



ŻYWNOSĆ

Nauka
Technologia
Jakość

Nr 1(50)

Kraków 2007

Rok 14

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

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

e-mail: ewaslawska@wp.pl

Redaktorzy: prof. dr hab. Bohdan Achremowicz, prof. dr hab. Włodzimierz Grajek,
prof. dr hab. Danuta Kolożyn-Krajewska, prof. dr hab. Bogusław Król, prof. dr hab. Krzysztof
Krygier, prof. dr hab. Mieczysław Pałasiński, dr Teresa Woźniakiewicz prof. dr hab. Stefan Ziajka

Stali współpracownicy: prof. dr hab. Teresa Fortuna (Kraków), prof. dr hab. Jacek Kijowski
(Poznań), dr Grażyna Morkis (Warszawa), prof. AE dr hab. inż. Stanisław Popek (Kraków),
prof. dr hab. Maria Soral-Śmietana (Olsztyn)

RADA PROGRAMOWA: prof. dr Antoni Rutkowski (*przewodniczący*), dr hab. Kazimierz
Dąbrowski (*sekretarz*), prof. dr hab. Barbara Baraniak, prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna,
prof. dr hab. Józefa Chrzanowska, prof. dr hab. Janusz Czapski, prof. dr hab. Zbigniew
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 Naczek (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 ŻYWNOCI
WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2007

Printed in Poland

Wydawanie publikacji dofinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

ISSN 1425-6959

ADRES REDAKCJI:

31-425 KRAKÓW, AL. 29 LISTOPADA 46

Nakład: 700 egz.

SKŁAD I DRUK:



Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków

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

e-mail: wn@akapit.krakow.pl

ŻYWNOŚĆ

Organ naukowy PTTŻ – kwartalnik

Nr 1 (50)

Kraków 2007

Rok 14

SPIS TREŚCI

Od Redakcji	3
MAŁGORZATA DAREWICZ, JERZY DZIUBA: Dietozależny charakter enteropatii pokarmowych na przykładzie celiakii	5
ANNA ZIEMBIŃSKA, GRAŻYNA KRASNOWSKA: Zapewnienie bezpieczeństwa zdrowotnego w obrocie tuszami zwierząt łownych	16
KATARZYNA KAJAK, WIESŁAW PRZYBYLSKI, DANUTA JAWORSKA, ELŻBIETA ROSIAK: Charakterystyka jakości technologicznej, sensorycznej i trwałości mięsa wieprzowego o zróżnicowanej końcowej wartości pH	26
MAREK KOTOWICZ, LESZEK GAJOWIECKI, KAZIMIERZ LACHOWICZ, WALDEMAR DĄBROWSKI, ANNA KORONKIEWICZ, JOANNA ŻOCHOWSKA-KUJAWSKA, MAŁGORZATA SOBCZAK, ARKADIUSZ ŻYCH: Wpływ sorbinianu potasu na jakość modelowych wyrobów drobiowych wyprodukowanych bez dodatku azotanu (III) sodu	35
BARBARA WRÓBLEWSKA, LUCJAN JĘDRYCHOWSKI, MAREK FARJAN: Jakość hydrolizatów białek mleka krowiego w aspekcie produkcji odżywek hypoalergiczných	44
WALDEMAR GUSTAW, MACIEJ NASTAJ: Wpływ dodatku wybranych koncentratów białek serwatkowych (WPC) na właściwości reologiczne jogurtów otrzymanych metodą termostatową	56
IZABELA DMYTRÓW, KRZYSZTOF KRYŻA, KRZYSZTOF DMYTRÓW, SŁAWOMIR LISIECKI: Wpływ opakowania na wybrane cechy jakościowe sera twarogowego kwasowego przechowywanego w warunkach chłodniczych	64
MAREK NOWAK, TADEUSZ TRZISZKA, MAREK SZOŁTYSIK: Preferencje konsumentów mlecznych napojów fermentowanych	77
ZBIGNIEW RZEDZICKI, PIOTR ZARZYCKI: Wpływ ekstruzji dwuślimakowej mieszanek z udziałem razówki owsianej na skład frakcyjny błonnika pokarmowego	84
JAN OSZMIAŃSKI, ANETA WOJDYŁO, PAWEŁ MATUSZEWSKI: Zmiany zawartości związków fenolowych podczas produkcji zagęszczonego soku truskawkowego w warunkach przemysłowych	94
EWA REMBIAŁKOWSKA, EWELINA HALLMANN, LECH KAPROŃ, ANNA RUSACZONEK: Ocena wartości przeciwtleniającej oraz zawartości związków bioaktywnych w kremogenach wykonanych z owoców starych i nowych odmian jabłoni	105
ANNA KORUS, ZOFIA LISIEWSKA, WALDEMAR KMIECIK: Ocena jakości brzoskwiń w żelu konserwowanych kwasem sorbowym - w zależności od warunków przechowywania	113
MARCIN KIDOŃ, JANUSZ CZAPSKI: Wpływ obróbki termicznej na zawartość barwników betalainowych i zdolność przeciwtleniającą buraka ćwikłowego	124
URSZULA GAWLIK-DZIKI, DARIUSZ KOWALCZYK: Wpływ warunków ekstrakcji na aktywność przeciwtleniającą ekstraktów z kielków rzodkiewki	132
KATARZYNA CZACZYK, AGNIESZKA MARCINIAK, WOJCIECH BIAŁAS, ANNA MUELLER, KAMILA MYSZKA: Wpływ czynników środowiskowych na biosyntezę lipopeptydów przez <i>Bacillus</i> spp.	140
DANUTA WITKOWSKA, ANITA RYWIŃSKA, MICHAŁ PIEGZA: Wytwarzanie fitaz, celulaz i ksylanaz przez wybrane szczepy grzybów strzępkowych	150
PIOTR JANAS, ZDZISŁAW TARGOŃSKI: Wpływ źródła węgla i azotu na produkcję ksantanu i enzymów zewnątrzkomórkowych przez penicylinoopornego mutantu <i>Xanthomonas campestris</i>	161
GRAŻYNA MORKIS, WIOLETTA KARAS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym ..	173
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA MIERZEJEWSKA: Współczesny leksykon wiedzy o żywności	180
STANISŁAW POPEK: Nowe książki	182
PIOTR PRZYBYŁOWSKI: XXXVII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN „Doskonalenie jakości żywności i żywienia w perspektywie potrzeb konsumenta XXI wieku”	185
TADEUSZ SIKORA: Recenzja książki	187
Technolog Żywności	189

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 1 (50)

Kraków 2007

Vol. 14

CONTENTS

From the Editor	3
MAŁGORZATA DAREWICZ, JERZY DZIUBA: Diet-related nature of food enteropathy as exemplified by celiac disease	5
ANNA ZIEMBIŃSKA, GRAŻYNA KRASNOWSKA: The assurance of food safety in wild game carcass trading	16
KATARZYNA KAJAK, WIESŁAW PRZYBYLSKI, DANUTA JAWORSKA, ELŻBIETA ROSIAK: Characteristics of technological quality, sensorial and shelf-life of pork with different pH	26
MAREK KOTOWICZ, LESZEK GAJOWIECKI, KAZIMIERZ LACHOWICZ, WALDEMAR DĄBROWSKI, ANNA KORONKIEWICZ, JOANNA ŻOCHOWSKA-KUJAWSKA, MAŁGORZATA SOBCZAK, ARKADIUSZ ŻYCH: Influence of potassium sorbate addition on quality of nitrite-free model poultry meat products	35
BARBARA WRÓBLEWSKA, LUCJAN JĘDRYCHOWSKI, MAREK FARJAN: Quality of cow milk protein hydrolysates in aspect of production of hypoallergenic formulae	44
WALDEMAR GUSTAW, MACIEJ NASTAJ: Effect of addition of different whey protein concentrates (WPC) on rheological properties of set-type yogurt	56
IZABELA DMYTRÓW, KRZYSZTOF KRYŻA, KRZYSZTOF DMYTRÓW, SŁAWOMIR LISIECKI: The influence of packing on selected qualitative features of acid-curd cheese stored in cooling conditions	64
MAREK NOWAK, TADEUSZ TRZISZKA, MAREK SZOŁTYSIK: Consumers' preferences of fermented milk drinks	77
ZBIGNIEW RZEDZICKI, PIOTR ZARZYCKI: Influence of extrusion cooking of maize-oat meal mixtures on the changes of fractional composition of dietary fibre	84
JAN OSZMIŃSKI, ANETA WOJDYŁO, PAWEŁ MATUSZEWSKI: In polyphenols compounds changes in the industrial production process of concentrated strawberry juice	94
EWA REMBIAŁKOWSKA, EWELINA HALLMANN, LECH KAPROŃ, ANNA RUSACZONEK: Estimation of antioxidant activity and bioactive substances content in apple mousse prepared from the old and new apple cultivars	105
ANNA KORUS, ZOFIA LISIEWSKA, WALDEMAR KMIĘCIK: Quality evaluation of peaches in gel conserved with sorbic acid depending on storage conditions	113
MARCIN KIDOŃ, JANUSZ CZAPSKI: The effect of thermal processing on betalain pigments contents and antiradical activity of red beet	124
URSZULA GAWLIK-DZIKI, DARIUSZ KOWALCZYK: Influence of extraction conditions on antioxidant activity of extracts from radish sprouts	132
KATARZYNA CZACZYK, AGNIESZKA MARCINIAK, WOJCIECH BIAŁAS, ANNA MUELLER, KAMILA MYSZKA: The effect of environmental factors influencing lipopeptide biosurfactants biosynthesis by <i>Bacillus</i> spp.	140
DANUTA WITKOWSKA, ANITA RYWIŃSKA, MICHAŁ PIEGZA: Production of phytases, cellulases and xylanases by selected filamentous fungi	150
PIOTR JANAS, ZDZISŁAW TARGOŃSKI: The influence of carbon and nitrogen sources on the production of xanthan gum and extracellular enzymes by penicillin-resistant mutant of <i>Xanthomonas campestris</i>	161
GRAŻYNA MORKIS, WIOLETTA KARAŚ: Food Problems in Polish and EU Legislation	173
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA MIERZEJEWSKA: Food Science Lexicon – Contemporary Terms	180
STANISŁAW POPEK: Book Reviews	182
PIOTR PRZYBYŁOWSKI: 37th Science Session of Polish Science Academy's Food Sciences Committee "Food and Nourish Quality Improvement in a Perspective of Consumer Needs in 21st Century"	185
TADEUSZ SIKORA: Book Review	187
The Food Technologist.	189

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

Szanowni Państwo,

obecny numer naszego czasopisma jest 50! zeszytem podstawowym, nie licząc kilkunastu wydanych suplementów. Ocenę dotychczasowych zeszytów zostawiamy naszym Czytelnikom.

Aktualnie trwa proces oceny czasopism naukowych według nowych zasad (nowe kryteria parametryzacji) prowadzony przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Z wynikami nowej oceny czasopism wiążemy duże nadzieje.

Jasno określone zasady oceny czasopism wymagają od Redakcji dostosowania się do tych kryteriów. Stąd też od obecnego numeru zwiększona zostaje objętość czasopisma, rezygnujemy z wydawania suplementów na rzecz większej liczby numerów podstawowych w roku. Apelujemy też do naszych Autorów o zwrócenie większej uwagi na cytowanie artykułów zamieszczonych w „ŻYWNOŚCI” zarówno w artykułach kierowanych do naszego czasopisma, jak i w innych publikacjach, szczególnie w tych z tzw. Listy filadelfijskiej (indeks cytowań).

Wyrażamy nadzieję, że te zmiany spotkają się ze zrozumieniem i akceptacją naszych Autorów i Czytelników.

Kraków, marzec 2007 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

MAŁGORZATA DAREWICZ, JERZY DZIUBA

DIETOZALEŻNY CHARAKTER ENTEROPATII POKARMOWYCH NA PRZYKŁADZIE CELIAKII

Streszczenie

W pracy przedstawiono i zanalizowano wyniki badań dotyczących etiologii, objawów klinicznych, aspektów molekularnych i analitycznych oraz znaczenia żywienia w celiakii. Celiakia jest enteropatią glutenową, w której występują zmiany w błonie śluzowej jelita czczego odpowiadające morfologicznie na leczenie dietą bezglutenową. Jest ona najszerzej badaną chorobą żołądkowo-jelitową o podłożu autoimmunologicznym wywołaną obecnością w diecie białek pszenicy, jęczmienia czy żyta. Występowanie celiakii wyjaśnia kilka hipotez tłumaczących mechanizm prowadzący do uszkodzenia błony śluzowej jelita cienkiego. U pacjentów chorych na celiakię stwierdzono podwyższony poziom transglutaminazy tkankowej i sugerowano, że fakt ten może odgrywać kluczową rolę w etiologii tej choroby. Stwierdzono, że szkodliwość prolaminy zbóż zależy od ich struktury, czyli rodzaju i kolejności aminokwasów zawartych w ich łańcuchach polipeptydowych. Peptydy z A-gliadyny, których toksyczność potwierdzono w badaniach *in vivo*, zawsze zawierają jeden z czterech motywów sekwencji aminokwasowych tj.: PSQQ; QQQP; QQPY lub QPYP. Stwierdzono fundamentalne znaczenie prawidłowo skomponowanej diety w profilaktyce celiakii. Jak dotąd nie rozstrzygnięto kontrowersji co do toksyczności aweniny owsa dla osób chorych na celiakię.

Słowa kluczowe: celiakia, gliadyny, gluten, prolaminy, peptydy toksyczne

Wprowadzenie

Alergia jest powszechnym problemem zdrowotnym dotykającym ludzi na całym świecie. Żywność pochodzenia zwierzęcego jest ubogim źródłem alergenów, z wyjątkiem białek mleka i jaj, podczas gdy w żywności pochodzenia roślinnego występuje ich znaczenie więcej [5]. European Academy of Allergy and Clinical Immunology określiła nowe zasady klasyfikacji i nazewnictwa stosowane w alergicznych jednostkach chorobowych [38]. Niepożądane reakcje wywołane spożyciem określonych składników żywności czyli nadwrażliwość żywieniowa (pokarmowa) (*food hypersensitivities*) obejmuje jakiegokolwiek nienaturalne reakcje będące konsekwencją spożycia

żywności i może być traktowana jako efekt nietolerancji żywieniowych (*nonallergic food hypersensitivities*) lub nadwrażliwości żywieniowej/alergii (*food allergy*). Nietolerancje żywieniowe (*nonallergic food hypersensitivities*) obejmują niepożądane reakcje jako efekt unikatowej charakterystyki fizjologicznej gospodarza i obejmują np. nietolerancję laktozy. Alergia pokarmowa (*food allergy*) jest definiowana jako niepożądana reakcja immunologiczna – nadwrażliwość po spożyciu żywności i jako taka nigdy nie obejmuje pojedynczych fizjologicznych dysfunkcji organizmu ani nie wywołuje jej jeden czynnik [6]. Alergie i nietolerancje pokarmowe są coraz częściej występującymi nieprawidłowymi reakcjami na pokarm. Duże tempo życia i towarzyszący mu stres, pogłębiające się zanieczyszczenie środowiska, modyfikacje różnych składników żywności oraz wzrost udziału przetworzonej żywności w diecie mogą być przyczyną zwiększającego się występowania alergii pokarmowej u ludzi [10]. Alergie wywołane przez składniki żywności można podzielić na związane z wydzielaniem przeciwciał IgE i niezwiązane z tym procesem. Choroby związane z nagłym pojawieniem symptomów i ostrym ich przebiegiem po spożyciu pokarmów zwykle związane są z sekrecją przeciwciał IgE, prowadząc do stanu uczulenia. Inną grupę chorób związanych z nadwrażliwością na składniki żywności stanowią podostre i chroniczne jednostki chorobowe wyzwalane reakcją komórek typu T np. celiakia czy enteropatia wywołana przez białka mleka [38].

Występowanie, objawy kliniczne, klasyfikacja i konsekwencje zdrowotne celiakii

Alergia na pszenicę jest przykładem wielości czynników wywołujących nadwrażliwość. W zależności od różnych czynników osoba wrażliwa na białka pszenicy może cierpieć na atopowe zapalenie skóry, anafilaksję, astmę lub np. celiakię wywołaną przez gluten [46]. Celiakia może być zakwalifikowana do alergii żywnościowych – za nadwrażliwość odpowiedzialny jest gluten [18]. Jest ona najszerzej badaną chorobą żołądkowo-jelitową o podłożu autoimmunologicznym wywołaną obecnością w diecie białek pszenicy, jęczmienia czy żyta [19]. Celiakię opisał po raz pierwszy w roku 1888 Samuel Gee wyłącznie na podstawie objawów klinicznych [20]. Celiakia jest chorobą dotykającą przede wszystkim Europejczyków, jakkolwiek np. Azjaci też na nią cierpią. Ostatnie badania w Wielkiej Brytanii dowodzą, że dotyczy ona 1 na 300 osób [8, 31]. Według danych podanych podczas International World Congress of Gastroenterology na celiakię cierpi 1 na 200 osób w Europie [48] i ok. 1 na 250 w USA [35]. Stosunek chorujących kobiet do mężczyzn wynosi 2 :1 [46].

