych szczepów <i>Campylobacter</i>	132
<i>Mariola Friedrich, Joanna Sadowska, Anna Sawicka</i> : Wpływ suplementacji diety witaminami z grupy B na skład kwasów tłuszczowych okołonarządowej tkanki tłuszczowej i procesy ich peroksydacji u szczura	139
<i>Teresa Leszczyńska, Renata Bieżanowska-Kopeć</i> : Ocena sposobu żywienia w gospodarstwach domowych prowadzonych przez osoby z wyższym wykształceniem.....	151

<i>Teresa Leszczyńska, Joanna Kapusta, Mirosław Pysz</i> : Ocena sposobu żywienia ludności wybranych gospodarstw wiejskich.....	162
<i>Alexander Dandár, Kamil Cejpek, Dagmar Vaculčíková, Marek Skoršepa</i> : Rola edukacji dotyczącej środowiskowej ochrony zdrowia wśród obywateli Republiki Słowackiej.....	177

Nr 46

Od Redakcji	3
<i>Dominiak Szwałgier, Zdzisław Targoński</i> : Charakterystyka enzymów pochodzenia mikrobiologicznego biorących udział w degradacji arabinoksylianów i ich rola w pozyskiwaniu kwasu ferulowego z wysłodzin piwowych.....	5
<i>Alicja Stachelska</i> : Obecność mutagenów i kancerogenów w żywności oraz ich wpływ na organizm człowieka	21
<i>Małgorzata Neumann, Kamila Goderska, Katarzyna Grajek, Włodzimierz Grajek</i> : Modele przewodu pokarmowego <i>in vitro</i> do badań nad biodostępnością składników odżywczych	30
<i>Anna Olejnik, Marcin Schmidt, Katarzyna Wojnarowska, Włodzimierz Grajek</i> : Wpływ toksycznych metabolitów trawienia na proliferację i uszkodzenia DNA nabłonkowych komórek jelitowych <i>in vitro</i>	46
<i>Grażyna Cichosz, Jerzy Szpendowski, Andrzej J. Cichosz, Mariusz Kornacki</i> : Degradacja parakazeiny w serach Gouda wyprodukowanych z dodatkiem kultur <i>Lactobacillus</i>	58
<i>Grażyna Cichosz, Mariusz Kornacki, Marta Giczewska, Aneta Konopka</i> : Aktywność peptydazowa wybranych szczepów <i>Lactobacillus</i>	66
<i>Paweł Glibowski, Anna Krepacka</i> : Wpływ dodatku preparatów serwatki na właściwości reologiczne jogurtów	74
<i>Jolanta Kowalska, Andrzej Lenart, Justyna Dobrowolska</i> : Wpływ czasu przechowywania na właściwości fizyczne i stabilność kakao z dodatkiem kwasu L-askorbinowego	83
<i>Maria Balcerek, Józef S. Szopa</i> : Zawartość karbaminianu etylu w destylatach owocowych	91
<i>Mirosław Pysz, Paweł M. Pisulewski, Teresa Leszczyńska</i> : Wpływ oddziaływania impulsowego i ciągłego pola mikrofalowego na wartość żywnościową i właściwości przeciwutleniające kiełkowanych nasion soi.....	102
<i>Aleksandra Szydłowska, Ewa Czarniecka-Skubina</i> : Wpływ sposobu gotowania i przechowywania po ugotowaniu na temperaturę, wydajność i jakość sensoryczną brokułów	117
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie krajowym	133
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Dagmara Mierzejewska</i> : Współczesny leksykon wiedzy o żywności	136
<i>Stanisław Poppek</i> : Nowe książki	138
<i>Bogusław Król, Maciej Wachowicz</i> : Wspomnienie w 100-lecie urodzin – prof. dr Stanisław Zagrodzki (1906–1980).....	143
Technolog Żywności.....	149

Nr 46 Suplement

Od Redakcji	5
<i>Dorota Witrowa-Rajchert i Dorota Nowak</i> : V Jubileuszowa Konferencja Naukowa Oddziału Warszawskiego” Jakość i bezpieczeństwo żywności – uwarunkowania surowcowe, technologiczno-produkcyjne i prawne”	7