Występowanie celiakii wyjaśnia kilka hipotez tłumaczących mechanizm prowadzący do uszkodzenia błony śluzowej jelita cienkiego. Naukowcy stworzyli do tej pory cztery hipotezy [20]. W teorii immunologicznej przyczyną zaburzeń jest alergia na gluten, a miejscem reakcji alergicznej jest śluzówka jelita cienkiego. Poparciem tej teorii jest obecność przeciwciał antygliadynowych u osób chorych, nieprzeznaczają-

cych diety. W teorii toksycznej przyczyną tej choroby jest wrodzony, dziedziczny brak enzymu jelitowego rozkładającego gluten. Nierozłożony gluten działa toksycznie doprowadzając do uszkodzeń i zaniku kosmków jelitowych [4]. Z kolei za etiologią wirusową przemawia podobieństwo fragmentu sekwencji aminokwasowej białka ludzkiego adenowirusa typu 12 i frakcji α -gliadyny [56]. W teorii wady komórkowej błony erytrocytów nieprawidłowa budowa błony komórek okrywających kosmki jelitowe i toksyczne działanie glutenu doprowadza do zaniku kosmka [8].

Charakter objawów klinicznych, dynamika procesu chorobowego oraz stopień procesu uszkodzenia błony śluzowej jelita cienkiego stanowią kryterium podziału tej choroby. Obraz choroby zależy od wieku chorego, sposobu leczenia lub jego braku. Rozróżnia się trzy postaci celiakii: czynną, niemą i utajoną [20].

W zależności od stopnia uszkodzenia śluzówki jelita objawy celiakii czynnej mogą być różne: przewlekła biegunka, bóle brzucha, wzdęcia i cuchnące stolce z niestrawionymi resztkami pożywienia oraz utrata masy ciała. Mniej charakterystycznymi objawami są: uczucie zmęczenia, osłabienia, bóle w kościach, kurcze mięśniowe, zaparcia, zaparcia na zmianę z biegunką, stany depresyjne i rozdrażnienia. Wtórnymi objawami zaburzeń trawiennych wchłaniania mogą być: niedokrwistość, wczesna osteoporoza, nietolerancja dwucukrów i uczulenia na inne produkty np. mleko [20]. U małych dzieci z nieleczoną celiakią występuje charakterystyczna budowa ciała: wzdęty brzuch i bardzo wychudzone kończyny. W następnych latach życia choroba może manifestować się opóźnieniem we wzroście, chronicznym zmęczeniem, symptomami neurologicznymi czy nawet podatnością na rozwój niektórych rodzajów nowotworów [36]. Celiakia niemą to postać choroby, w której pomimo zaniku kosmków jelitowych ustępującego po zastosowaniu diety bezglutenowej, objawy kliniczne nie występują lub nie są charakterystyczne dla tej choroby [20]. Celiakia utajona oznacza, że choroba istnieje, ale aktualnie spożywana dobową dawką glutenu nie przekracza wrażliwości osobniczej, co w konsekwencji nie doprowadza do wystąpienia objawów klinicznych i zaniku kosmków [20].

Osoby, które chorują na celiakię wykazują niższe parametry wzrostu [55]. U pacjentek z nierozpoznaną celiakią notuje się częściej niż w zdrowej populacji poronienia samoistne, zwiększone ryzyko martwych urodzeń oraz wyższą śmiertelność okołoporodową [33]. Nieleczona celiakia obniża również płodność mężczyzn poprzez pogorszenie parametrów nasienia oraz osłabienie libido [13]. Jednym z efektów zaburzeń wchłaniania w celiakii są zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej. Stosunkowo często spotyka się u pacjentów z chorobą trzewną nadczynność przytarczyc, niedobór witaminy D, początkowo objawiający się osłabieniem mięśniowym oraz hipokalcemię z napadami tężyczki. Osteopenia u pacjentów z nieleczoną celiakią występuje w każdym wieku - u dzieci i młodzieży, młodych dorosłych i osób w starszym wieku – zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn [51]. W publikowanych pracach istnieją rozbieżności

co do wpływu objawów zespołu złego wchłaniania na gęstość kości. Według niektórych autorów jest on znacząco mniejszy u pacjentów z pełnoobjawową postacią. Inni nie znajdują takiej zależności [34]

Genetyczne aspekty celiakii

W etiologii choroby baczna uwagę zwraca się na możliwości deamidacji białek glutenu przez transglutaminazę tkankową. Dodatkowo ponad 95% pacjentów wykazuje reakcje pozytywne w kierunku poszczególnych antygenów układu HLA (human leukocyte antigen) zwłaszcza HLA-DQ2 a także HLA-DQ8 [52]. Dotąd nie wiadomo, dlaczego rozwój tej choroby, obejmujący pełną listę symptomów, dotyczy jedynie 20-50% pacjentów ze stwierdzonymi predyspozycjami genetycznymi. U pacjentów chorych na celiakię stwierdzono podwyższony poziom transglutaminazy tkankowej i sugerowano, że fakt ten może odgrywać kluczową rolę w etiologii choroby. Dzięki aktywności transglutaminazy tkankowej gliadyny uzyskują wypadkowy ładunek ujemny. Niektóre z tych ujemnie naładowanych peptydów z gliadyn bardziej efektywnie przyłączają się do HLA-DQ2 lub -DQ8 na powierzchni komórek z przeciwciałami niż peptydy macierzyste. Powoduje to zwielokrotnienie specyficznej odpowiedzi komórek typu T [41]. Aktywacja komórek T wywołuje kaskadę reakcji, prowadząc do wytworzenia wysoce specyficznych przeciwciał IgA w kierunku transglutaminazy i mniej specyficznych w kierunku glutenu.

Charakterystyka białek zbóż i ich znaczenie w etiologii celiakii

Współczesna chemia białek zbożowych datowana jest od momentu ukazania się w roku 1890 prac Osborne'a [39], który rozfrakcjonował białka ziarna pszenicy na 4 różne grupy, posługując się metodą rozdziału polegającą na zasadzie różnic w rozpuszczalności tj. na: albuminy - rozpuszczalne w wodzie, globuliny - rozpuszczalne w roztworach obojętnej soli, gliadyny - rozpuszczalne w 70-90% alkoholu, gluteniny - rozpuszczane w rozcieńczonych roztworach kwasów lub zasad. Albuminy i globuliny występują głównie w zarodku i warstwie aleuronowej, pełniąc przeważnie funkcje strukturalne i enzymatyczne. Gliadyny i gluteniny stanowią białka zapasowe.

Obecnie klasyfikacji białek zbóż dokonuje się, stosując bardziej nowoczesne metody rozdziału [39]. Należą do nich różne modyfikacje elektroforezy w żelu poliakrylamidowym (SDS-PAGE), elektroforezy kapilarnej o wysokiej rozdzielczości (HPCE) oraz wysokosprawnej chromatografii cieczerwowej (HPLC) [39]. Najlepsze wyniki uzyskuje się stosując dwukierunkową elektroforezę oraz technikę wysokosprawnej chromatografii cieczerwowej z odwróconymi fazami (RP-HPLC) [17].

Dzięki postępowi, który dokonał się w metodach frakcjonowania i badania struktury molekularnej białek glutenowych oraz na podstawie współczesnych osiągnięć genetyki molekularnej [44, 45], opracowano nową klasyfikację białek glutenowych

pszenicy. W większym stopniu uwzględnia ona skład i strukturę tych białek niż różnice w ich rozpuszczalności [48]. Po bliższym zapoznaniu się z sekwencjami aminokwasowymi występującymi w prolaminach i chromosomową lokalizacją strukturalnych genów kodujących syntezę odpowiednich białek dokonano ich podziału na dwie grupy: monomeryczne – prolaminy I oraz oligo- lub polimeryczne prolaminy II (gluteniny). Pierwsze z nich podzielono ze względu na masy cząsteczkowe i ruchliwość elektroforetyczną na: α -, β -, γ - i ω -gliadyny, zaś drugie na mało- (LMW) i wielkocząsteczkowe (HMW) gluteniny. Frakcje α -, β - i γ - prolaminy oraz LMW gluteniny, ze względu na znaczną zawartość cysteiny, zalicza się do bogatych w siarkę (+S), natomiast ω -gliadyny – do ubogich w siarkę (S-). Frakcja HMW prolamin II ma pod tym względem charakter pośredni [27, 53]. W składzie aminokwasowym prolamin zbóż dominują glutamina i prolina. W prolaminach HMW w znacznych ilościach występuje również glicyna. Prolaminy są szczególnie ubogie w aminokwasy egzogenne, a zwłaszcza w lizynę, metioninę i tryptofan, nieco więcej zawierają fenyloalaniny i tyrozyny, a poziom waliny, leucyny i izoleucyny jest na poziomie średnim. Prolaminy mają więc niewystarczającą wartość odżywczą i winny być uzupełniane w żywieniu innymi źródłami białka [26].

Zasadnicze znaczenie w etiologii celiakii odgrywa gluten. Nazwa ta powstała w celu ujednoczenia wszystkich toksycznych prolamin [25]. Wykazano, że gliadyna, która jest rozpuszczalną w etanolu frakcją glutenu powoduje celiakię u osób z enteropatią glutenową. Za najbardziej toksyczną w celiakii uważa się α -gliadynę [29]. Frakcje białkowe rozpuszczalne w etanolu uzyskano również podczas ekstrakcji etanolem innych zbóż i, ze względu na dużą zawartość proliny (ok. 15%) w stosunku do zawartości białka ogółem oraz kwasu glutaminowego (nawet 60%), zaliczono je do prolamin. Prolaminy otrzymywane z żyta to sekaliny, z jęczmienia – hordeiny i owsa – aweniny [29].

Stopień uszkodzenia komórek śluzówki jelita cienkiego po spożywaniu przetworów z pszenicy, jęczmienia i owsa zależy od zawartości azotu we frakcji prolamin, a także ich składu i sekwencji aminokwasowej. Ze względu na zdolność do uszkodzenia śluzówki jelita zboża można uszeregować w następującej kolejności: pszenica > żyto > jęczmień > owies [23]. Szereg kontrowersji wiąże się z wprowadzaniem lub eliminacją owsa z diety bezglutenowej. Po poznaniu odmienności aweniny i innych prolamin pozostałych zbóż pojawiło się szereg doniesień o braku toksyczności tego zboża u osób z celiakią [49]. Awenina, mimo że jest blisko taksonomicznie spokrewniona z gliadyną nie zawiera takich samych jak w gliadynie pszenicy toksycznych sekwencji aminokwasowych w łańcuchach polipeptydowych. Nie stwierdzono jak dotąd, aby mogła wywoływać reakcje krzyżowe. Jednakże udało się wyizolować z krwi u osób chorych na celiakię przeciwciała przeciwko aweninie [22], podobnie jak przeciwciała AGA przeciwko gliadynie. Możliwość wystąpienia zmian zanikowych kosm-

ków, zmian skórnych i wyzwolenia reakcji zapalnej w jelicie przez aweninę stwierdzono u 1/19 chorych, co daje 5% badanej populacji [49]. Należy również pamiętać, że ze względu na sposób przetwarzania owsa produkty z niego powstałe są zwykle bardzo zanieczyszczone innymi toksycznymi w celiakii prolaminami.

Nie wszystkie zboża zawierające prolaminę są toksyczne, np. prolamina kukurydzy – zeina jest nietoksyczna. Również białko gryki, nienależące z biologicznego punktu widzenia do traw, jest nietoksyczne. Porównanie białek gryki i glutenu pszenicy na podstawie ich składów aminokwasowych, uzyskanych w wyniku rozdzielania elektroforetycznego i reakcji immunochemicznych, wskazuje na bardzo duże różnice tych białek. Na przykład poprzez ekstrakcję 70% etanolem pszenicy uzyskuje się głównie białko, natomiast w podobnej ekstrakcji gryki zaledwie ok. 14% białka. Frakcje białkowe gryki są bogate w lizynę, argininę i glicynę. Gryka zatem, o ile nie jest zanieczyszczona innymi zbożami, może być bezpiecznie stosowana w diecie bezglutenowej [29].

Molekularne właściwości peptydów toksycznych w celiakii

Zasadnicze znaczenie w etiologii celiakii odgrywa gluten. Różne procesy technologiczne nie są w stanie zlikwidować niekorzystnego działania na chorych frakcji prolamin zbóż. Szkodliwość prolamin zależy bowiem od ich struktury, czyli sekwencji zawartych aminokwasów. Za najbardziej toksyczną w celiakii uważa się α -gliadynę [54]. Wykonano wiele badań w celu określenia czynnika toksycznego w białku glutenu. Badając peptydy powstałe z gliadyny po trawieniu białka enzymami stwierdzono, że aktywną w celiakii grupą aminokwasów jest bogata w prolinę grupa przy N-końcu gliadyny. Natomiast obszar sekwencji aminokwasowej, gdzie występują niewielkie ilości proliny jest nieaktywny. Obszary charakteryzujące się niższą zawartością proliny wykazują podobieństwo do struktury analogicznych białek zbóż nietoksycznych w celiakii [42]. Stosując w badaniach syntetyczne polipeptydy udowodniono, że można wywołać reakcje toksyczne w celiakii stosując peptydy zawierające 8-12 reszt aminokwasowych [42]. Stwierdzono, że za działanie toksyczne nie są odpowiedzialne boczne grupy np. lipidów czy cukrów, ale toksyczność ta związana jest z sekwencją aminokwasów.

Wykazano, że łańcuchy polipeptydowe gliadyny zawierają powtarzające się sekwencje aminokwasów, stanowią epitopy dla odpowiedniego receptora limfocytów (TCR). Poprzez deaminację i zmianę wypadkowego ładunku peptydów, transglutaminaza zwiększa powinowactwo epitopów do TCR, zależnego od cząstek MHC klasy II [7]. Cornell i Wills-Johnson [9] wykazali, peptydy z A-gliadyny, których toksyczność potwierdzono w badaniach *in vivo*, zawsze zawierają jeden z czterech motywów sekwencji aminokwasowych tj.: PSQQ; QQQP; QQPY lub QPYP. Po poddaniu peptydów, zawierających sekwencje aminokwasowe toksyczne dla chorych na celiakię, dzia-

łaniu endopeptydazy proplinojowej stwierdzono, że powstałe frakcje krótkich peptydów nie wykazują toksyczności zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro*. Barięą w praktycznym zastosowaniu tego odkrycia sę trudności związane z dostarczeniem enzymu do miejsca działania w ludzkim jelicie połączone z zachowaniem biologicznej aktywności enzymu [43].

W łańcuchach polipeptydowych wielu białek żywności, zawierających frakcje prolaminowe (np. kukurydza) lub niezawierających ich wcale, można wskazać na obecność sekwencji zawierających potencjalnie toksyczne tetrapeptydy PSQQ; QQQP; QQPY lub QPYP. Mimo to nie sę one czynnikami etiologicznymi w celiakii. Konsekwentnie za właściwości toksyczne w celiakii odpowiedzialne może być otoczenie ww. motywów strukturalnych, w tym jego skład aminokwasowy i struktura. Dewar i wsp. [12] stwierdzili, że minimalna długość łańcucha polipeptydowego, który stanowiłby epitop odpowiedniego receptora limfocytów (TCR) wynosi 9 reszt aminokwasowych, zaś optymalna – od 10 do 15 reszt aminokwasowych.

Metody komputerowe coraz częściej znajdują zastosowanie i sę coraz bardziej pomocne w definiowaniu właściwości białek i peptydów [1, 15]. Najbardziej znanym zastosowaniem metod komputerowych sę bazy danych sekwencji białek [3, 21, 40] oraz peptydów [14]. W ten obszar badań znakomicie wpisuje się baza danych białek i bioaktywnych peptydów BIOPEP (<http://www.uwm.edu.pl/biochemia>) umieszczona na serwerze Katedry Biochemii Żywności UWM. Zawiera ona dane o sekwencjach aminokwasowych białek i bioaktywnych peptydów, które mogą być wykorzystane do wyznaczania potencjalnej biologicznej aktywności białek według autorsko opracowanych algorytmów. Program umożliwia projektowanie proteolizy pod względem uwalniania bioaktywnych peptydów z ich prekursorów oraz zawiera odnośniki literaturowe [15]. Obecnie baza danych zawiera informacje na temat 244 sekwencji aminokwasowych peptydów, które, jak udowodniono w badaniach *in vivo* oraz *in vitro*, sę toksyczne dla osób chorych na celiakię. Stosując opracowane algorytmy możliwe jest stworzenie systemu klasyfikacji białek jako źródła peptydów dla osób chorych na celiakię. Innymi narzędziami bioinformatycznymi wykorzystywanymi do wyszukiwania identycznych sekwencji aminokwasowych pomiędzy peptydami oraz peptydami i białkami sę programy BLAST, MS BLAST (2), CLUSTAL W [50] i PeptideSearch [32]. W wyniku badań przeprowadzonych z wykorzystaniem Bazy BIOPEP oraz programu MS BLAST Darewicz i wsp. [11] oraz Dziuba i wsp. [16] stwierdzili, że w peptydach toksycznych dla osób chorych na celiakię dominujący udział miały skręty- β oraz nieuporządkowana struktura statystycznego kłębka. Peptydy te miały hydrofilowy charakter. Najbogatszym źródłem sekwencji identycznych w stosunku do takich peptydów były gliadyny i gluteniny pszenicy, dekaliny żyta oraz hordeiny jęczmienia. Obecność pojedynczych toksycznych sekwencji stwierdzono także w awenie owsa, zeinie kukurydzy, białku ryżu, białku mięśni kurczaka, kazeinie- β i galaninie. Dodatkowo oce-

niono możliwości uwalniania peptydów toksycznych dla osób chorych na celiakię przez enzymy proteolityczne z wykorzystaniem udostępnionej przez bazę BIOPEP opcji symulacji proteolizy [16]. Enzymami uwalniającymi toksyczne peptydy z pszenicy, jęczmienia i owsa były termolizyna, proteinaza K oraz oligopeptydaza prolylowa.

Profilaktyka dietetyczna w celiakii

Obecnie jedynym skutecznym sposobem leczenia celiakii jest, obok stosowania pewnych wspomagających środków farmakologicznych, zachowywanie odpowiedniej diety eliminacyjnej w stosunku do białek prolaminowych, głównie glutenu [24, 37]. Podejmowane są próby detoksykacji glutenu z wykorzystaniem enzymów proteolitycznych [30, 47].

Profilaktyka oraz postępowanie lecznicze w celiakii wymaga wyeliminowania zbóż i ich przetworów zawierających gluten ze spożywanej diety. Mąka, chleb, a także makarony i inne tradycyjne przetwory zbożowe muszą być zastąpione produktami niezawierającymi glutenu. Można je otrzymać poprzez eliminację glutenu z mąki pszennej, czyli używając skrobię pszenną lub poprzez zastosowanie zbóż naturalnie niezawierających glutenu jak np.: kukurydzy, ryżu, gryki prosa i innych rzadkich zbóż [55]. Otrzymanie chleba ze skrobi pszennej lub z mąki kukurydzianej czy ryżowej jest trudne i wymaga stosowania dodatków do żywności o charakterze substancji zagęszczających, takich jak: guma guar (E412), pektyna (E440), żelatyna (E441), zagęstnik skrobiowy oraz środki spulchniające: wodorowęglan sodu (E-500b), lakton kwasu glukonowego (E575), bezglutenowy proszek do pieczenia i inne [29]. Koncentraty chlebów i ciast bezglutenowych przeznaczone do wypieku pieczywa w warunkach domowych są dostępne na rynku [29]. Glutenu nie zawierają rośliny bulwiaste np.: ziemniaki, tapioka, ararat, pataty, maniok; rośliny strączkowe np.: fasola, soja, soczewica, groszek oraz orzechy [28]. Mogą one stanowić półprodukty do gotowych dań, mieszanek warzywnych, sosów i dipów, a nawet wędlin i słodczy.

Podsumowanie

Celiakia należy do chorób jelita cienkiego, w których etiologii i leczeniu dominujący udział ma czynnik żywieniowy. Podstawowe funkcje jelita cienkiego to trawienie i wchłanianie przyswajalnych składników i wydalanie niewchłoniętych resztek. Celiakii towarzyszy szeroki zakres zaburzeń klinicznych i histopatologicznych co sprawia, że ta dietozależna choroba wciąż pozostaje nie do końca poznana. Późniejsze wprowadzenie glutenu do diety niemowląt, wydłużenie okresu karmienia naturalnego, a także poprawa jakości niemowlęcych mieszanek pokarmowych, to czynniki które mogą decydować o korzystnej zmianie obrazu klinicznego choroby. Główną przyczyną niepowodzeń w leczeniu celiakii jest nieprzestrzeganie zasad diety eliminacyjnej.

Praca finansowana w ramach grantu zamawianego nr PBZ-KBN-097/PZ06/2003/I.1

Literatura

- [1] Aalberse R. C., Stadler B. M.: *In silico* predictability of allergenicity: from amino acid sequence via 3-D structure to allergenicity. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2006, **50**, 625-627.
- [2] Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J.: Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.*, 1997, **25**, 3389-3402.
- [3] Apweiler R., Bairoch A., Wu C.H. Protein sequence databases. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2004, **8**, 76-80.
- [4] Bartnikowska E.: Celiakia - choroba spowodowana spożywaniem przetworów zbożowych zawierających gluten. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2001, **9**, 16-20.
- [5] Breteneder H.: Plant-food and seafood allergens – an overview. *Allergy*, 1998, **53 (Suppl. 46)**, 31-4
- [6] Bruijzeel-Koomen C., Ortolani C., Aas K.: Adverse reactions to food: position paper. *Allergy*, 1995, **50**, 623-35.
- [7] Brusci V., Petrovsky N., Gendel S.M., Millot M., Gigonzac O., Stelman S.J.: Computational tools for the study of allergens. *Allergy*, 2003, **58**, 1083-1092.
- [8] Ciclitira P.J.: Coeliac disease: foreword. *Digest Liver Dis.*, 2002, **34**, 214-5.
- [9] Cornell H.J., Wills-Johnson G.: Structure-activity relationships in coeliac-toxic gliadin peptides. *Amino Acids* 2001, **21**, 243-253.
- [10] Czarniecki T., Targoński Z.: Alergeny i alergię pokarmowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **1**, 19-33.
- [11] Darewicz M., Dziuba J., Minkiewicz P.: Computational characterisation and identification of peptides for *in silico* detection of potentially celiac-toxic proteins. *Food Sci. Technol. Int.*, 2007 (w druku).
- [12] Dewar D., Pereira S.P., Ciclitira P.J.: The pathogenesis of coeliac disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, **36**, 17-24.
- [13] Dunkan A., Park R.P., Lee F.D.: A retrospective assesment of the clinical value of jejunal disaccharidase analysis. *Scand. J. Gastroenterol.*, 1994, **29**, 1111-1116.
- [14] Dziuba J., Iwaniak A., Niklewicz M.: Baza danych białek i biologiczne aktywne peptydów BIOPEP, 2003, <http://www.uwm.edu.pl/biochemia>.
- [15] Dziuba J., Iwaniak A.: Database of protein and bioactive peptide sequences. In: *Nutraceutical proteins and peptides in health and diseases* – ed. Y. Mine i F. Shahidi. CRC - Taylor & Francis, Boca Raton, London 2006, pp. 543-563.
- [16] Dziuba M., Dziuba J., Iwaniak A.: Bioinformatics-aided characteristics of the structural motifs of selected potentially celiac-toxic proteins of cereals and leguminous plants. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **2** (w druku).
- [17] Dziuba J., D. Nałęcz, P. Minkiewicz, A. Hanasiewicz.: The application of ultrafiolet spectroscopy to discriminate wheat α/β and γ -gliadins separated using high-performance liquid chromatography. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007 (w druku).
- [18] Egan C.A., Smith E.P., Taylor T.B., Eyer L.J., Samowitz W.S., Zone J.J.: Linear IgA bullous dermatosis responsive to a gluten-free diet. *Am. J. Gastroenterol.*, 2001, **96**, 1927-29.
- [19] Farrell R.J., Kelly C.P.: Celiac sprue. *N. Engl. J. Med.*, 2002, **346**, 180-88.
- [20] Fergusson A.: Clinical and pathological spectrum of celiac disease-active, silent, latent, potential. *Gut*, 1993, **34**, 150-151.
- [21] Gendel S. M., Jenkins J. A.: Allergen sequence databases. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2006, **50**, 628-632.


- [22] Hallert C., Grand C., Grehn S.: Evidence of poor vitamin status in celiac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2002, **16**, 1333-1339.
- [23] Holgate S.T., Church M.K., Lichtenstein L.M.: *Allergy*, 2nd edn, Mosby, St Louis, 2001.
- [24] Huggett A.C., Hitchenhuber C.: Food manufacturing initiatives to protect the allergic consumer. *Allergy*, 1998, **53 (Suppl. 46)**, 89-92.
- [25] Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. WHO, Rome 1981, p. 118.
- [26] Kasarda D.D.: Glutenin polymers: the in vitro to in vivo translation. *Cereal Foods World*, 1999, **44**, 566-571.
- [27] Kączkowski J.: Nowe poglądy na strukturę i funkcje białek zapasowych zbóż na przykładzie pszenicy (*Triticum aestivum L.*). *Biul. IHAR.*, 2002, **223 (224)**, 3-31.
- [28] Klincewicz P., Grzymisławski M., Klincewicz B.: Leczenie żywieniowe w celiakii. *Żyw. Czł. Met.*, 2004, **2 (31)**, 140-150.
- [29] Kłys W., Kochanowicz H.: Produkty bezglutenowe i ich rola w leczeniu celiakii. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1996, **9**, 8-11.
- [30] Kong X., Zhou H., Qian H.: Enzymatic preparation and functional properties of wheat gluten hydrolysates. *Food Chem.*, 2007, **101**, 615-620.
- [31] Lundin K.E.A.: Coeliac disease – all questions answered? *Digest Liver Dis.*, 2002, **34**, 238-242.
- [32] Mann M., Wilm M.: Error-tolerant identification of peptides in sequence databases by peptide sequence tags. *Anal. Chem.*, 1994, **66**, 4390-4399.
- [33] Marh M.: Gluten major histocompatibility complex and the small intestine: A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity. *Gastroenterology*, 1992, **102**, 330-354.
- [34] Mora S.: Reversal of low bone density with a gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1998, **67 (3)**, 477-481.
- [35] Neuhausen S.L., Feolo M., Camp N.J., Farnham J., Book L., Zane J.J.: Genome-wide linkage analysis for celiac disease in North American Families. *Am. J. Medical Genet.*, 2002, **111**, 1-9.
- [36] Nieuwenhuizen W.F., Pieters R.H.H., Knippels L.M.J., Jansen M.C.J.F., Koppelman S.J.: Is *Candida albicans* a trigger in the onset of coeliac disease? *Lancet*, 2003, **361**, 2152-2154.
- [37] Poms R.E., Klein C.L., Anklam E.: Methods for allergen analysis in food: a review. *Food Addit. Contam.*, 2004, **21 (1)**, 1-31.
- [38] Sampson H.A.: Update on food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, **113**, 805-819.
- [39] Sathe S.K., Kshirsagar H.H., Roux K.H.: Advances in seed protein research: A perspective on seed allergens. *J. Food Sci.*, 2005, **6**, 93-120.
- [40] Schlessinger A., Ofra Y., Yachdav G., Rost B.: Epitome: database of structure-inferred antigenic epitopes. *Nucl. Acids Res.*, 2006, **34**, D777-D780.
- [41] Schuppan D., Cicocioppo R.: Coeliac disease and secondary autoimmunity, *Digest Liver Dis*, 2002, **34**, 13-15.
- [42] Shan L., Molberg Ø., Parrot I., Hausch F., Filiz F., Gray G.M., Sollid L.M., Khosla C.: Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*, 2002, **297**, 2275-2279.
- [43] Shan L., Martin T., Sollid L. M., Gray G. M., Khosla C.: Comparative biochemical analysis of three bacterial prolyl endopeptidases: implications for coeliac sprue. *Biochem. J.*, 2004, **383**, 311-31.
- [44] Shewry P.R., Tatham A.S., Forde J., Kreis M., Mifflin B.J.: The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. *J. Cereal Sci.*, 1986, **4**, 97.
- [45] Shewry P.R., Napier J.A., Tatham A.S.: Seed storage proteins: Structures and biosynthesis. *Plant Cell* 1995, **7**, 945-956.
- [46] Sicherer S.H.: Food allergy. *Lancet*, 2002, **360**, 701-710.

- [47] Siegel M., Bethune M.T., Gass J., Ehren J., Xia J., Johannsen A., Stuge T.B., Gray G.M., Lee P.P., Khosla C.: Rational design of combination enzyme therapy for celiac sprue. *Chem. Biol.*, 2006, **13**, 649-658.
- [48] Stern M., Ciclitira P.J., van Eckert R., Feifhery C., Janssen W., Mendez E., Mothes Th., Troncione R., Wieser H.: Analysis and clinical aspects of gluten in coeliac disease, *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2001, **13**, 741-747.
- [49] Storsund S., Olsson M., Arvidsson Lenner R., Nilsson L.A., Nilsson O., Kilander A.: Adult coeliac patients do tolerate large amounts of oats. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2003, **57**, 163-169.
- [50] Thompson J.D., Higgins D.G. and Gibson T.J.: CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple alignment through sequence weighting position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.*, 1994, **22**, 4673-4680.
- [51] Vader L. W., de Ru A., van der Wal Y., Kooy Y. M., Benckhuijsen W., Mearin M. L., Drifhout J. W., van Weelen P., Koning F.: Specificity of tissue transglutaminase explains cereal toxicity in celiac disease. *J. Exp. Med.*, 2002, **195**, 643-649.
- [52] Van Belzen M.J., Mulder C.J.J., Pearson P.L., Houwen R.H.J., Wijmenga C.: The tissue transglutaminase gene is not primary factor predisposing to celiac disease, *Am. J. Gastroenterol.*, 2001, **96** (12), 3337-3340.
- [53] Veraverbeke W.S., Delcour J.A.: Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2002, **42** (3), 179-208.
- [54] Wieser H.: Relation between gliadin structure and celiac toxicity. *Acta Paediatr.*, 1996, **412**, 3-9.
- [55] Yucel B., Ozbey N., Demir K., Polat A., Yager J.: Eating disorders and celiac disease: A case report. *Int. J. Eat. Disord.*, 2006, **39**, 530-532.
- [56] Zaroni G., Navone R., Lunardi C., Tridente G., Bason C., Sivori S., Beri R., Dolcino M., Valetta E., Corrocher R., Puccetti A.: In celiac disease, a subset of autoantibodies against transglutaminase binds toll-like receptor 4 and induces activation of monocytes. *PLoS Medicine*, **3**, 1637-1653.

DIET-RELATED NATURE OF FOOD ENTEROPATHY AS EXEMPLIFIED BY CELIAC DISEASE

Summary

Results of the study on the etiology, clinical symptoms, molecular and analytical aspects, as well as the importance of nourishment for celiac disease were presented and analyzed in the paper. Celiac disease is the gluten enteropathy with the alterations of the mucous membrane of the small intestine that respond to the nongluten-diet treatment. It is one of the most widespread studied autoimmune disease of the small intestine and the stomach that is induced by ingestion of gluten proteins from wheat, barley, or rye. A few hypotheses explain the mechanism leading to the destruction of the small intestine villous structure. The increased content of the tissue transglutaminase was found for celiac patients and was suggested to play the key role in celiac etiology. It has been demonstrated that the toxicity of cereals prolamins depends on their structure i.e. amino acid types and sequences in their polypeptide chains. The peptides from A-gliadin, whose toxicity was confirmed with *in vivo* assays, always contain one of the four motifs of amino acid sequences: PSQQ; QQQP; QQPY or QPYP. It was found that properly constructed diet has the basic importance in the preventive treatment of celiac disease. So far, the controversy concerning the toxicity of oat avenin for celiac patients is unsolved.