<i>Danuta Białasiewicz, Danuta Majczyna, Joanna Królasik: Ocena mikrobiologiczna produktów wegetariańskich</i>	11
<i>Ewa Czarniecka-Skubina: Jakość usługi gastronomicznej w aspekcie żywieniowym, technologicznym i higienicznym</i>	25
<i>Renata Korzeniowska-Ginter: Wpływ jakości mąki tortowej na cechy biszkoptu</i>	35
<i>Hanna Kowalska, Magdalena Wyrozębska: Wpływ jonów wapnia na właściwości sensoryczne marchwi odwadnianej osmotycznie</i>	44
<i>Dorota Kregiel: Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza hali technologicznej a jakość produkowanych opakowań</i>	52
<i>Małgorzata Kulczak, Marian Remiszewski, Eugeniusz Korbas, Maria Jeżewska, Danuta Czajkowska: Ocena jakości kolendry mielonej poddanej procesowi dekontaminacji z zastosowaniem pary wodnej i jej trwałość przechowalnicza</i>	59
<i>Agata Marzec, Piotr P. Lewicki, Ewa Jakubczyk: Badanie jakości krakersów metodą emisji akustycznej</i>	67
<i>Agnieszka Nowak: Jakość mikrobiologiczna sera tofu pakowanego próżniowo</i>	73
<i>Elżbieta Oltuszek-Walczak: Jakość mikrobiologiczna wybranych produktów garmażeryjnych</i>	80
<i>Marta Pasławska: Zmiany barwy suszonych borówek i malin zachodzące podczas przechowywania</i>	86
<i>Marta Pasławska, Anna Pelka: Właściwości rekonstrukcyjne i barwa suszu truskawkowego</i>	93
<i>Katarzyna Piasecka-Jóźwiak, Beata Chabłowska, Elżbieta Słowik, Joanna Rozmierska, Krystyna M. Stecka: Zastosowanie kultur starterowych (wyselekcjonowanych szczepów bakterii mlekowych) do poprawy jakości pieczywa mieszanego i żytniego</i>	100
<i>Beata Pyryt, Halina Kolenda: Wpływ odmiany ziemniaków i sposobu ich obróbki kulinarnej na zawartość kadmu i ołowiu w bulwach po ugotowaniu</i>	114
<i>Ewa Rembiałkowska, Ewelina Hallmann, Monika Adamczyk, Janusz Lipowski, Urszula Jasińska, Lubomila Owczarek: Wpływ procesów technologicznych na zawartość polifenoli ogółem oraz na potencjał przeciwutleniający przetworów (soku i kremogenu) uzyskanych z jabłek pochodzących z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej</i>	121
<i>Marian Remiszewski, Krzysztof Przygoński, Małgorzata Kulczak, Maria Jeżewska: Optymalizacja układu ekstrakcyjnego i ocena właściwości przeciwutleniających nasion wybranych roślin strączkowych</i>	127
<i>Jarosława Rutkowska, Danuta Jaworska: Stabilność przeciwutleniająca i jakość sensoryczna jako kryteria przydatności olejów rafinowanych do smażenia</i>	136
<i>Iwona Sitkiewicz, Sylwia Denoch: Właściwości reologiczne oraz retrogradacja wybranych skrobi modyfikowanych kukurydzy woskowej</i>	143
<i>Sylwia Skąpska, Bogdan Sieliwanowicz, Urszula Jasińska, Lubomila Owczarek, Janusz Lipowski, Maria Trzcńska, Aurelia Hałasińska: Zmiany zawartości naturalnych przeciwutleniaczy oraz pojemności przeciwutleniającej zachodzące w surowcu w trakcie procesu otrzymywania soku zagęszczonego z jabłek</i>	152
<i>Izabela Steinka: Ocena przydatności wielomianów w prognozowaniu jakości hermetycznie pakowanych serów twarogowych</i>	161
<i>Izabela Steinka, Anita Kukułowicz: Wpływ warunków zamrażalniczego przechowywania na mikroflorę miazgi aloesowej</i>	173
<i>Katarzyna Świąder, Bożena Waszkiewicz-Robak: Intensywność słodczy wybranych substancji słodzących</i>	183
<i>Franciszek Świdorski, Bożena Waszkiewicz-Robak, Mieczysław Obiedziński, Dorota Matias: Jakość rynkowych wyrobów cukierniczych z dużym udziałem tłuszczu</i>	192
<i>Joanna Trafiałek, Danuta Kolożyn-Krajewska: Implementacja systemu HACCP w małych zakładach produkujących żywność – wyniki badań prowadzonych w Polsce przed i po akcesji do Unii Europejskiej</i>	201

<i>Małgorzata Wroniak, Daniela Łukasik, Magdalena Maszewska</i> : Porównanie stabilności oksydacyjnej wybranych olejów tłoczonych na zimno z olejami rafinowanymi.....	214
<i>Kazimiera Zgórska, Zbigniew Czerko, Magdalena Grudzińska</i> : Wpływ ekspozycji świetlnej na zielenienie, akumulację chlorofilu i glikoalkaloidów w bulwach ziemniaka.....	222
<i>Kazimiera Zgórska, Zbigniew Czerko, Małgorzata Grudzińska</i> : Wpływ wybranych czynników na zawartość glikoalkaloidów w bulwach ziemniaka.....	229
<i>Anna Zielińska, Janusz Czapski</i> : Wpływ okresowego podwyższenia temperatury w czasie przechowywania na jakość mikrobiologiczną marchwi o małym stopniu przetworzenia.....	235
<i>Anna Żbikowska, Paweł Krokocki, Krzysztof Krygier</i> : Ocena przydatności tłuszczów piekarskich o obniżonej zawartości izomerów trans kwasów tłuszczowych do produkcji ciast biszkoptowo-tłuszczowych.....	246