Key words: celiac disease, gliadins, gluten, prolamins, toxic-peptides 

ANNA ZIEMBIŃSKA, GRAŻYNA KRASNOWSKA

ZAPEWNIENIE BEZPIECZEŃSTWA ZDROWOTNEGO W OBRODZIE TUSZAMI ZWIERZĄT ŁOWNYCH

Streszczenie

Na jakość konsumpcyjną i przetwórczą dziczyzny zasadniczy wpływ ma zarówno gatunek, stan zdrowotny, wiek, płeć upolowanej zwierzyny, jak i prawidłowość prowadzenia zabiegów poubojowych w łowisku. Natomiast gwarancją bezpieczeństwa zdrowotnego dziczyzny jest poprawność uboju zwierzyny łownej, higiena jej patroszenia i prawidłowość wystudzenia oraz dalsze postępowanie w punktach skupu i transporcie. W celu usprawnienia funkcjonowania przedsiębiorstw zajmujących się pozyskiwaniem i przetwórstwem dziczyzny oraz zapewnienia kontrolowanej jakości otrzymywanych wyrobów korzystne byłoby wprowadzenie jednolitych zasad postępowania, dostosowanych do wymagań określonych w przepisach weterynaryjnych, Prawie łowieckim oraz prawie żywnościowym.

Słowa kluczowe: dziczyzna, tusze zwierząt łownych, bezpieczeństwo żywności

Wprowadzenie

Na rynku występuje coraz większy wybór artykułów spożywczych, co wiąże się ze wzrostem produkcji i oferty producentów krajowych oraz otwarciem granic na rynki innych państw. Jednocześnie ze wzrostem podaży rosną oczekiwania klientów wobec nabywanych produktów. Mają one być nie tylko bezpieczne, ale także powinny mieć odpowiednią wartość odżywczą i cechować się pożądanymi walorami sensorycznymi. Wzrastająca świadomość konsumentów dotycząca powiązania niewłaściwego sposobu odżywiania z rozwojem chorób cywilizacyjnych oraz pojawiające się zagrożenia, jak: dioksyny w mięsie drobiu, BSE krów czy pryszczycyca, przyczyniają się do obserwowanej tendencji zmniejszania spożycia mięsa, a w szczególności mięsa czerwonego [5]. Surowcem alternatywnym mięsa zwierząt rzeźnych może być mięso zwierząt dziko żyjących. Ma ono cenne walory zarówno smakowe, jak i odżywcze. Zwierzęta dzikie, odławiane przez człowieka ze swojego naturalnego środowiska, żywią się karmą, którą

Mgr inż. A. Ziemińska, dr hab. G. Krasnowska, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. C.K. Norwida 25/27, 50-375 Wrocław

same wybierają, bez znaczącej ingerencji człowieka [4]. Rosnąca popularność tego mięsa przyczyniła się do rozwoju jego przetwórstwa. W Europie pozyskiwanie i przetwórstwo mięsa zwierząt dziko żyjących, łownych, rozwinęło się na szeroką skalę (produkcja krajowa i na eksport) w takich krajach, jak: Polska, Austria, Węgry, Słowenia. W Niemczech produkcja ma charakter lokalny, podobnie, jak we Francji, Czechach, Anglii, Szkocji czy Hiszpanii [1]. Ujęcie przetwórstwa mięsa pochodzącego ze zwierząt dziko żyjących, w tworzonym prawie wspólnotowym, przekłada się na dostępność wyrobów z tego mięsa oraz na ich jakość, a także wzrost zainteresowania ze strony konsumentów.

Zwierzyna łowna w Polsce

Do zwierząt łownych zalicza się gatunki dzikich ssaków lądowych oraz dzikich ptaków, na które człowiek poluje w celu pozyskania wartościowego mięsa, cennych skór, trofeów. W Polsce, zgodnie z podziałem łowieckim, zwierzęta łowne dzieli się na dwie zasadnicze grupy [16]:

Tabela 1

Odstrzał i odłów niektórych zwierząt łownych.
Selected species of game shot, trapped.

Zwierzęta łowne / Game species	Rok 2004 – 2005 / Year 2004 - 2005
Odstrzał [tys. szt.] / Shot in thous. heads	
Sarny / Roe deer	151
Dziki / Wild boars	136
Lisy / Foxes	145
Bazanty / Pheasants	97
Jelenie / Deer	39
Zająca / Hares	31
Kuropatwy / Partridges	16
Daniele / Fallow deer	3,0
Ogółem / Total	618
Odłów [szt.] / Trapped in thous.heads	
Zająca / Hares	2122
Kuropatwy / Partridges	168
Ogółem / Total	2290

Źródło: Dane Ministerstwa Środowiska oraz Polskiego Związku Łowieckiego; dotyczą roku łowieckiego tj. okres od 1 IV danego roku do 31 III następnego roku.

Source: Ministry of Environment and Polish Hunting Association data, referring to hunting year from April 1 to the end of march of the following year.

- a) zwierzyna gruba – zalicza się do niej m.in.: jelenia szlachetnego, jelenia sika, sarnę, łosia, daniela, muflona, dzika;
- b) zwierzyna drobna – w skład tej grupy wchodzi m.in.: zając szarak, dziki królik, bażant, kuropatwa, kaczki i gęsi łowne.

W latach 2004 – 2005 pozyskanie niektórych zwierząt łownych w Polsce oszacowano na ponad 620 tys. sztuk, z czego 618 tys. sztuk pozyskano w wyniku odstrzału, a 2290 sztuk w wyniku odłowu (tab. 1) [9].

Mięso zwierząt łownych jako surowiec konsumpcyjny

Mięso zwierząt łownych, pozyskane najczęściej w wyniku odstrzału, takich gatunków, jak:łoś, jelen, daniel, sarna, dzik, zając, królik, bażant, kuropatwa, krzyżówka i cyranka, nazywa się dziczyzną i zagospodarowuje w dwojaki sposób. Część tusz upolowanych zwierząt udostępniana jest myśliwym na własny użytek (dotyczy to głównie tuszy dzików, rzadziej jeleni), jednak znaczna większość pozyskanego surowca sprzedawana jest firmom, które prowadzą działalność związaną z obrotem dziczyzną, zgodnie z przepisami obowiązującego prawa [cyt. za 3].

Dziczyzna ceniona jest szczególnie ze względu na swoje walory dietetyczne. Mięso zwierząt łownych, w odróżnieniu od zwierząt gospodarskich, cechuje się niską zawartością tłuszczu, średnio od 0,3% w mięsie danieli do 5% w mięsie jeleni, a przy tym tusze cechują się wyższą mięsnością w porównaniu z bydłem. Średnia wartość energetyczna kształtuje się na poziomie od 95 kcal/100 g mięsa z daniela do 125 kcal/100 g mięsa z dzika, podczas, gdy odpowiednia średnia wartość energetyczna wołowiny wynosi 140 kcal/100 g. Mięso zwierzyny leśnej poza niską kalorycznością odznacza się również wyższą zawartością pełnocennego białka, jest go nawet do 5% więcej niż w mięśniach zwierząt gospodarskich. Surowiec mięsny pozyskany ze zwierząt łownych poza takimi walorami, jak: wysoka przyswajalność, wartość odżywcza, duża zawartość białka, a mała tłuszczu oraz właściwy stosunek kwasów tłuszczowych nienasyconych do nasyconych, jest także cennym źródłem witamin takich, jak: retinol, tiamina, ryboflawina, pirydoksyna, kobalamina, niacyna oraz składników mineralnych: sodu, potasu, wapnia i cynku [4, 6, 7].

Regulacje prawne

Warunki pozyskiwania i obrotu dziczyzną podlegają przepisom prawnym dotyczącym żywności oraz innym szczegółowym aktom prawnym. Są to:

- Dyrektywa Rady 92/45 z 16 czerwca 1992 r. (Dz. U. W. E. L268) w sprawie zdrowia publicznego i problemów zdrowotnych zwierząt odnoszących się do odstrzału dzikiej zwierzyny oraz wprowadzania do obrotu mięsa zwierząt łownych;

- Ustawa z dnia 14 lutego 2003 r. o zmianie ustawy o zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, badaniu zwierząt rzeźnych i mięsa oraz o Inspekcji Weterynaryjnej oraz niektórych innych ustaw (Dz. U. 2003, nr 52, poz. 450);
- Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego;
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 15 lipca 2004 r. (Dz. U. 2004, nr 169, poz. 1778 ze zm. z dnia 10 marca 2005 r. Dz. U. 2005, nr 44, poz. 430) w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji i dla produktów z mięsa zwierząt łownych umieszczanych na rynku;
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z 11 marca 2005 r. (Dz. U. 2005, nr 45, poz. 433) w sprawie ustalenia listy gatunków zwierząt łownych;
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z 23 marca 2005 r. (Dz. U. 2005, nr 61, poz. 548) w sprawie szczegółowych warunków wykonywania polowania i znakowania tusz;
- Ustawa z 13 października 1995 r. Prawo łowieckie (jednolity tekst Dz. U. 2005, nr 127, poz. 1066)
- Ustawa z 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. Dz. U. 2006 r. Nr 171, poz. 1225

Zgodnie z treścią ww. przepisów mięso (dziczyzna), które trafia do konsumpcji, powinno pochodzić ze zwierząt łownych, które:

- zostały ubite na skutek odstrzału, w sposób określony w przepisach łowieckich;
- zostały odstrzelone w obszarze niepodlegającym ograniczeniom ze względu na zdrowie zwierząt;
- przewieziono niezwłocznie po odstrzale do zatwierdzonego zakładu przetwórstwa lub punktu skupu;
- poddano obróbce przy zachowaniu wymagań weterynaryjnych;
- poddano badaniu przez urzędowego lekarza weterynarii;
- nie wykazywały żadnych zmian chorobowych, które mogłyby spowodować niezdatność mięsa do spożycia przez ludzi lub stanowić zagrożenie dla zdrowia publicznego.

Lekarz weterynarii uznaje mięso zwierząt łownych jako zdatne do spożycia na podstawie przeprowadzonego badania sanitarno-weterynaryjnego, podczas którego dokonuje oględzin nieoskórowanej, jak i oskórowanej zwierzyny łownej i jej narządów wewnętrznych, określa konsystencję, zabarwienie i ewentualnie zapach tuszy. Jeśli wyniki oględzin nie pozwalają na dokonanie oceny, przeprowadza badania laboratoryjne, a w przypadku mięsa pochodzącego z tusz dzików wykonuje obowiązkowe badanie na obecność włośni. Jeżeli badana tusza nie budzi zastrzeżeń, co do spożycia przez ludzi znakowana jest pięciokątem, który zawiera następujące informacje: w gór-

nej części umieszczone są litery PL, w środku weterynaryjny numer identyfikacyjny zakładu, a w dolnej litery EWG.

Natomiast, jeżeli badanie po odstrzeleniu zwierzęcia wykazało: obecność włośni, zapalenie stawów, jąder lub jelit, liczne guzy lub ropnie, zmiany w wątrobie lub śledzionie, obecność ciał obcych w jamach ciała, znaczną ilość gazów w żołądku i jelitach, wraz z odbarwieniem narządów wewnętrznych, zmiany barwy, zapachu, smaku lub konsystencji, zmiany gnilne, złamania otwarte niezwiązane bezpośrednio z polowaniem, wychudzenie, ogólny lub miejscowy obrzęk lub inne zmiany chorobowe, mięso z takiego zwierzęcia kwalifikuje się jako niezdatne do spożycia i umieszcza na nim znak weterynaryjny w kształcie trójkąta równobocznego, skierowanego wierzchołkiem do góry o długości boku 5 cm, zawierającym w górnej części litery PL, a w dolnej części litery IW [15].

Warunki pozyskiwania i obrotu dziczyzną a jej jakość i bezpieczeństwo

Warunki pozyskiwania mięsa zwierząt łownych, w przeciwieństwie do zwierząt gospodarskich, są trudniejsze do precyzyjnego określenia, stąd też wynikają inne wymagania zdrowotne. Dlatego tak istotne jest, aby było pozyskiwane z pełną wiedzą o potencjalnych zagrożeniach środowiskowych, a zabiegi przeprowadzane z odstrzeloną zwierzyną w terenie łowieckim powinny w maksymalny sposób ograniczać zanieczyszczenie mięsa.

Na jakość konsumpcyjną i przetwórczą dziczyzny ma zasadniczy wpływ nie tylko gatunek, zdrowie, wiek, płeć upolowanej zwierzyny, kształtuje je również prawidłowość prowadzenia zabiegów poubojowych w łowisku. Natomiast gwarancją bezpieczeństwa zdrowotnego dziczyzny jest poprawność uboju zwierzyny łownej, higiena jej patroszenia i prawidłowość wystudzenia oraz dalsze postępowanie w punktach skupu i transporcie [4, 10, 14].

W celu uzyskania dziczyzny najwyższej jakości, a także zabezpieczenia jej przed niepożądanymi zmianami należy przestrzegać następujących zasad [11]:

- polowanie powinno mieć miejsce przy sprzyjających warunkach atmosferycznych, chroniących tusze przed zamoczeniem lub zabrudzeniem np. błotem;
- należy zwrócić szczególną uwagę na celność strzału, myśliwi nie powinni strzelać w cenne jakościowo partie zwierzęcia, ale te, których wartość kulinarna jest mniejsza np. głowę i nie naruszać trzewi;
- zranioną zwierzynę należy dobić w możliwie najkrótszym czasie – zwierzynę płową strzałem w kark, dziki w głowę, zające uderzeniem kantem dłoni w nasadę łba za uszami;
- zwierzynę grubą zaraz po ubiciu należy prawidłowo wypatroszyć; po wypatroszeniu należy podnieść przód tuszy do góry w celu ułatwienia wycieku farby (krwi);
- przed transportem należy tuszę wystudzić w celu uniknięcia zaparzenia;

- należy ograniczyć czas transportu tuszy z łowiska do miejsca przeznaczenia;
- podczas transportu tusze powinny w miarę możliwości być powieszane i nie powinny się ze sobą stykać w celu uniknięcia zaparzenia.

Patroszenie ubitej zwierzyny

Patroszenie (wytrzewianie) to zabieg przeprowadzany w łowisku (w szczególnych przypadkach w punkcie skupu lub zakładzie przetwórczym) polegający na usunięciu narządów wewnętrznych z jamy brzusznej i klatki piersiowej zwierzęcia, należących do układu pokarmowego, oddechowego, moczowego, płciowego i wewnątrzwydzielniczego [7]. Zaniechanie tego zabiegu przyczynia się do zakażenia wewnętrznego tuszy, sprzyja silnemu rozwojowi mikroflory patogennej, a w następstwie rozwojowi procesów gnilnych, uszkadzających trwale surowiec.

Podczas przeprowadzania wytrzewiania tusz upolowanej zwierzyny, w celu zachowania jej jakości i bezpieczeństwa zdrowotnego, należy zwrócić uwagę na istotne czynniki [2, 4, 7, 11]:

- tusze należy przenieść na czas patroszenia w miejsce ocienione i przewiewne, unikając zabrudzenia skóry (przeciąganie z włosem a nie pod włos);
- pierwszą czynnością, która zapobiega przykrej woni tuszy jest usunięcie jąder (u grubej zwierzyny) lub moczu (u zającowatych);
- należy przewiązać przełyk po oddzieleniu od tchawicy, aby uniknąć wylania się treści pokarmowej – zabrudzenie nią tuszy sprzyja rozwojowi niepożądanego mikroflory, przyspieszającej procesy rozkładowe;
- należy dokładnie opróżnić jamę ciała z narogów (jadalne części tuszy: serce, nerki, płuca, wątroba) i patrochów (części niejadalne: żołądek, śledziona, jelita), należy je zabezpieczyć do momentu badania weterynaryjnego;
- nie wolno dopuścić do rozlania żółci, ponieważ wątroba mająca z nią kontakt nie nadaje się do konsumpcji;
- należy podciąć grube naczynia krwionośne wewnątrz tuszy w celu dokładniejszego wykrwawienia mięśni (krew w nich obecna jest doskonałą pożywką dla bakterii);
- należy oczyścić ranę postrzałową za pomocą suchych ścierek, w żadnym przypadku nie wolno tuszy polewać wodą (zmniejsza to trwałość);
- należy tuszę wystudzić do temperatury otoczenia, aby zapobiec rozwojowi mikroorganizmów mezofilnych;
- aby przyspieszyć wychłodzenie tusze należy ją naciąć w pachwinach;
- czas studzenia tuszy zależy od jej masy, temperatury, ruchu powietrza i pory roku.

Transport tusz zwierzyny łownej

Odpowiednie środki transportu pozwalają zachować jak najdłuższą trwałość surowca, chronią przed negatywnym wpływem czynników zewnętrznych, zabezpieczają

tuszę przed jej uszkodzeniem, zanieczyszczeniem, a także ograniczają rozwój flory przyspieszającej psucie się mięsa.

Tusze upolowanej zwierzyny powinno się przewozić specjalnie do tego celu przygotowanymi środkami transportu, czyli powinny mieć ściany i podłogi wykonane ze stali nierdzewnej lub blachy aluminiowej lub pokryte masą plastyczną. Powinny umożliwiać przewóz surowca w pozycji wiszącej tak, aby tusze nie stykały się ze sobą, nie dotykały podłogi, przewóz na leżąco powinien być maksymalnie ograniczony [2, 4, 11].

Odbiór ilościowy i jakościowy upolowanej zwierzyny ma miejsce w punkcie skupu lub w zakładzie przetwórczym, gdy ten bezpośrednio skupuje tusze od myśliwych bądź dokonuje oceny na własny użytek już sklasyfikowanych pod względem wagowym i jakościowym tusz.

Zgodnie z polskimi regulacjami prawnymi czas dostarczenia tusz do zakładu przetwórstwa lub punktu skupu wynosi 12 godz. po odstrzale. W przypadku zwierząt łownych odstrzelonych w dużej odległości od zakładu czas transportu może być dłuższy, jeżeli pozwalają na to warunki klimatyczne (zapisy w Dyrektywie 92/45 nie zezwalają na takie ustępstwa). Punkty skupu, przy zachowaniu warunków higieny i temperatury właściwej dla danego rodzaju mięsa, powinny dostarczyć przechowywany surowiec w ciągu 12 godz. do zakładu przetwórczego.

Organizacja punktu skupu

Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji i dla produktów z mięsa zwierząt łownych umieszczanych na rynku [15] oraz Dyrektywa Rady 92/45 [12] określa punkt skupu jako miejsce, w którym odstrzelone zwierzęta łowne są przechowywane w warunkach higienicznych przed przewiezieniem do zakładu obróbki, a jego zadania powinny się ograniczać do dwóch zasadniczych funkcji:

- zapewnienia higienicznych i chłodniczych warunków do przetrzymywania tusz zwierząt łownych
- skompletowania odpowiedniej liczby tusz w celu ich ekonomicznego transportu do zakładu przetwórstwa.

W Polsce funkcjonuje około 1500 punktów skupów. Punkt skupu powinien być zgłoszony do nadzoru Powiatowej Inspekcji Weterynaryjnej, mieć numer ewidencyjny nadany przez Powiatowego Lekarza Weterynarii, prowadzić ewidencję działalności, znakować tusze i jej narogi w celu identyfikacji, spełniać warunki techniczne odpowiadające przepisom MRiRW [13, 15, 17]. Punkt skupu powinien mieć pomieszczenie do przyjmowania odstrzelonych zwierząt łownych oraz pomieszczenie do składowania tusz i narogów, wyposażone w urządzenie chłodnicze zapewniające utrzymanie odpowiedniej temperatury (zgodnie z polskim prawem jest to temperatura od -1 do +7°C, gdy czas przechowywania wynosi maksymalnie 7 dni, przy 15 dniach składowania

surowiec powinien być schłodzony w zakresie temperatury od -1 do $+1^{\circ}\text{C}$). Ponadto w punkcie skupu należy zapewnić wydzielone miejsce do składowania środków myjących i odkażających (stosowanie tych środków nie może stwarzać zagrożenia przechowywanego surowca). Punkt skupu powinien być także zaopatrzone w zimną i ciepłą wodę (wymagana umywalka wyposażona w środki do mycia rąk i ich suszenia) oraz zabezpieczony przed dostępem gryzoni i owadów [15, 18].

W ostatnich latach obserwuje się coraz większe trudności w prowadzeniu punktów skupu, pojawiające się problemy są następstwem zmian w przepisach prawnych związanych z członkostwem Polski w Unii Europejskiej, zwiększeniem konkurencji na rynku skupu dziczyzny oraz zaniedbaniami ze strony myśliwych.

W dużej liczbie działających punktów skupu odnotowuje się obniżenie jakości gromadzonych tusz. Punkty skupu, które stawiają wysokie wymagania odnośnie jakości przyjmowanego surowca muszą się liczyć z tym, że dostawcy kierując się większym zyskiem, korzystają z oferty punktów firm konkurencyjnych.

Często tusze dostarczane przez myśliwych do punktu skupu mają oznaki niewłaściwego postępowania z upolowaną zwierzyną w łowisku i podczas transportu. Surowiec cechuje się obniżoną jakością na skutek nie oczyszczenia ran postrzałowych, niewłaściwego i niedokładnego patroszenia i wykrwawienia, miejscowych zaparzeń.

Rozporządzenie Ministra Środowiska w sprawie szczegółowych warunków wykonywania polowania i znakowania tusz [17] przeniosło obowiązek znakowania tusz i ich narogów z myśliwych na pracowników punktów skupu. Przyczyniło się to do obniżenia kosztów (znaczniki kupowane przez Koła Łowieckie były do pięciu razy droższe od tych, w które zaopatrują się firmy skupujące dziczyznę) i skrócenia czasu manipulowania przy tuszy w łowisku. Jednak brak znakowania tuszy zaraz po odstrzale stwarza możliwość pomyłek, a nawet celowych, niezgodnych z prawem działań. Duże zagrożenie stwarza także zwolnienie z obowiązku znakowania tusz przeznaczanych na własny użytek myśliwych, ponieważ nieoznakowanie tuszy uniemożliwia ich szybką identyfikację z obwodem łowieckim, co ma duże znaczenie w przypadku wykrycia ognisk chorób odzwierzęcych.

Brak harmonizacji w przepisach prawnych ma swoje odzwierciedlenie także w nadzorze sanitarno-weterynaryjnym, np.: rozporządzenie w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji i dla produktów z mięsa zwierząt łownych umieszczanych na rynku [15] ustala konieczność zapewnienia zimnej i ciepłej wody w punkcie skupu, ale nie definiuje czy ma być to woda zdatna do picia i czy mają być przeprowadzane jej badania (w związku z powyższym przeprowadzanie badań przez organy Inspekcji Sanitarnej nie ma podstawy prawnej). Rozporządzenie szczegółowo opisuje wymagania lokalizacyjne, techniczne i technologiczne dla zakładów przetwórstwa dziczyzny, punkt skupu zobowiązuje tylko do posiadania odpowiednich pomieszczeń do przyjmowania tusz, ich składowania, nie definiuje natomiast jak powinny być wyposażone [8].

Podsumowanie

W związku z nadrzędną zasadą zapewnienia bezpieczeństwa żywności wydaje się celowe wymaganie i egzekwowanie od myśliwych znajomości przepisów obowiązujących przy postępowaniu z dziczyzną w łowisku, ponieważ od ich wiedzy i umiejętności zależy w dużym stopniu jakość dostarczanego do przetwórstwa surowca. Ważne jest także, aby punkty skupu, objęte definicją „produkcji pierwotnej”, zapewniły właściwe warunki przechowywania surowca. Usprawnieniem ich działalności byłoby wprowadzenie jednolitych zasad postępowania przy skupie i przechowywaniu tusz zwierząt łownych i ich części w postaci opracowanego i dostosowanego do potrzeb danego punktu skupu kodeksu dobrych praktyk. Kodeks GMP/GHP dla firm prowadzących działalność w tym zakresie powinien zharmonizować ich pracę z wymaganiami stawianymi przez przepisy weterynaryjne, Prawo łowieckie oraz inne wynikające z obowiązującego prawa żywnościowego.

Literatura

- [1] Bertolini R., Zgrablic G., Cuffolo E.: Wild game meat: Products, market, legislation and processing controls. *Veterinary Research Communications*, 2005, **29 (Supl. 2)**, 97-100.
- [2] Biały K.: Podstawy łowiectwa. Wyd. Łowiec Polski, Warszawa 1994.
- [3] Błaszczak J.: Informacja o gospodarce łowieckiej, kłusownictwie, skupie dziczyzny w lasach państwowych. Mat. Konf. nt.: „Pozyskiwanie, obróbka i obrót dziczyzną w świetle integracji z Unią Europejską” 16.01.2004 SGGW, Warszawa 2004.
- [4] Dzierżyńska-Cybulko B.: Poubojowe zabiegi w łowisku i ocena ubitej zwierzyny. W: *Dziczyzna jako źródło żywności: wartość żywieniowa i przetwórcza*. PWRiL, Poznań 1997.
- [5] Hoffman L. C., Wiklund E.: Game and venison – meat for the modern consumer. *Meat Science*, 2006, **74**, 197-208.
- [6] Irańska E., Miliński A., Opiela P., Cybulko B.: Charakterystyka morfologiczna i fizykochemiczna tuszy dzika. Materiały seminarium, 12-13.09.1996, Olsztyn 1996.
- [7] Jóźwiak Z., Biały K.: Słownik podstawowych terminów łowieckich i ekologicznych. Wyd. Łowiec Polski, Warszawa 1994.
- [8] Nowaczyk J.: Problemy związane ze skupem i eksportem dziczyzny. Mat. Konf. nt.: „Pozyskiwanie, obróbka i obrót dziczyzną w świetle integracji z Unią Europejską” 16.01.2004 SGGW, Warszawa 2004.
- [9] *Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej*. GUS. Rok LXIV, Warszawa 2005.
- [10] Szyborski J.: Warunki weterynaryjne pozyskiwania dziczyzny. Mat. Konf. nt.: „Pozyskiwanie, obróbka i obrót dziczyzną w świetle integracji z Unią Europejską” 16.01.2004 SGGW, Warszawa 2004.
- [11] Tropiło J.: Badanie i ocena sanitarno-weterynaryjna dziczyzny. Wyd. SGGW, Warszawa 1998.
- [12] Dyrektywa Rady 92/45 z 16 czerwca 1992 r. (Dz. U. W. E. L268) w sprawie zdrowia publicznego i problemów zdrowotnych zwierząt odnoszących się do odstrzału dzikiej zwierzyny oraz wprowadzania do obrotu mięsa zwierząt łownych.
- [13] Ustawa z dnia 14 lutego 2003 r. o zmianie ustawy o zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, badaniu zwierząt rzeźnych i mięsa oraz o Inspekcji Weterynaryjnej oraz niektórych innych ustaw (Dz. U. 2003 r. Nr 52, poz. 450).

- [14] Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego.
- [15] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 15 lipca 2004 r. (Dz. U. 2004 r. Nr 169, poz. 1778 ze zm. z dnia 10 marca 2005 r. Dz. U. 2005 r. Nr 44, poz. 430) w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji i dla produktów z mięsa zwierząt łownych umieszczanych na rynku.
- [16] Rozporządzenie Ministra Środowiska z 11 marca 2005 r. (Dz. U. 2005r. Nr 45, poz. 433) w sprawie ustalenia listy gatunków zwierząt łownych.
- [17] Rozporządzenie Ministra Środowiska z 23 marca 2005 r. (Dz. U. 2005 r. Nr 61, poz. 548) w sprawie szczegółowych warunków wykonywania polowania i znakowania tusz.
- [18] Ustawa z 13 października 1995 r. Prawo łowieckie (jednolity tekst Dz. U. 2005 r. Nr 127, poz. 1066).
- [19] Ustawa z 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. Dz. U. 2006 r. Nr 171, poz. 1225.

THE ASSURANCE OF FOOD SAFETY IN WILD GAME CARCASS TRADING

S u m m a r y

The consumption and processing quality of venison is influenced by animal species, health, age and gender as well as after-slaughter processes in the hunting site. Food safety of venison depends on slaughter, hygiene of exsanguinations, chilling and further procedures in trade centers and during handling and transport. It seems justifiable to establish uniform, transparent regulations for the companies and businesses dealing with venison, so that quality assurance of subsequent products could be controlled and would be in compliance with veterinary regulations, hunting laws and food law regulations.

Key words: venison , game animal carcass, food safety ☒

KATARZYNA KAJAK, WIESŁAW PRZYBYLSKI, DANUTA JAWORSKA,
ELŻBIETA ROSIAK

CHARAKTERYSTYKA JAKOŚCI TECHNOLOGICZNEJ, SENSORYCZNEJ I TRWAŁOŚCI MIĘSA WIEPRZOWEGO O ZRÓŻNICOWANEJ KOŃCOWEJ WARTOŚCI pH

Streszczenie

Celem pracy była analiza cech technologicznych, sensorycznych oraz trwałości mięsa pochodzącego od tuczników w zależności od pH końcowego. Badania przeprowadzono na materiale 50 tuczników pochodzących z krzyżowania loch mieszańców ras polskiej białej zwistouchej i wielkiej białej polskiej z knurami hybrydami P76-PenArLan. Po uboju określono zawartość mięsa w tuszy oraz parametry charakteryzujące jakość mięsa bezpośrednio w próbkach mięśnia *longissimus dorsi* pobieranych za ostatnim zębem. Określono: wartość pH po 45 min, 24 i 48 godz. od uboju, jasność barwy w 48. i 96. godz. *post mortem* w systemie CIE $L^*a^*b^*$, wyciek naturalny i wskaźnik wydajności technologicznej „Napole”. Jakość sensoryczną mięsa (surowego i po obróbce termicznej) określono po 48 i 96 godz. od uboju metodą skalowania. W dniu uboju (0) oraz po 3, 6, 9, 12 i 15 dniach przechowywania mięsa wykonano analizy mikrobiologiczne w kierunku ogólnej liczby drobnoustrojów (OLD). Badaną grupę tuczników podzielono na 2 podgrupy: pierwszą grupę stanowiły tuczniaki o pH_{24} poniżej 5,5 (36%), natomiast drugą tuczniaki o pH_{24} powyżej 5,5. Mięso tuczników o niższym pH_{24} charakteryzowało się większym wyciekaniem (o 2,4%), wyższą wartością składowej barwy b^* w 48 godz. i składową a^* w 96 godz., niższą marmurkowością oraz wyższą akceptowalnością sensoryczną mięsa surowego. Uzyskano również wysoką zależność między pH mięsa a OLD ($r = 0,74^{**}$).

Słowa kluczowe: mięso wieprzowe, jakość technologiczna, jakość sensoryczna

Wprowadzenie

Jakość mięsa obejmuje aspekty bezpieczeństwa (obecność drobnoustrojów chorobotwórczych i zmniejszających trwałość mięsa, pasożytów, pozostałości leków, metali ciężkich, mikotoksyn), wartość odżywczą (zawartość białka, tłuszczu, witamin, soli mineralnych i węglowodanów), jego właściwości technologiczne (wodochłonność,

Dr inż. K. Kajak, dr hab. W. Przybylski, prof. SGGW, dr inż. D. Jaworska, dr inż. E. Rosiak, Zakład Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa

wartość pH, zawartość barwników, mięsność, otluszczenie, ścięgnistość) oraz cechy sensoryczne (barwa, zapach, kruchość, soczystość, smak). W wyniku przzerwiania procesów życiowych po uboju w mięśniach dochodzi do rozkładu glikogenu do kwasu mlekowego wchłanianego przez substancje białkowe włókien mięsnych. Zapoczątkowanie rozkładu białek pod wpływem enzymów zawartych w mięsie powoduje rozluźnienie tkanek, w wyniku czego mięso dojrzałe jest kruche, soczyste i ma przyjemny zapach. Zmienia się również pH końcowe mięsa, które jest głównym determinantem jego jakości. Wpływa na jego wodochłonność, barwę, kruchość, smakowitość i okres przydatności do spożycia [17].

Celem przedstawionych badań była analiza cech technologicznych, sensorycznych oraz trwałości mięsa pochodzącego od tuczników, w zależności od pH końcowego mięsa.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono na materiale 50 tuczników pochodzących z krzyżowania loch mieszańców ras polskiej białej zwisłouchej i wielkiej białej polskiej z knurami hybrydami P76-PenArLan. Po zakończeniu tuczu zwierzęta były ubijane w rzeźni ZM Mróz w Borzęcizkach według obowiązującej tam technologii. Po uboju na linii technologicznej na ciepłych wiszących tuszach określano zawartość mięsa w tuszy aparatem CGM. Cechy jakości mięsa badano w próbkach mięśnia *longissimus dorsi* pobieranych za ostatnim żebrzem.

Wartość pH mierzono bezpośrednio w tkance mięśniowej, w tuszy wiszącej, za pomocą pH-metru PM-600 w ciągu 45 min, 24 i 48 godz. od uboju. Jasność barwy określano w 48. i 96. godzinie *post mortem* za pomocą aparatu Minolta CR200b w systemie CIE L*a*b*. Określano wyciek naturalny według metodyki Prange [14] oraz wskaźnik wydajności technologicznej „Napole” charakteryzujący wydajność mięsa w procesie peklowania i gotowania podczas wyrobu szynki (TY).

Do oceny jakości sensorycznej mięsa surowego wybrano 30 próbek. Jakość sensoryczną mięsa (surowego i po obróbce termicznej) określano po 48 i 96 godz. od uboju metodą skalowania [13], stosując niestrukturowaną skalę graficzną. Ocenę jakości sensorycznej mięsa przeprowadził 10-osobowy przeszkolony zespół. W mięsie surowym oceniano wizualnie: intensywność barwy i jej jednolitość, stopień marmurkowości, wyciek oraz ogólną akceptację wyglądu. W próbkach mięsa po obróbce termicznej oceniano: typowość zapachu, ton i jednolitość barwy, kruchość, soczystość, sensoryczną wyczuwalność tłuszczu, smakowitość oraz jakość ogólną.