Nr 47

Od Redakcji.....	3
<i>Stanisław Tyszkiewicz</i> : W poszukiwaniu jednoznacznej definicji mięsa cielecego oraz wyróżników przydatnych w ocenie jego jakości.....	5
<i>Barbara Stachowiak, Zbigniew Czarnecki</i> : Drożdże <i>Phaffia rhodozyma</i> jako potencjalne źródło naturalnej astaksantyny.....	17
<i>Barbara M. Baraniak, Urszula Szymanowska</i> : Lipooksygenaza w żywności pochodzenia roślinnego.....	29
<i>Małgorzata Wroniak, Monika Kwiatkowska, Krzysztof Krygier</i> : Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno.....	46
<i>Arnold Reys, Maria Wachowska, Krystyna Wiśniewska</i> : Wpływ wysokich ciśnień na proces dojrzewania sera typu holenderskiego.....	59
<i>Sławomir Pietrzyk, Teresa Fortuna, Magdalena Sowa</i> : Wpływ katalizatorów na efektywność procesu utleniania skrobi i jej właściwości fizykochemiczne.....	69
<i>Renata Bieżanowska-Kopeć, Magdalena Franczyk, Paweł M. Pisulewski, Szymon Polaszczyk</i> : Wpływ fermentacji przez <i>Rhizopus microsporus</i> , <i>Oligosporus sp.</i> T3 oraz kiełkowania na zmiany zawartości składników nasion fasoli (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	82
<i>Renata Bieżanowska-Kopeć, Paweł M. Pisulewski, Szymon Polaszczyk</i> : Wpływ procesów wodno-ciepłych na zawartość składników biologicznie czynnych w nasionach fasoli (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	93
<i>Jarosław Korus, Dorota Gumul, Marek Gibiński</i> : Wpływ ekstruzji na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą nasion fasoli zwyczajnej (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	102
<i>Agnieszka Wójtowicz, Paulina Baltyn</i> : Ocena wybranych cech jakościowych popularnych przekąsek ziemniaczanych.....	112
<i>Zofia Karolini-Skaradzińska, Hanna Subda, Anna Czubaszek</i> : Wpływ dodatku mąki jęczmiennej na właściwości ciasta i pieczywa uzyskanego z mąki pszenic jarych i ozimych.....	124
<i>Marek Nowak, Tadeusz Trziszka</i> : Preferencje konsumentów żywności wygodnej z mięsa drobiowego.....	133
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie krajowym.....	142
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Dagmara Mierzejewska</i> : Współczesny leksykon wiedzy o żywności.....	147
<i>Stanisław Popok</i> : Nowe książki.....	149
Technolog Żywności.....	154

Nr 47 Suplement

Od Redakcji	5
<i>Katarzyna Marciniak-Łukasiak, Stanisław Kalisz: XI Sesja Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ „Jakość i prozdrowotne cechy żywności”</i>	9
<i>Monika Adamczyk, Ewa Rembialkowska, 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 Kmiecik: 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: Fizyczna stabilność emulsji niskotłuszczowej w zależności od zastosowanych hydrokoloidów</i>	143
<i>Joanna Kraszewska, Wiesław Wzorek, Iwona Wojtasik: Wpływ warunków hodowli szczepów z gatunku <i>Lactobacillus plantarum</i> na ich aktywność antagonistyczną</i>	153
<i>Ewelina Król, Halina Staniek, Alina Przybylska, Zbigniew Krejpcio, Danuta Olejnik: Charakterystyka wybranych aspektów sposobu żywienia pacjentów z chorobami układu krążenia na podstawie preferencji pokarmowych</i>	158
<i>Tomasz Krupa, Kazimierz Tomala: Wpływ warunków przechowywania na zawartość antocyjanów i aktywność przeciwutleniającą jagód borówki wysokiej</i>	167
<i>Maciej Kuligowski, Jacek Nowak: Aktywność antybakteryjna izolatów z podłoża pochodowlanych <i>Rhizopus oligosporus</i></i>	178
<i>Ewa Majewska, Ewa Białecka-Florjańczyk, Kinga Sułowska: Drożdże piekarskie jako biokatalizator reakcji hydrolizy estrów</i>	186