W dniu uboju (0) oraz po 3, 6, 9, 12 i 15 dniach przechowywania mięsa wykonano analizy mikrobiologiczne w kierunku ogólnej liczby drobnoustrojów (OLD) – na agarze odżywczym (temp. inkubacji 37°C, czas inkubacji 48 godz.) [12].

Badaną grupę tuczników podzielono na 2 podgrupy: pierwszą grupę stanowiły tuczniaki o pH_{24} poniżej 5,5 (36%), natomiast drugą tuczniaki o pH_{24} powyżej 5,5. Do ustalenia istotności różnic między średnimi obu grup zastosowano test t-Studenta.

Wyniki i dyskusja

Badane tuczniaki charakteryzowały się dość wysoką mięsnością tj. na poziomie zbliżającym się do 57% mięsa w tuszy, przy braku statystycznie istotnych różnic między grupami (tab. 1). W badanej grupie nie stwierdzono mięsa z objawami PSE. Wyniki te są zbliżone do danych analogicznego materiału genetycznego otrzymanych przez Krzęcio i wsp. [11] oraz Koćwin-Podsiadłę i wsp. [9], ale wyższe od wyników Grześkowiak i wsp. [6, 7]. Mięso około 36% tuczników charakteryzowało się głębszym stopniem zakwaszenia ($\text{pH}_{24} < 5,5$). Pomimo niskiego pH_{24} , typowego dla mięsa kwaśnego, nie odnotowano w przypadku tej grupy charakterystycznego zmniejszenia wydajności podczas obróbki cieplnej. Jak wynika z badań Koćwin-Podsiadłej i wsp. [10], wydajność mięsa kwaśnego w procesie peklowania i gotowania podczas wyrobu szynki wynosiła $87,87 \pm 6,25\%$, podczas gdy w badaniach własnych odnotowano wartość TY na poziomie $96,53 \pm 6,24\%$, a więc na poziomie typowym dla mięsa normalnego. Mięso tuczników z tej grupy charakteryzowało się jednak istotnie wyższym wyciekaniem (o 2,4%), wyższą wartością składowej barwy b^* w 48. godz. i składową a^* w 96. godz. (tab. 1). Podobną zależność pomiędzy pH końcowym mięsa wieprzowego a jego barwą stwierdzili Brewer i wsp. [1, 2], van Laack i wsp. [17] oraz Young i wsp. [18]. Florowski [5] oraz Florek i wsp. [4] informują, że wzrostowi pH mięsa po uboju towarzyszy spadek wartości składowych barwy L^* i b^* . W niniejszych badaniach również uzyskano potwierdzenie tej zależności, chociaż stwierdzona zależność nie we wszystkich przypadkach była statystycznie istotna.

Analiza cech jakości sensorycznej mięsa surowego w obu wyodrębnionych grupach wskazuje, że mięso surowe o $\text{pH} < 5,5$ charakteryzowało się większym wyciekaniem ocenianym wizualnie oraz wyższą ogólną akceptacją wyglądu. Odnotowano również różnice w marmurkowatości mięsa między obu grupami, ale najprawdopodobniej mają one swoje podłoże w uwarunkowaniu genetycznym tej cechy [16] (tab. 2). Tuczniaki te pochodziły bowiem z krzyżowania loch mieszańców z knurami linii P-76 utworzonej z udziałem rasy Duroc (wykazującej dużą zmienność w zakresie tej cechy). Stwierdzona różnica ogólnej akceptacji wyglądu wynikała najprawdopodobniej ze stwierdzonych różnic marmurkowatości, a nie różnic pH mięsa. W ocenie sensorycznej bowiem, jak wykazały badania Jaworskiej i wsp. [8], uzyskano wysoki współczynnik korelacji między ogólną akceptacją wyglądu a marmurkowatością mięsa ($r = -0,80^{**}$). W badaniach własnych stwierdzono również zróżnicowanie pod względem barwy próbek mięsa po 48 i 96 godz., jednakże różnice te nie były statystycznie istotne (tab. 2).

Tabela 1

Charakterystyki wartości rzeźnej i jakości technologicznej mięsa badanej grupy tuczników w zależności od pH końcowego.

Slaughter characteristics and technological quality of pork which has different pH.

Wyszczególnienie Traits	Badana grupa / Analyzed group				
	pH ₂₄ < 5,5		pH ₂₄ ≥ 5,5		
	\bar{X}	s / SD	\bar{X}	s / SD	
Liczba zwierząt / Number of animal	18		32		
Wartość rzeźna / Slaughter characteristic					
Masa tuszy ciepłej [kg] Hot carcass weight [kg]	81,36	5,62	81,34	5,66	
Zawartość mięsa w tuszy [%] Meat in carcass [%]	56,56	1,96	56,69	2,58	
Parametry przydatności technologicznej / Technological quality parameters					
pH ₁	6,31	0,20	6,38	0,18	
pH ₂₄	5,43 ^a	0,05	5,57 ^b	0,05	
pH ₄₈	5,39 ^a	0,04	5,44 ^b	0,04	
Parametry barwy Colour parameters	L ₄₈	56,59	1,75	55,47	1,28
	a ₄₈	14,45	0,55	14,67	0,75
	b ₄₈	6,84 ^a	0,92	6,17 ^b	0,69
	L ₉₆	56,42	1,65	55,91	1,31
	a ₉₆	13,44 ^a	0,94	14,18 ^b	0,76
	b ₉₆	6,46	1,11	5,82	0,79
Wyciek naturalny 48 [%] Drip loss 48 [%]	8,00 ^a	2,52	5,61 ^b	1,64	
TY [%] Technological yield [%]	96,53	6,24	98,43	6,60	

Objaśnienia: a, b – różnice statystycznie istotne na poziomie istotności $p = 0,05$; 1, 24, 48, 96, 120 czas pomiaru *post mortem* [godz.].

Explanation: a, b – statistically significant difference on level $p = 0,05$ level, 1, 24, 48, 96, 120 time measured in hours *post mortem*.

Ocena sensoryczna mięsa gotowanego wykazała poprawę jego jakości podczas dojrzewania. Mięso ocenione w 96. godz. *post mortem* cechowało się wyższą kruchością i soczystością w odniesieniu do próbek mięsa ocenianych po 48 godz., co miało wpływ na podwyższenie jego ogólnej jakości sensorycznej (rys. 1). Porównanie obu grup w odniesieniu do jakości sensorycznej mięsa poddanego obróbce cieplnej nie wykazywało różnic statystycznie istotnych, aczkolwiek można zaobserwować, że mięso o wyższym pH₂₄ charakteryzowało się nieznacznie wyższą kruchością i soczystością (tab. 3).

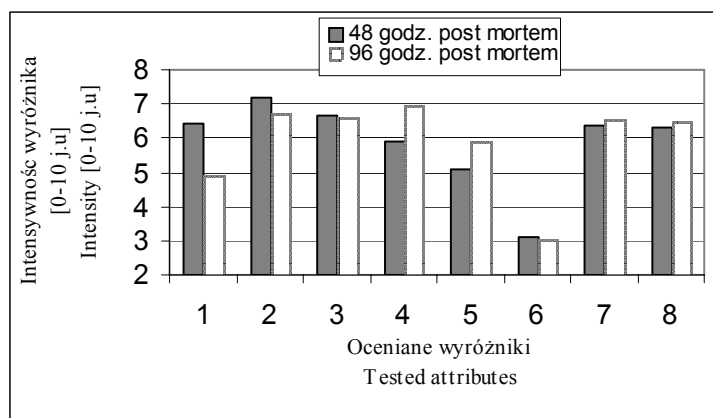
Tabela 2

Wyniki oceny sensorycznej mięsa surowego badanej grupy tuczników.

Results of sensory analysis of raw meat of analyzed group of pork.

Wyszczególnienie Traits	Badana grupa / Analyzed group			
	pH ₂₄ < 5,5		pH ₂₄ ≥ 5,5	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
Ton barwy / Intensity of colour 48	6,51	0,90	5,83	1,63
Ton barwy / Intensity of colour 96	5,48	1,06	5,30	1,17
Jednolitość barwy / Homogeneity of colour 48	6,03	1,13	5,22	1,49
Jednolitość barwy / Homogeneity of colour 96	6,20	1,08	5,79	0,98
Marmurkowatość / Marbling 48	4,19	1,50	5,06	1,76
Marmurkowatość / Marbling 96	3,94 ^a	1,62	5,23 ^b	1,70
Wyciek oceniany sensorycznie / Drip loss 48	5,05 ^a	2,12	3,08 ^b	1,80
Wyciek oceniany sensorycznie / Drip loss 96	6,14 ^a	1,09	5,10 ^b	1,60
Akceptacja wyglądu / Acceptability 48	6,08	0,82	5,60	1,31
Akceptacja wyglądu / Acceptability 96	6,26 ^a	0,79	5,43 ^b	0,86

Objaśnienia jak w tab. 1. / Explanation as in Tab. 1.



Objaśnienia: 1 - zapach, 2 - ton barwy, 3 - jednolitość barwy, 4 - kruchość, 5 - soczystość, 6 - wyczuwalność tłuszczu, 7 - smakowość, 8 - jakość ogólna.

Explanation: 1 - odour, 2 - intensity, 3 - homogeneity of colour, 4 - tenderness, 5 - juiciness, 6 - fat perception, 7 - flavour, 8 - overall quality.

Rys. 1. Wyniki oceny sensorycznej mięsa gotowanego badanej grupy tuczników w zależności od czasu dojrzewania.

Fig. 1. Results of sensory analysis of meat after heating of analyzed group of pork depending on time of maturation.

Wpływ pH końcowego na kruchość i soczystość wykazali w swojej pracy Eikelenboom i Hoving-Bolink [3], którzy stwierdzili, że pH końcowe wpływa na kruchość i soczystość, ale nie ma wpływu na smakowitość. Odnotowali oni wpływ zwiększonego pH na kruchość nawet w niewielkim przedziale pH (5,36 – 5,50).

Tabela 3

Wyniki oceny sensorycznej mięsa gotowanego badanej grupy tuczników.
Results of sensory analysis of meat after heating of analyzed group.

Wyszczególnienie Traits	Badana grupa / Analyzed group			
	pH ₂₄ < 5,5		pH ₂₄ ≥ 5,5	
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
Zapach / Odour 48	6,39	0,68	6,51	0,71
Zapach / Odour 96	4,81	0,86	5,09	1,35
Ton barwy / Intensity 48	7,15	0,86	7,21	0,55
Ton barwy / Intensity 96	6,91	0,69	6,56	0,80
Jednolitość barwy / Homogeneity of colour 48	6,49	1,17	6,86	0,61
Jednolitość barwy / Homogeneity of colour 96,	6,86	0,70	6,30	0,84
Kruchość / Tenderness 48	5,87	0,61	5,97	1,02
Kruchość / Tenderness 96	6,89	0,89	7,07	0,55
Soczystość / Juiciness 48	5,01	0,73	5,24	0,94
Soczystość / Juiciness 96	5,62	1,47	6,18	0,97
Wyczuwalność tłuszczu / Fat perception 48	3,20	0,35	2,96	0,30
Wyczuwalność tłuszczu / Fat perception 96	3,04	0,24	3,09	0,36
Smakowitość / Meat flavour 48	6,39	0,26	6,30	0,32
Smakowitość / Meat flavour 96	6,32	0,71	6,85	0,35
Jakość ogólna / Overall quality 48	6,31	0,31	6,30	0,42
Jakość ogólna / Overall quality 96	6,31	0,64	6,72	0,36

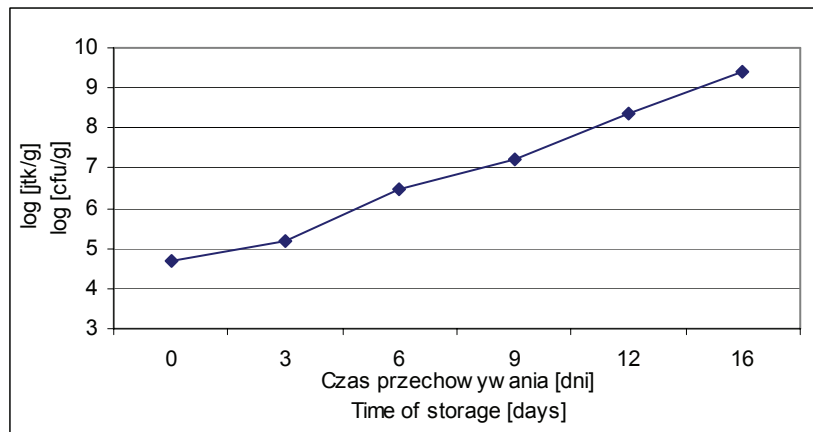
Objaśnienia: 48, 96 czas pomiaru w godz. *post mortem*.

Explanation: 48, 96 time of measure in hours *post mortem*.

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między grupami w odniesieniu do ogólnej liczby drobnoustrojów. W dniu uboju stwierdzono OLD na poziomie 4,67 log [jtk/g] (rys. 2).

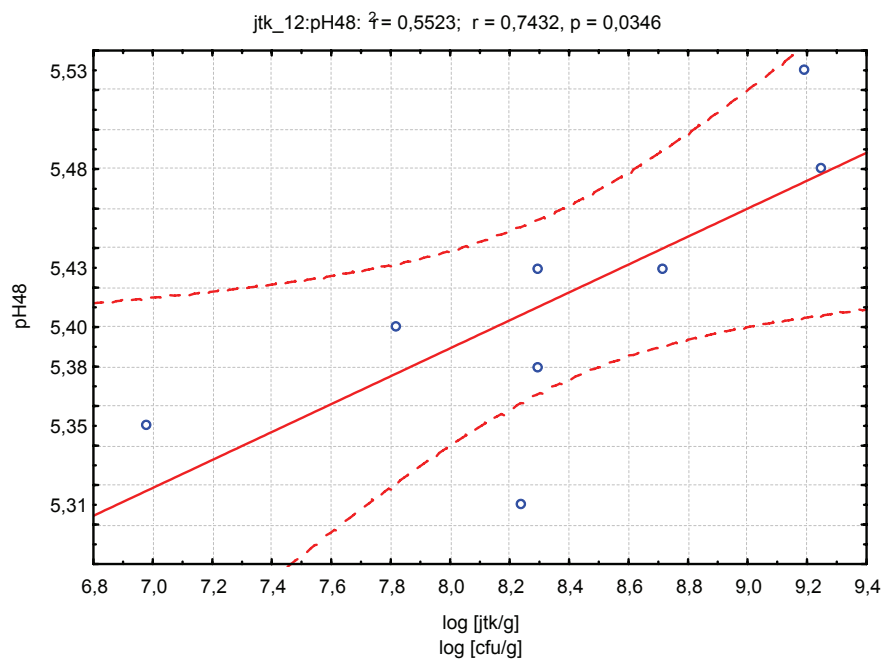
Niższe wartości ($3,93 \pm 1,17$ log [jtk/g]) ogólnej liczby drobnoustrojów w mięsie normalnym uzyskali Roseiro i wsp. [15]. Podczas przechowywania mięsa w warunkach chłodniczych (4°C) przez 16 dni OLD wzrosła do 9,40 log [jtk/g] (rys. 2). W badaniach własnych po 3 dniach przechowywania mięsa stwierdzono wartości OLD na poziomie 5,19 [jtk/g], podczas gdy w badaniach Roseiro i wsp. [15] w 3. dniu odnotowali $6,65 \pm 0,98$ log [jtk/g]. Istotną zależność OLD od pH mięsa stwierdzono dopiero

w 48. godz. *post mortem*. Uzyskano bowiem istotną zależność pomiędzy pH_{48} a OLD po 12 dniach przechowywania mięsa obliczoną na podstawie całego badanego materiału wynoszącą $r = 0,74$ (rys. 3).



Rys. 2. Zmiany ogólnej liczby drobnoustrojów (OLD) podczas przechowywania mięsa.

Fig. 2. Changes in total count of bacteria during storage.



Rys. 3. Zależność pomiędzy pH_{48} mięsa a OLD po 12 dniach przechowywania.

Fig. 3. Link between pH_{48} and total count of bacteria after 12 days of storage.

Wnioski

1. Stwierdzono istotny wpływ pH końcowego mięsa na składowe jego barwy oraz wyciek naturalny.
2. Wykazano statystycznie istotną zależność między pH_{48} po 12 dniach przechowywania a ogólną liczbą drobnoustrojów ($r = 0,74^{**}$).
3. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na dobrą jakość kulinarną mięsa pozyskanego z badanych tuczników, która nie była uzależniona od wartości pH końcowego mięsa.

Badania przeprowadzono w ramach dofinansowania Wydziału na badania własne w 2006 r.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura


- [1] Brewer M. S., Novakofski J., Freise K.: Instrumental evaluation of pH effects on ability of pork chops to bloom. *Meat Sci.*, 2006, **72**, 596-602.
- [2] Brewer M. S., Zhu L. G., Bidner B., Meisinger D. J., McKeith F. K.: Measuring pork color: effects of bloom time, muscle, pH and relationship to instrumental parameters. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 169-176.
- [3] Eikelenboom G., Hoving-Bolink A. H.: The effect of ultimate pH on eating quality of pork. *Materiały 40th International Congress of Meat Science and Technology, the Hague 1994*, p. S-IVB.29.
- [4] Florek M., Litwińczuk A., Skałeki P., Topyła B.: Influence of pH_1 of fatteners' *Musculus Longissimus Lumborum* on the changes of its quality. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **13/54**, 195-198.
- [5] Florowski T.: Próba zastosowania różnych metod pomiaru barwy do oceny jakości mięsa wieprzowego. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. Tłuszcz.*, 2004, **41**, 41-51.
- [6] Grześkowiak E., Borzuta K., Strzelecki J.: Wartość rzeźna oraz przydatność technologiczna mięsa tuczników uzyskanych z kojarzenia loch Naïma z knurami P-76. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz.*, 2003, **40**, 13-23.
- [7] Grześkowiak E., Lisiak D., Borys A., Wajda S., Winiarski R., Strzelecki J.: Wartość rzeźna różnych genotypów świń z zaplecza surowcowego północno-wschodniej Polski. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz.*, 2004, **16**, 7-11.
- [8] Jaworska D., Przybylski W., Kołożyn-Krajewska D., Czarniecka-Skubina E., Wachowicz I., Trzaskowska M., Kajak K., Lech A., Niemyski S.: Ocena zależności pomiędzy cechami określającymi jakość technologiczną i sensoryczną mięsa wieprzowego, *Animal Sci. Pap. Rep.*, 2007, Supp. (w druku).
- [9] Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., Przybylski W., Kaczorek S.: Carcass and slaughter values of crossbreed from pl-23 sows and petrain and P-76 boars. *Current problems on pig production. Mat. Konf. Nauk., Olsztyn 1997*, s. 90.
- [10] Koćwin-Podsiadła M., Przybylski W., Kaczorek S., Krzęcio E.: Quality and technological field of PSE (pale, soft, exudative)- acid- and normal pork. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1998, **7/48**, 217-222.

- [11] Krzęcio E., Sieczkowska H., Zybert A., Antosik K., Przybylski W., Koćwin-Podsiadła M.: Quality of raw material of two-breed fatteners originating from crossing of imported breeds. *Ann. Animal Sci., Supplement*, 2003, **1**, 65-69.
- [12] PN-A-82055-6:1994. Mięso i przetwory mięsne – Badania mikrobiologiczne, oznaczanie ogólnej ilości drobnoustrojów.
- [13] PN-ISO 4121:1988. Analiza sensoryczna. Ocena produktów spożywczych przy użyciu metod skalowania.
- [14] Prange H., Juggert L., Scharner E.: Untersuchungen zur Muskel fleischqualitaet beim Schwein. *Archives of Experiments in Veterinary Medizin*, 1977, **30**, **2**, 235-248.
- [15] Roseiro L. C., Fraqueza M. J., Santos C.: Microbial and retail life evaluation of PSE, normal and DFD pork under aerobic refrigeration. *Proc. 42nd Int. Congr. of Meat Science and Technology*, Lillehammer 1996, pp. 183-184.
- [16] Sellier P.: Genetics of meat and carcass traits. In: *The genetics of the pig*. Rodshild M. F., Ruvinsky A. (eds.), CAB Int., 1998, pp. 463-510.
- [17] Van Laack R. L. J. M., Kauffman R. G., Greaser M. L.: Determinants of ultimate pH of meat. *Proc. 47th Int. Congr. of Meat Science and Technology*, Kraków 2001, pp. 22-26.
- [18] Young O. A., West J., Hart A. L., van Otterdijk F. F. H.: A method for early determination of meat ultimate pH. *Meat Sci.*, 2004, **66**, 493-498.

CHARACTERISTICS OF TECHNOLOGICAL QUALITY, SENSORIAL AND SHELF-LIFE OF PORK WITH DIFFERENT pH

Summary

The aim of this study was to analyze technological characteristics, sensorial features and shelf life of meat from fatteners with different ultimate pH. The research study was based on a sample of 50 fatteners from the crossbreeding of Polish Landrace x Polish Large White with hybrids boars P76-PenArLan. After slaughter amount meat in carcass and other characteristics of raw meat from the *Longissimus* muscle taken from behind the last rib were analyzed. In the samples of meat pH of the meat after 45 minutes, 24 hrs and 48 hrs following slaughter, lightness of colour in 48 hrs and 96 hrs *post mortem* in the CIE L*a*b* system, natural drip, technological yield were determined. The sensory quality of raw and cooked meat after 48 hrs and 96 hrs *post mortem* was evaluated. In the day of slaughter and after 3, 6, 9, 12 and 15 days of storage microbiological analysis (total plate count) were done. Analyzed sample of fatteners on two groups were divided: fatteners with pH₂₄ below 5,5 (36%) and second group fatteners with pH₂₄ was above 5,5. Meat from fatteners described by pH₂₄ < 5,5 characterized higher drip loss (2,4%), higher parameter b* of colour in 48 hrs and parameter a* in 96 hrs and higher acceptability of raw meat compared to group of fatteners with pH₂₄ ≥ 5,5. Relationships between pH of meat and total plate count were found (r = 0,74**). Obtained results indicated further research on quality of culinary meat.

Key words: pork, technological quality, sensory quality, shelf life 

MAREK KOTOWICZ, LESZEK GAJOWIECKI, KAZIMIERZ LACHOWICZ,
WALDEMAR DĄBROWSKI, ANNA KORONKIEWICZ,
JOANNA ŻOCHOWSKA-KUJAWSKA, MAŁGORZATA SOBCZAK,
ARKADIUSZ ŻYCH

WPLYW SORBINIANU POTASU NA JAKOŚĆ MODELOWYCH WYROBÓW DROBIOWYCH WYPRODUKOWANYCH BEZ DODATKU AZOTANU (III) SODU

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu zróżnicowanego dodatku sorbinianu potasu na jakość mikrobiologiczną oraz wybrane cechy fizyczne i sensoryczne drobno rozdrobnionych, modelowych wyrobów drobiowych wyprodukowanych bez dodatku azotanu(III) sodu. Analiza mikrobiologiczna modelowych wyrobów wykazała, że próby zawierające dodatek sorbinianu potasu charakteryzowały się na ogół istotnie mniejszymi wartościami ogólnej liczby drobnoustrojów w porównaniu z wariantem kontrolnym zawierającym dodatek azotanu(III) sodu. Wraz ze wzrostem ilości dodatku sorbinianu potasu w próbach następował stopniowy wzrost udziału barwy czerwonej (a^*) przy jednoczesnym zmniejszeniu jasności (L^*) i udziału barwy żółtej (b^*) w ogólnym spektrum barwy. Dodatek sorbinianu potasu, pomimo nieznacznego (bo wynoszącego ok. 0,1 jednostki) spadku pH, wpłynął także na istotne, w stosunku do próby kontrolnej, zmniejszenie ilości wycieku po obróbce cieplnej. Modelowe wyroby zawierające dodatek sorbinianu potasu charakteryzowały się nieco mniejszym stopniem pożądalności sensorycznej w porównaniu z wyrobami zawierającymi dodatek azotanu(III) sodu.

Słowa kluczowe: peklowanie, sorbinian potasu, wyroby drobiowe bez dodatku azotanu(III) sodu

Wprowadzenie

Mimo, że proces peklowania jest znany i stosowany od bardzo dawna, to zagrożenie zdrowotne stało się bodźcem do podejmowania od wielu lat badań zmierzających do ograniczenia lub wyeliminowania dodatku azotanu(III) sodu w procesie peklowania mięsa. Jak dotąd nie znaleziono substancji, która mogłaby w pełni zastąpić wielofunk-

Dr inż. M. Kotowicz, dr hab. inż. L. Gajowiecki, prof. AR, prof. dr hab. inż. K. Lachowicz, dr inż. J. Żochowska-Kujawska, dr inż. M. Sobczak, dr inż. A. Żych, Zakład Technologii Mięsa, Akademia Rolnicza, ul. Kazimierza Królewicza 4, 71-550 Szczecin, prof. dr hab. W. Dąbrowski, dr inż. A. Koronkiewicz, Katedra Mikrobiologii Żywności, Akademia Rolnicza, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-434 Szczecin

cyjną rolę azotanu(III) w tym procesie [2], jednak właściwości technologiczne niektórych dodatków funkcjonalnych stwarzają potencjalne możliwości zastosowania ich w metodach peklowania wolnych od tego składnika.

Do czynników decydujących o możliwości wyeliminowania azotanu(III) sodu z przetworów drobiowych, a równocześnie zachowania odpowiedniej jakości mikrobiologicznej uzyskanych produktów, należą sorbiniany. Jak podaje Kołakowski [8], sorbiniany, w tym sorbinian potasu, należą do najważniejszych substancji konserwujących. Ivey i Robach [6] oraz Ivey i wsp. [7] wykazali, że dodatek tego związku w ilości 2600 ppm wykazywał inhibitujące działanie na *Clostridium botulinum*, które można było porównać z działaniem 156 ppm azotanu(III) sodu. Także badania Sofos i wsp. [15] wykazały, że kwas sorbowy dodany do parówek w stężeniu 2000 mg/kg zapobiega wytwarzaniu toksyn przez te drobnoustroje w porównywalnym stopniu, jak dodatek 150 mg/kg azotanu(III) sodu. Oprócz właściwości konserwujących dodatek ten może również modyfikować inne cechy produktów mięsnych. W dostępnym piśmiennictwie istnieje jednak niewiele pozycji dotyczących wpływu sorbinianów na inne wyróżniki jakości produktów mięsnych, w tym także przetworów z mięsa drobiowego.

Celem pracy było określenie wpływu zróżnicowanego dodatku sorbinianu potasu na jakość mikrobiologiczną oraz wybrane cechy fizyczne i sensoryczne drobno rozdronionych, modelowych wyrobów drobiowych wyprodukowanych bez dodatku azotanu(III) sodu.

Material i metody badań

Surowcem użytym do badań były pochodzące z uboju przemysłowego, trybowane mięśnie udowe indyków, pobrane z chłodni po ok. 24 godz. od uboju.

Sorbinian potasu użyty do badań dostarczyła firma Hortimex z Konina, dodatek ten zastosowano w ilości 0,1; 0,2 i 0,3% w stosunku do masy surowca mięsnego.

Materiałem badawczym był drobno rozdroniony, modelowy wyrób drobiowy. Mięśnie udowe indyków rozdrabniano w wilku laboratoryjnym przez sitko o średnicy oczek 4 mm, pH surowca wynosiło średnio 6,08 - 6,12. Każdą partię rozdronionego mięsa o masie 2,5 kg kutrowano, wprowadzając do miski kolejno: mięso, wodę z lodem w łącznej ilości 20% oraz NaCl w ilości 2,2% w stosunku do masy surowca mięsnego. W końcowej fazie procesu trwającej ok. 3 min dodawano sorbinian potasu w odpowiedniej dla danego wariantu ilości.

Próbę kontrolną stanowił kutrowany, modelowy produkt drobiowy wytworzony bez udziału dodatków funkcjonalnych, zawierający 2,2% dodatek soli peklującej o składzie 99,4% NaCl i 0,6% NaNO₂.

Farsz mięsny z dodatkami kutrowano do uzyskania temp. 12°C. Po zakończeniu procesu mierzono pH otrzymanego farszu za pomocą pH-metru CP 250 wyposażonego w elektrodę szklaną, typ ERH-12-6. Przygotowany farsz zamykano szczelnie w cylin-

drycznych puszkach aluminiowych o pojemności 300 g i średnicy 85 mm lub w przypadku prób przeznaczonych do badań mikrobiologicznych nadziewano w sztuczne osłonki firmy Viscona o średnicy 22 mm. Tak wykonane próby ważono i poddawano obróbce cieplnej w wodzie o temp. $74 \pm 2^\circ\text{C}$ do momentu uzyskania w centrum geometrycznym wyrobu temp. $68,8^\circ\text{C}$. Po zakończonym procesie parzenia próby schładzano w zimnej, bieżącej wodzie do temp. ok. 10°C w centrum geometrycznym. Po otwarciu puszek i swobodnym ocieknięciu próby ponownie ważono w celu określenia ilości wycieku cieplnego, a następnie zabezpieczano przed wysychaniem folią do pakowania żywności i przechowywano w warunkach chłodniczych przez ok. 12 godz. do czasu przeprowadzenia badań.

Badania mikrobiologiczne prób przechowywanych w warunkach chłodniczych w temp. $4 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (Shel Lab. 2020 Incubator) prowadzono w 1., 7., 14. i 21. dobie od momentu wyprodukowania. Oznaczano ogólną liczbę drobnoustrojów tlenowych mezofilnych [10] oraz prowadzono badania na obecność *Enterobacteriaceae* z *E. coli* [10], enterokoków [11] i beztlenowców [10]. Badania te prowadzono na 5 losowo wybranych próbach z każdego z wyprodukowanych wariantów, a z każdej próby wykonano 2 powtórzenia. Efekt konserwujący analizowanego sorbinianu oceniano na podstawie zmian ogólnej liczby drobnoustrojów w modelowych produktach. W celu pełniejszej charakterystyki tempa zmian namnażania mikroorganizmów uzyskane wyniki wyrażono jako $\log N/\text{No}$, gdzie: No – oznacza początkową ogólną liczbę drobnoustrojów w próbach, N – oznacza ogólną liczbę drobnoustrojów w próbach przechowywanych kolejno przez okres 7, 14 i 21 dób.

Oznaczenia barwy dokonywano po 1, 3 i 7 dobach przechowywania prób w warunkach chłodniczych. Pomiarów fizycznych parametrów barwy modelowych wyrobów wykonano metodą odbiciową przy użyciu aparatu Hunter Lab D25-2. Wartość parametrów barwy wyrażano w systemie CIE (1976) jako L^* (jasność barwy), a^* (udział barwy czerwonej), b^* (udział barwy żółtej).

Teksturę oznaczano przy użyciu aparatu Instron 1140. Zastosowano test TPA polegający na dwukrotnym wbiciu płasko ściętego, cylindrycznego trzpienia o średnicy 0,96 cm w próbkę o wysokości 22 mm. Limit deformacji wynosił 80%, szybkość deformacji 50 mm/min. Z krzywych obrazujących zależność siła – deformacja obliczano następujące parametry: twardość (maksymalna wysokość I piku), spoistość (stosunek powierzchni piku II do powierzchni piku I), sprężystość (szerokość podstawy wznoszącej się części piku II), gumowatość (iloczyn twardości i spoistości).

Wyciek cieplny wyliczano na podstawie różnicy masy prób przed i po obróbce cieplnej i wyrażano w procentach. Próby ważono z dokładnością do 0,01 g.

Ocenę sensoryczną przeprowadził 6-osobowy, odpowiednio przeszkolony zespół oceniający. Zastosowano 5-punktową skalę ocen [12].

Przeprowadzono 3 serie badań z użyciem mięsa pochodzącego z różnych dni produkcji, w każdej serii wykonano po 4 powtórzenia. Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej za pomocą programu komputerowego Statistica v. 5.5A. Istotność średnich wszystkich badanych parametrów określano testem t-Studenta na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Pod względem mikrobiologicznym wykazano, że doświadczalne wyroby drobiowe zawierające dodatek sorbinianu potasu charakteryzowały się na ogół istotnie mniejszymi wartościami ogólnej liczby drobnoustrojów w porównaniu z wariantem kontrolnym zawierającym dodatek azotanu(III) sodu (tab. 1).

Tabela 1

Ogólna liczba drobnoustrojów w doświadczalnych wyrobach drobiowych wyprodukowanych z dodatkiem sorbinianu potasu w ilości 0,2% i przechowywanych przez 21 dób.

Total microbial number in model poultry meat products produced with 0,2% potassium sorbate addition, during 21 days of storage.