<i>Katarzyna Maksimowicz, Kinga Grodzka, Krzysztof Krygier: Ocena wpływu dodatku celulozy mikrokrystalicznej jako stabilizatora do owocowych lodów wodnych</i>	194
<i>Katarzyna Marciniak-Łukasiak, Anna Żbikowska, Krzysztof Krygier: Wpływ stosowania azotu na stabilność Oksydacyjną mieszanin oleju rzepakowego z olejem lnianym</i>	202
<i>Lidia Markiewicz, Elżbieta Biedrzycka, Maria Bielecka: Różnicowanie mleczarskich szczepów <i>Lactobacillus</i> metodą PFGE</i>	212
<i>Agata Marzec, Ewa Gondek: Zależności pomiędzy wybranymi wyróżnikami tekstury krakersów oznaczonymi instrumentalnie i sensorycznie</i>	219
<i>Magdalena Michalczyk, Kamila Nowaczek: Jakość mikrobiologiczna warzyw mało przetworzonych sprzedawanych w sklepach Małopolski</i>	227
<i>Joanna Nowczas, Małgorzata Kamionowska, Marta Mitek: Zawartość azotanów (III) i (V) w owocach nowych odmian dyni olbrzymiej (<i>Cucurbita maxima</i>)</i>	234
<i>Katarzyna Olborska, Piotr P. Lewicki: Organizacja procesu pakowania produktów mleczarskich i jej wpływ na stan mikrobiologiczny powietrza w hali produkcyjnej</i>	242
<i>Antoni Pluta, Anna Berthold, Jarosław Kielak: Zmiany wybranych cech chemicznych, reologicznych i sensorycznych w czasie dojrzewania sera typu holenderskiego o różnej zawartości tłuszczu</i>	251
<i>Katarzyna Ratusz, Magdalena Wirkowska: Skuteczność działania preparatu przeciwutleniającego na rafinowane oleje roślinne i ich matryce triacyloglicerolowe</i>	258
<i>Millena Ruskowska, Aneta Ociecek, Piotr Palich: Właściwości sorpcyjne grzanek zawartych w zupach instandyzowanych</i>	267
<i>Małgorzata Rząca, Dorota Witrowa-Rajchert: Aktywność przeciwoxidacyjna związków fenolowych zawartych w suszu jabłkowym</i>	276
<i>Katarzyna Sadowska: Owoce ostropestu plamistego jako prozdrowotny dodatek do pieczywa</i>	286
<i>Urszula Samotcja, Maria Malecka, Anna Chmielnik: Ocena zmian oksydacyjnych w prażynkach ziemniaczanych z wykorzystaniem techniki headspace</i>	293
<i>Magdalena Skotnicka: Matematyczny model wpływu temperatury przechowywania na zmiany reologiczne mrożonych ciast drożdżowych</i>	301
<i>Małgorzata Sobczyk: Wpływ mrożenia międzyproduktów piekarskich na jakość gotowego wyrobu</i>	310
<i>Bartosz Sołowiej, Waldemar Gustaw, Paweł Glibowski, Dominik Szwałgier, Tomasz Czernecki: Właściwości reologiczne oraz struktura polimerów izolatu białek serwatkowych</i>	321
<i>Ewa Sosińska, Rafał Wołosiak: Aktywność przeciwutleniająca koenzymu Q₁₀, fitosteroli oraz glutationu w reakcji autooksydacji emulsji tłuszczu roślinnego</i>	331
<i>Halina Staniek, Ewelina Król, Zbigniew Krejpcio: Ocena zawartości żelaza, cynku i miedzi w całodziennych racjach pokarmowych wybranych grup ludności</i>	340
<i>Karolina Stempińska, Maria Soral-Śmietana: Składniki chemiczne i ocena fizykochemiczna ziarniaków gryki – porównanie trzech polskich odmian</i>	346
<i>Magdalena Wirkowska, Joanna Bryś, Katarzyna Ratusz, Bolesław Kowalski: Stabilność przeciwutleniająca lipidów kukurydzy</i>	356
<i>Małgorzata Wroniak, Joanna Ramotowska, Monika Matuszewska, Mieczysław Obiedziński: Możliwości zastosowania oznaczania izomerów trans kwasów tłuszczowych i 3,5-stigmastadienu do badania autentyczności olejów tłoczonych na zimno</i>	363
<i>Anna Żbikowska, Katarzyna Marciniak-Łukasiak, Krzysztof Krygier: Wpływ zawartości izomerów trans w tłuszczach na jakość ciastek francuskich z mąką o różnej wartości technologicznej</i>	372
<i>Monika Kępińska: Analiza epidemiologiczna zatruc pokarmowych w Polsce w porównaniu z danymi Unii Europejskiej</i>	380

Nr 48

Od Redakcji	3
<i>Sylwia Bonin</i> : Zastosowanie mikroorganizmów immobilizowanych w winiarstwie.....	5
<i>Mirosław M. Michalski</i> : Biotoksyny morskie – występowanie i metody analizy.....	16
<i>Marian Remiszewski, Małgorzata Kulczak, Maria Jeżewska, Eugeniusz Korbas, Danuta Czajkowska</i> : Wpływ procesu dekontaminacji z zastosowaniem pary wodnej na jakość wybranych przypraw	23
<i>Agnieszka Zembold, Józef Błażewicz</i> : Ziarno jęczmienia nagiego i oplewionego jako surowiec niesłodowany w piwowarstwie	35
<i>Renata Bieżanowska-Kopeć, Paweł M. Pisulewski</i> : Wpływ procesów termicznych i biologicznych na pojemność przeciwutleniającą nasion fasoli (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	51
<i>Piotr Gębczyński</i> : Porównanie jakości mrożonek z selera otrzymanych sposobem tradycyjnym i zmodyfikowanym	65
<i>Jarmila Lehkožiová, Jolana Karovičová, Zlatica Kohajdová, Milan Suhaj, Ivana Šimonová</i> : Izotachoforetyczne oznaczanie sztucznych środków słodzących oraz ocena zmian intensywności smaku słodkiego w napojach bezalkoholowych	76
<i>Leszek Gajowiecki, Marek Kotowicz, Kazimierz Lachowicz, Waldemar Dąbrowski, Anna Koronkiewicz,</i> <i>Joanna Żochowska-Kujawska, Małgorzata Sobczak, Arkadiusz Żych</i> : Zastosowanie mleczanów do produkcji wyrobów drobiowych niezawierających dodatku azotanu(III) sodu	86
<i>Krzysztof Kwiatek, Rafał Zasadny</i> : Ocena żywek stosowanych w wykrywaniu obecności oraz oznaczeniu liczby <i>Campylobacter</i> spp. w mięsie drobiowym	100
<i>Tadeusz Trziszka, Marek Nowak, Małgorzata Kaźmierska</i> : Preferencje konsumentów jaj na rynku wrocławskim	107
<i>Wiesław Łukasinski</i> : Rynek mleka i jego przetworów w Polsce w latach 1989–2005	118
<i>Grażyna Morkis</i> : Stopień wdrożenia GHP, GMP i HACCP w przemyśle spożywczym.....	129
<i>Grażyna Morkis, Wioletta Karaś</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	146
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Dagmara Mierzejewska</i> : Współczesny leksykon wiedzy o żywności	153
<i>Stanisław Poppek</i> : Nowe książki	155
<i>Zbigniew Duda</i> : Recenzja książki: „Zwierzęta rzeźne i mięso – ocena i higiena”	160
Technolog Żywności.....	166

Nr 49

Od Redakcji	3
<i>Teresa Fortuna, Dorota Gałkowska</i> : Wpływ dodatku sacharydów na właściwości reologiczne skrobi modyfikowanych	5
<i>Ewa Zdybel</i> : Właściwości preparatów skrobi ziemniaczanej poddanej modyfikacjom chemicznym i prażeniu	18
<i>Katarzyna Samborska</i> : Wpływ dodatków stabilizujących na kinetykę inaktywacji cieplnej α -amylazy z <i>Aspergillus oryzae</i>	32
<i>Michał Wolniak, Stanisław Kalisz</i> : Wpływ pektyn niskometylowanych na zawartość antocyjanów i polifenoli ogółem oraz ich aktywność przeciwrodnikową oznaczoną EPR w sokach truskawkowych ...	39
<i>Katarzyna Skupień, Barbara Wójcik-Stopeczyńska</i> : Ocena jakości przecierów z truskawek odmiany Kent.....	47

<i>Agnieszka Szajdek, Ewa Dąbkowska, Eulalia J. Borowska</i> : Wpływ obróbki enzymatycznej miazgi owoców jagodowych na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą soku	59
<i>Iwona Ścibisz, Marta Mitek</i> : Aktywność przeciwutleniająca i zawartość związków fenolowych w suszach z owoców borówki wysokiej (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.)	68
<i>Elżbieta Dłużewska, Arkadiusz Szterk</i> : Wpływ wybranych przeciwutleniaczy na stabilność barwy napojów bezalkoholowych z dodatkiem β -karotenu	77
<i>Dariusz Kowalczyk, Małgorzata Stryjecka, Barbara Baraniak</i> : Porównanie wpływu acetylacji na właściwości funkcjonalne hydrolizatów białkowych otrzymanych z nasion roślin strączkowych	90
<i>Katarzyna Kycia, Małgorzata Ziarno</i> : Wzrost i przeżywalność bakterii jogurtowych w retentatach UF mleka	100
<i>Małgorzata Ziarno, Sławomir Więclawski</i> : Wpływ dodatku mleczanu wapnia na rozwój bakterii fermentacji mlekowej w bulionie MRS i w mleku	110
<i>Dorota Zielińska</i> : Badania nad przeżywalnością bakterii <i>Lactobacillus casei</i> KN291 w napoju sojowym	120
<i>Karolina Poszytek, Andrzej Lenart</i> : Właściwości sorpcyjne modelowych odżywek sproszkowanych	128
<i>Elwira Worobiej, Rafał Wołosiak, Marta Chwalisz</i> : Właściwości białek preparatów części białkowej jaja w procesie utlenienia	136
<i>Jerzy A. Balejko</i> : Badanie metodą dynamiczną zmian właściwości lepkości mięsa wywołanych ogrzewaniem	145
<i>Eliza Gruczyńska, Bolesław Kowalski, Małgorzata Kowalska, Krzysztof Śmiechowski</i> : Charakterystyka wybranych majonezów oraz wpływ temperatury i czasu przechowywania na ich stabilność	154
<i>Kamila Myszka, Katarzyna Czaczyk</i> : Rola zewnątrzkomórkowych białek w procesie adhezji <i>Proteus vulgaris</i> do powierzchni stali nierdzewnej	167
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	177
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Dagmara Mierzejewska</i> : Współczesny leksykon wiedzy o żywności	183
<i>Stanisław Popek</i> : Nowe książki	185
Technolog Żywności	189
Spis treści kwartalnika „Żywność” Nr 46–49	193
Wykaz nazwisk Autorów w 2006 roku	201
Wykaz nazwisk Recenzentów w 2006 roku	204

WYKAZ NAZWISK AUTORÓW W 2006 ROKU

- Adamczyk M. 46 Supl./121, 47 Supl./11
Balcerek M. 46/91
Balejko J.A. 49/145
Baltyn P. 47/112
Baraniak B. 49/90, 47/29
Berthold A. 47 Supl./251
Białasiewicz D. 46 Supl./11
Bialecka-Florjańczyk E. 47 Supl./186
Biedrzycka E. 47 Supl./212
Bielecka M. 47 Supl./212
Bieżanowska-Kopeć R. 47/82, 47/93, 48/51
Błażewicz J. 48/35
Bojarska J.E. 47 Supl./20
Bonin S. 48/5
Borowska J.E. 49/59
Bryś J. 47 Supl./28, 47 Supl./356
Bzducha A. 47 Supl./36
Chabowska B. 46 Supl./100
Chmielnik A. 47 Supl./293
Chwalisz M. 49/136
Cichosz A.J. 46/58
Cichosz G. 46/58, 46/66
Ciecierska M. 47 Supl./48
Ciurzyńska A. 47 Supl./56
Czacyk K. 49/167
Czajkowska D. 46 Supl./59, 48/23
Czaplicki S. 47 Supl./20
Czapski J. 46 Supl./235
Czarnecki Z. 47/17
Czarniecka-Skubina E. 46/117, 46 Supl./25
Czerko Z. 46 Supl./222, 46 Supl./229
Czernecki T. 47 Supl./321
Czubaszek A. 47/124
Dąbkowska E. 49/59
Dąbrowski W. 48/86
Denocho S. 46 Supl./143
Dłużewska E. 49/77
Dobrowolska J. 46/83
Duda Z. 48/160
Fortuna T. 47/69, 49/5
Franczyk M. 47/82
Gajowiecki L. 48/86
Gałkowska D. 49/5
Gębczyński P. 48/65
Gibiński M. 47/102
Giczewska M. 46/66
Glibowski P. 46/74, 47 SUPL./321
Goderska K. 46/30
Gondek E. 47 Supl./219
Górecka A. 47 Supl./143
Grajek K. 46/30
Grajek W. 46/30, 46/46
Grodzka K. 47 Supl./194
Gruczyńska E. 49/154
Grudzińska M. 46 Supl./222, 46 Supl./229
Grzelak K. 47 Supl./67
Gumul D. 47/102
Gustaw W. 47 Supl./321
Hallmann E. 46 Supl./121
Halasińska A. 46 Supl./152
Jakubczyk E. 46 Supl./67
Jarych-Szyska M. 47 Supl./76
Jasińska I. 47 Supl./85
Jasińska U. 46 Supl./121, 46 Supl./152
Jaworska D. 46 Supl./136
Jeżewska M. 46 Supl./59, 46 Supl./127, 48/23
Kalisz S. 47 Supl./9, 47 Supl./93, 49/39
Kamińska A. 47 Supl./101
Kamionowska M. 47 Supl./234
Karaś W. 48/146
Karolini-Skaradzińska Z. 47/124
Karovičová J. 48/76
Kaźmierska M. 48/107
Kepińska M. 47 Supl./380
Kielak J. 47 Supl./251
Kmieciak D. 47 Supl./108
Kobus J. 47 Supl./108
Kohajdová Z. 48/76
Kolenda H. 46 Supl./114
Kolodziejczyk K. 47 Supl./124
Kolodziejczyk P. 47 Supl./85
Kołozyn-Krajewska D. 46 Supl./201
Konopka A. 46/66
Kopera M. 47 Supl./116
Korbias E. 46 Supl./59, 48/23
Kornacki M. 46/58, 46/66
Koronkiewicz A. 48/86
Korus J. 47/102

- Korzeniowska-Ginter R. 46 Supl./35
Kosmala M. 47 Supl./124
Kostyra E. 46/136, 47/147, 48/153, 49/183
Kostyra H. 46/136, 47/147, 48/153, 49/183
Kotowicz M. 48/86
Kowalczyk D. 49/90
Kowalska H. 46 Supl./44, 47 Supl./135
Kowalska J. 46/83
Kowalska M. 47 Supl./143, 49/154
Kowalski B. 47 Supl./28, 47 Supl./356, 49/154
Kraszewska J. 47 Supl./153
Krejpcio Z. 47 Supl./158, 47 Supl./340
Kregiel D. 46 Supl./52
Krepacka A. 46/74
Krokocki P. 46 Supl./246
Król B. 46/143
Król E. 47 Supl./158, 47 Supl./340
Królasik J. 46 Supl./11
Krupa T. 47 Supl./167
Krygier K. 46 Supl./246, 47 Supl./143, 47
Supl./194, 47 Supl./202, 47 Supl./372,
47/46
Kukulowicz A. 46 Supl./173
Kulczak M. 46 Supl./59, 46 Supl./127, 48/23
Kuligowski M. 47 Supl./178
Kwiatek K. 48/100
Kwiatkowska M. 47/46
Kycia K. 49/100
Lachowicz K. 48/86
Lehkoživová J. 48/76
Lenart A. 46/83, 47 SUPL./56, 49/128
Leszczyńska T. 46/102
Lewicki P.P. 46 Supl./67, 47 Supl./101, 47
Supl./242
Lipowski J. 46 Supl./121, 46 Supl./152
Łukasik D. 46 Supl./214
Łukasiński W. 48/118
Majczyna D. 46 Supl./11
Majewska E. 47 Supl./186
Maksimowicz K. 47 Supl./194
Małecka M. 47 Supl./293
Marciniak-Łukasiak K. 47 Supl./9, 47 Supl./202,
47 Supl./372
Markiewicz L. 47 Supl./212
Marzec A. 46 Supl./67, 47 Supl./219
Maszewska M. 46 Supl./214
Matias D. 46 Supl./192
Matuszewska M. 47 Supl./363
Michalczyk M. 47 Supl./227
Michalski M.M. 48/16
Michniewicz J. 47 Supl./85
Mierzejewska D. 46/136, 47/147, 48/153,
49/183
Mitek M. 47 Supl./116, 47 Supl./234, 49/68
Morkis G. 46/133, 47/142, 48/129, 48/146,
49/177
Myszka K. 49/167
Neumann M. 46/30
Niewczas J. 47 Supl./234
Nowaczek K. 47 Supl./227
Nowak A. 46 Supl./73
Nowak D. 46 Supl./7
Nowak J. 47 Supl./178
Nowak M. 47/133, 48/107
Obiedziński M. 46 Supl./192, 47 Supl./36, 47
Supl./48, 47 Supl./363
Ociecek A. 47 Supl./267
Olborska K. 47 Supl./242
Olejnik A. 46/46
Olejnik D. 47 Supl./158
Oltuszek-Walczak E. 46 Supl./80
Owczarek L. 46 Supl./121, 46 Supl./152
Palich P. 47 Supl./267
Pasławska M. 46 Supl./86, 46 Supl./93
Pelka A. 46 Supl./93
Piasecka-Jóźwiak K. 46 Supl./100
Pietrzyk S. 47/69
Pisulewski P.M. 46/102, 47/82, 47/93, 48/51
Pluta A. 47 Supl./251
Polaszczyk S. 47/82, 47/93
Popek S. 46/138, 47/149, 48/155, 49/185
Poszytek K. 49/128
Przybylska A. 47 Supl./158
Przygoński K. 46 Supl./127
Pyryt B. 46 Supl./114
Pysz M. 46/102
Ramotowska J. 47 Supl./363
Ratusz K. 47 Supl./258, 47 Supl./356
Rembalkowska E. 46 Supl./121, 47 Supl./11
Remiszewski M. 46 Supl./59, 46 Supl./127,
48/23
Reps A. 47/59
Rozmierska J. 46 Supl./100
Ruszkowska M. 47 Supl./267
Rutkowska J. 46 Supl./136
Rząca M. 47 Supl./276

- Sadowska K. 47 Supl./286, 49/32
Samotyja U. 47 Supl./293
Schmidt M. 46/46
Sieliwanowicz B. 46 Supl./152
Šimonová I. 48/76
Sitkiewicz I. 46 Supl./143
Skąpska S. 46 Supl./152
Skotnicka M. 47 Supl./301
Skupień K. 49/47
Słowik E. 46 Supl./100
Sobczak M. 47 Supl./310, 48/86
Sołowiej B. 47 Supl./321
Soral-Śmietana M. 47 Supl./346
Sosińska E. 47 Supl./331
Sowa M. 47/69
Stachelska A. 46/21
Stachowiak B. 47/17
Staniek H. 47 Supl./158, 47 Supl./340
Stecka K.M. 46 Supl./100
Steinka I. 46 Supl./161, 46 Supl./173
Stempińska K. 47 Supl./346
Stryjecka M. 49/90
Subda H. 47/124
Suhaj M. 48/76
Sułowska K. 47 Supl./186
Szajdek A. 49/59
Szopa J.S. 46/91
Szpendowski J. 46/58
Szterk A. 49/77
Szwajgier D. 46/5, 47 SUPL./321
Szydłowska A. 46/117
Szymanowska U. 47/29
Ścibisz I. 49/68
Śmiechowski K. 47 Supl./143, 49/154
Świąder K. 46 Supl./183
Świdorski F. 46 Supl./192
Targoński Z. 46/5
Tomala K. 47 Supl./167
Trafiałek J. 46 Supl./201
Trzczińska M. 46 Supl./152
Trziszka T. 47/133, 48/107
Tyszkiewicz: S. 47/5
Wachowicz M. 46/143
Wachowska M. 47/59
Wasiak-Zys G. 47 Supl./11
Waszkiewicz-Robak B. 46 Supl./183, 46
Supl./192
Więclawski S. 49/110
Wirkowska M. 47 Supl./28, 47 Supl./258, 47
Supl./356
Wiśniewska K. 47/59
Witrowa-Rajchert D. 46 Supl./7, 47 Supl./276
Wojnarowska K. 46/46
Wojtasik I. 47 Supl./153
Wojtowicz A. 47/112
Wolniak M. 47 Supl./93, 49/39
Wołosiak R. 47 Supl./331, 49/136
Worobiej E. 49/136
Wójcik-Stopczyńska B. 49/47
Wroniak M. 46 Supl./214, 47/46, 47 Supl./363
Wyrozębska M. 46 Supl./44
Wzorek W. 47 Supl./153
Zadernowski R. 47 Supl./20
Zarecka K. 47 Supl./20
Zasadny R. 48/100
Zdybel E. 49/18
Zembold A. 48/35
Zgórska K. 46 Supl./222, 46 Supl./229
Ziarno M. 49/100, 49/110
Zielińska A. 46 Supl./235
Zielińska D. 49/120
Żbikowska A. 46 Supl./246, 47 Supl./202, 47
Supl./372
Żochowska-Kujawska J. 48/86
Żych A. 48/86

WYKAZ NAZWISK RECENZENTÓW W 2006 ROKU

Redakcja kwartalnika „Żywność” przekazuje wyrazy wdzięczności P.T. Recenzentom za opiniotwórczą i społeczną pracę na rzecz naszego czasopisma. Dziękujemy Państwu za wspieranie naszych wysiłków nad doskonaleniem poziomu naukowego publikowanych prac.

Prof. dr hab. Wojciech Ambroziak
Prof. dr hab. Ewa Babicz-Zielińska
Prof. dr hab. Barbara Baraniak
Prof. dr hab. Nina Barylko-Pikielna
Prof. dr hab. Julitta Borowska
Prof. dr hab. Piotr Bykowski
Dr hab. Alicja Ceglińska
Prof. dr hab. Ewa Cieślik
Prof. dr hab. Janusz Czapski
Prof. dr hab. Zbigniew Czarnecki
Prof. dr hab. Małgorzata Darewicz
Dr inż. Anna Diowks
Prof. dr hab. Ewelina Dziuba
Prof. dr hab. Mirosław Fik
Prof. dr hab. Teresa Fortuna
Prof. dr hab. Halina Gambuś
Prof. dr hab. Roman Grzybowski
Prof. dr hab. Stanisław Gwiazda
Prof. dr hab. Jan Iciek
Dr inż. Andrzej Janicki
Prof. dr hab. Tomasz Jankowski
Dr hab. Grażyna Jaworska
Prof. dr hab. Henryk Jeleń
Prof. dr hab. Edward Kamiński
Dr Magdalena Karamuć
Prof. dr hab. Jacek Kijowski
Dr hab. Zenon Kędzior
Prof. dr hab. Halina Kolenda
Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska
Prof. dr hab. Wiesław Kopeć
Dr inż. Monika Kordowska-Wiater
Dr hab. Lucjan Krala
Prof. dr hab. Krzysztof Krygier
Prof. dr hab. Eleonora Ledóchowska
Prof. dr hab. Andrzej Lenart
Dr hab. Grażyna Lewandowicz
Prof. dr hab. inż. Tomasz Lesiów
Dr hab. Teresa Leszczyńska
Prof. dr hab. Wacław Leszczyński

Prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz
Prof. dr hab. Zofia Lisiewska
Prof. dr hab. Grażyna Lisińska
Prof. dr hab. Lucja Łaniewska-Trokenheim
Prof. dr hab. Marta Mitek
Prof. dr hab. Stanisław Mleko
Prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Katucka
Prof. dr hab. Helena Oberman
Prof. dr hab. Wiktor Obuchowski
Prof. dr hab. Jan Oszmiański
Prof. dr hab. Piotr Palich
Prof. dr hab. Piotr Przybyłowski
Prof. dr hab. Ewa Rembiałkowska
Prof. dr hab. Daniela Rotkiewicz
Prof. dr Antoni Rutkowski
Prof. dr hab. Marek Sikora
Prof. dr hab. Tadeusz Sikora
Prof. dr hab. Lucyna Słomińska
Prof. dr hab. Maria Soral-Śmietana
Prof. dr hab. Izabela Steinka
Prof. dr hab. Jacek Szczawiński
Prof. dr hab. Barbara Szteke
Dr inż. Ewa Szukalska
Prof. dr hab. Jerzy Szpendowski
Prof. dr hab. Maria Śmiechowska
Prof. dr hab. Irena Usajewicz
Prof. dr hab. Danuta Witkowska
Prof. dr hab. Maria Wojtatowicz
Dr Teresa Woźniakiewicz
Dr inż. Barbara Wójcik-Stopczyńska
Dr inż. Barbara Wróblewska
Prof. dr hab. Zofia Zachwieja
Prof. dr hab. Ryszard Zadernowski
Prof. dr hab. Zygmunt Zander
Prof. dr hab. Stefan Ziajka
Dr hab. Henryk Zieliński
Prof. dr hab. Stanisław Zmarlicki
Prof. dr hab. Zofia Żakowska