Czas przechowywania [doba] Storage time [day]	Wariant kontrolny Control sample	Wyrób z dodatkiem sorbinianu potasu Product with Potassium sorbate addition
1	$3,0 \times 10^2$ ^a ₁	$4,0 \times 10^2$ ^a ₁
7	$2,8 \times 10^3$ ^b ₂	$5,4 \times 10^2$ ^a ₁
14	$5,0 \times 10^4$ ^c ₁	$2,4 \times 10^4$ ^b ₂
21	$4,7 \times 10^4$ ^c ₁	$5,5 \times 10^3$ ^c ₂

a – wartości średnie w kolumnach oznaczone tym samym indeksem górnym nie różnią się statystycznie istotnie przy $P \geq 0,05$ / mean values in columns marked with identical superscripts are not statistically significantly different at $P \geq 0,05$;

1 – wartości średnie w rzędach oznaczone tym samym indeksem dolnym nie różnią się statystycznie istotnie przy $P \geq 0,05$ / mean values in rows marked with identical subscripts are not statistically significantly different at $P \geq 0,05$.

W próbach zawierających dodatek sorbinianu potasu mniejsza była także dynamika zmian tej liczby w przypadku każdego z rozpatrywanych okresów przechowywania (tab. 2). Wyniki badań mikrobiologicznych potwierdzają spostrzeżenia innych autorów. Niektórzy badacze [5, 15] wskazują na możliwość częściowego lub całkowitego zastąpienia azotanu(III) sodu stosowanego w procesie peklowania przez dodatek kwasu sorbowego lub sorbinianu potasu. Greer [3], Wagner i Busta [16] wykazali, że sorbiniany zapobiegają lub opóźniają kiełkowaniu przetrwalników w doświadczalnych produktach wytworzonych z mięsa dużych zwierząt rzeźnych, a Huhtanen i wsp. [4]

uzyskali podobny efekt w produktach z mięsa drobiu, ograniczając wzrost i wytwarzanie toksyn przez *Clostridium botulinum*.

Tabela 2

Ogólna liczba drobnoustrojów w doświadczalnych wyrobach drobiowych wyprodukowanych z dodatkiem sorbinianu potasu i przechowywanych przez 21 dób, wyrażona jako log N/No.

Total microbial number in model poultry meat contained potassium sorbate during 21 days of storage, expressed as a log N/No.

Czas przechowywania [doba] Storage time [day]	Wariant kontrolny Control sample	Wyrób z dodatkiem sorbinianu potasu Product with Potassium sorbate addition
1	0	0
7	0,969	0,130
14	2,222	1,778
21	2,195	1,137

Jak podają Sofos i Busta [15] i Kołakowski [8], konserwujące działanie kwasu sorbowego wynika głównie z hamowania aktywności dehydrogenaz i innych enzymów sulfhydrylowych w komórkach mikroorganizmów. Według Liewen [9] obniżenie wartości pH przez sorbiniany może również w nieznacznym stopniu powstrzymać rozwój mikroorganizmów. Uzyskane wyniki badań wskazują także na niewielkie, stopniowe obniżenie wartości pH wraz ze wzrostem ilości dodatku sorbinianu potasu w doświadczalnych produktach drobiowych. Jak wykazali Sofos i wsp. [15], wraz z obniżeniem pH wzrasta aktywność antybotulinowa sorbinianów.

Poza jakością mikrobiologiczną, innym bardzo ważnym wyróżnikiem jakości wyrobów mięsnych wyprodukowanych bez udziału azotanu(III) sodu jest barwa.

Stwierdzono, że wraz ze wzrostem ilości dodatku sorbinianu potasu w próbach następował stopniowy wzrost udziału barwy czerwonej (a^*) przy jednoczesnym zmniejszeniu jasności (L^*) i udziału barwy żółtej (b^*) w ogólnym spektrum barwy (tab. 3). Niezależnie od wielkości dodatku tego sorbinianu, wartość parametru a^* określającego udział barwy czerwonej podczas całego okresu przechowywania kształtowała się jednak na poziomie niższym w porównaniu z wariantem kontrolnym, a stwierdzone różnice były statystycznie istotne.

Barwa modelowych wyrobów bez dodatku sorbinianu potasu odbiega od typowej barwy peklowanych produktów drobiowych, głównie ze względu na pojawienie się szarego odcienia. Jednak wyniki sensorycznej oceny pożądalności barwy wskazują na możliwość zaakceptowania takich różnic. Mięso drobiowe zawiera znacznie mniej barwników hemowych (np. mięsień piersiowy kurcząt ok. 25, a udowy ok. 65 ppm heminy) niż wieprzowe (ok. 125 ppm heminy) i wołowe (ok. 220 ppm heminy), należy spodziewać się więc również jaśniejszej barwy wyrobów z tego mięsa [14].

Tabela 3

Wartości parametrów barwy L*, a*, b* doświadczalnych wyrobów drobiowych przechowywanych przez 7 dób, determinowane wielkością dodatku sorbinianu potasu.
The effect of potassium sorbate addition on L*, a*, b* colour values of model poultry meat products during 7 days of storage.

Wielkość dodatku sorbinianu potasu Potassium sorbate addition [%]	L*			a*			b*		
	Okres przechowywania [doba] / Storage time [days]								
	1	3	7	1	3	7	1	3	7
0	55,67 ^a ₁	57,22 ^a ₂	57,75 ^a ₂	6,15 ^a ₁	5,62 ^a ₂	4,97 ^a ₃	11,80 ^a ₁	12,87 ^a ₂	13,05 ^a ₃
0,1	57,56 ^c ₁	57,82 ^c ₂	59,28 ^b ₃	5,46 ^b ₁	4,28 ^b ₂	3,94 ^b ₃	13,06 ^b ₁	14,34 ^c ₂	14,52 ^c ₃
0,2	57,22 ^b ₁	57,98 ^c ₂	58,70 ^c ₃	5,74 ^c ₁	4,84 ^c ₂	4,34 ^c ₃	13,00 ^b ₁	14,17 ^b ₂	14,46 ^c ₃
0,3	56,85 ^b ₁	57,46 ^b ₂	58,76 ^c ₃	5,78 ^d ₁	4,92 ^c ₂	4,40 ^c ₃	13,05 ^b ₁	14,08 ^b ₂	14,37 ^b ₃

Objaśnienia jak w tab. 1. / Notation like in Tab. 1.

Z kolei dodatek sorbinianu potasu tylko w nieznacznym stopniu wpływał na zmianę tekstury doświadczalnych wyrobów (tab. 4). Wraz ze zwiększeniem ilości tego dodatku następował na ogół stopniowy wzrost wartości wszystkich analizowanych wyróżników tekstury, przy czym w żadnym z analizowanych wariantów nie były to zmiany statystycznie istotne w stosunku do wariantu kontrolnego.

Tabela 4

Wyniki pomiarów tekstury doświadczalnych wyrobów drobiowych determinowane wielkością dodatku sorbinianu potasu.
The effect of potassium sorbate addition on model poultry meat products texture.

Wielkość dodatku sorbinianu potasu Potassium sorbate addition [%]	Twardość [N] Hardness [N]	Spoistość [-] Cohesiveness [-]	Sprężystość [cm] Springiness [cm]	Gumowatość [N] Gumminess [N]
0	15,54 ^a	0,37 ^a	1,44 ^a	5,85 ^a
0,1	15,07 ^a	0,34 ^a	1,45 ^a	5,38 ^a
0,2	15,44 ^a	0,35 ^a	1,46 ^a	5,54 ^a
0,3	15,85 ^a	0,35 ^a	1,46 ^a	5,67 ^a

Objaśnienia jak w tab. 1. / Notation like in Tab. 1.

W dostępnym piśmiennictwie brak jest informacji dotyczących wpływu sorbinianu potasu na teksturę mięsa i produktów mięsnych.

Oprócz omówionych powyżej wyróżników jakości, w pracy określono również wpływ sorbinianu na wielkość wycieku cieplnego (tab. 5). Wykazano, że wzrastający dodatek sorbinianu potasu, pomimo nieznacznego (bo wynoszącego ok. 0,1 jednostki) obniżenia pH, powodował stopniowe istotne w stosunku do próby kontrolnej obniżenie ilości wycieku po obróbce cieplnej, co zdaniem Kołakowskiego [8] może wynikać ze specyficznej reakcji wiązania anionów sorbinianu z kationowymi grupami białka.

Tabela 5

Wartość pH oraz wielkość wycieku cieplnego doświadczalnych wyrobów drobiowych determinowane wielkością dodatku sorbinianu potasu.

The effect of potassium sorbate addition on pH values and thermal drip of model poultry meat products.

Wielkość dodatku Potassium sorbate addition [%]	pH	Wyciek cieplny Thermal drip [%]
0	5,94 ^a	10,51 ^a
0,1	5,90 ^{ab}	9,95 ^{ab}
0,2	5,88 ^{ab}	9,37 ^{bc}
0,3	5,85 ^b	8,53 ^{cd}

Objaśnienia jak w tab. 1. / Notation like in Tab. 1.

Na podstawie oceny sensorycznej stwierdzono, że wraz ze wzrostem wielkości dodatku sorbinianu potasu, od 0,1 do 0,3%, w próbach prawie na niezmiennym poziomie pozostawała pożądalność barwy i zapachu, a nieznacznemu podwyższeniu ulegała pożądalność smakowitości, jednak średnia ocen tych wyróżników kształtowała się na poziomie nieznacznie niższym w porównaniu z notami wyrobu kontrolnego (z dodatkiem NaNO₂) (tab. 6).

Niezależnie od ilości dodatku sorbinianu potasu konsystencja wyrobów oceniona została, podobnie jak wariant zawierający dodatek azotanu(III) sodu jako pożądana. Należy zaznaczyć jednak, że pomimo zaobserwowanych różnic, w żadnym z rozpatrywanych wariantów nie stwierdzono not dyskwalifikujących, a uzyskane produkty charakteryzowały się stosunkowo wysoką jakością sensoryczną. Również Ivey i wsp. [7] wykazali, że dodatek sorbinianu potasu w ilości od 0,13 do 0,26% wpływał na poprawę jakości sensorycznej bekonu, porównywalną z dodatkiem 120 ppm azotanu(III) sodu. Z kolei Robach i Sofos [13] stwierdzili, że sorbiniany nie wykazują niekorzystnego wpływu na jakość gotowych produktów mięsnych. Nieco inne wyniki uzyskali natomiast Al.-Shuib i wsp. [1], którzy wykazali, że dodatek sorbinianu potasu powyżej 0,26% przyczyniał się do nieznacznego obniżenia jakości sensorycznej mortadeli wyprodukowanej bez dodatku soli peklującej.

Tabela 6

Wyniki oceny pożądalności sensorycznej doświadczalnych wyrobów drobiowych determinowane wielkością dodatku sorbinianu potasu [pkt].

The effect of potassium sorbate addition on sensory desirable evaluation of model poultry meat products [scores].

Wielkość dodatku sorbinianu potasu Potassium sorbate addition [%]	Barwa Colour	Zapach Smell	Smakowitość Flavour	Konsystencja Consistency
0	4,5	4,3	4,0	4,0
0,1	3,5	3,8	3,0	4,0
0,2	3,5	3,8	3,5	4,0
0,3	3,8	4,0	3,5	4,0

Wnioski

1. Przeprowadzone badania mikrobiologiczne wykazały, że próby zawierające dodatek sorbinianu potasu w ilości 0,2% charakteryzowały się mniejszą ogólną liczbą drobnoustrojów oraz mniejszym tempem ich namnażania w porównaniu z wariantem kontrolnym, zawierającym dodatek azotanu(III) sodu.
2. Nie stwierdzono niekorzystnego wpływu sorbinianów na barwę doświadczalnych wyrobów drobiowych niezawierających dodatku azotanu(III) sodu.
3. Doświadczalne wyroby drobiowe wyprodukowane z dodatkiem sorbinianu potasu charakteryzowały się także istotnie mniejszym wyciekiem cieplnym w porównaniu z wariantem kontrolnym.
4. Wyroby zawierające dodatek sorbinianu potasu charakteryzowały się nieco mniejszym stopniem pożądalności sensorycznej w porównaniu z wyrobami zawierającymi dodatek azotanu(III) sodu.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura


- [1] Al.-Shuibi A. M., Al.-Abdullah B. M.: Substitution of nitrite by sorbate and the effect on properties of mortadella. *Meat Sci.*, **62** (4), 2002, 473-478.
- [2] Duda Z.: Wybrane zagadnienia stosowania azotynu w przetwórstwie mięsa. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1998, **3** (16), 5-42.
- [3] Greer G.C.: Mechanism of beef shelf life extension by sorbate. *J. Food Prot.*, 1982, **45**, 82.
- [4] Huhtanen C.N., Feinberg J.: Sorbic acid inhibition of *Clostridium botulinum* in nitrite-free poultry frankfurters. *J. Food Sci.*, 1980, **45**, 453-457.

- [5] Huhtanen C.N., Feinberg J.I., Trenchard H., Phillips J.G.: Acid enhancement of *Clostridium botulinum* inhibition in ham and bacon prepared with potassium sorbate and sorbic acid. J. Food Prot., 1983, **46**, 807-810.
- [6] Ivey F.J., Robach M.C.: Effect of sorbic acid and sodium nitrite on *Clostridium botulinum* outgrowth and toxin production in canned comminuted pork. J. Food Sci., 1978, **43**, 1782-1785.
- [7] Ivey F.J., Shaver K.J., Christiansen L.N., Tompkin R.B.: Effect of potassium sorbate on toxigenesis of *Clostridium botulinum* in bacon. J. Food Prot., 1978, **41**, 621-625.
- [8] Kołakowski E.: Substancje konserwujące żywność. Część I. Przem. Spoż., 2000, **4**, 46-51.
- [9] Liewen M.B., Marth E.H.: Growth and inhibition of microorganisms in the presence of sorbic acid: a review. J. Food Prot., 1985, **48** (4), 364-375.
- [10] PN-85/A-82051. Wyroby garmazeryjne. Półprodukty i produkty gotowe.
- [11] PN-93/A-86034/10. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Enterokoki-wykrywanie obecności, oznaczanie liczby metodą płytkową.
- [12] PN-ISO 4121:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
- [13] Robach M.C., Sofos J.N.: Use of sorbates in meat products, fresh poultry and poultry products: a review. J. Food Prot., 1982, **45**, 374-378.
- [14] Słowiński M., Mroczek J.: Wybrane problemy jakości w przetwórstwie mięsa drobiowego. Przem. Spoż., 1997, **1**, 12-16.
- [15] Sofos J.N., Busta F.F.: Antimicrobial activity of sorbate. J. Food Prot., 1981, **44** (8), 614-622.
- [16] Wagner M.K., Busta F.F.: Influence of a minimal change in pH on germination of *Clostridium botulinum* 52A in media containing sodium acid pyrophosphate and potassium sorbate. J. Food Prot., 1985, **48**, 693-696.

INFLUENCE OF POTASSIUM SORBATE ADDITION ON QUALITY OF NITRITE-FREE MODEL POULTRY MEAT PRODUCTS

S u m m a r y

The object of this study was to determine the effect of potassium lactate on antimicrobial effect, colour, texture and sensory attributes of model meat poultry product manufactures without sodium nitrate (III). The important impact of potassium sorbate on curbing micro-organisms growth in experimental meat poultry products without addition of sodium nitrate (III) was found. Moreover, the addition of potassium sorbate caused the gradual enhance of redness (a^*) and yellowness (b^*) with simultaneous decrease of the lightness (L^*) in experimental model products produced without sodium nitrate (III). The addition of potassium sorbate caused a statistically significant decrease of cooking loss, despite little (about 0,1 unit) drop of pH value. Model poultry meat products produced with potassium sorbate was slightly less sensorially desirable in comparison to products containing sodium nitrate (III).

Key words: curing, potassium sorbate, nitrite-free meat poultry products 

BARBARA WRÓBLEWSKA, LUCJAN JĘDRYCHOWSKI, MAREK FARJAN

JAKOŚĆ HYDROLIZATÓW BIAŁEK MLEKA KROWIEGO W ASPEKCIE PRODUKCJI ODŻYWEK HYPOALERGICZNYCH

Streszczenie

Celem badań było obniżenie poziomu immunoreaktywności białek mleka krowiego, obecnych w preparatach WPC-65 (α -laktoalbuminy i β -laktoglobuliny) i kazeinianu sodu (α -, β -, κ -kazeiny) pod wpływem hydrolizy enzymatycznej przeprowadzonej z wykorzystaniem Alkalazy 2.4 L f-my Novo Nordisk (*Bacillus licheniformis*), pronazy – (proteaza ze *Streptomyces griseus*), papainy – EC 3.4.22.2, pepsyny (E.C. 3.4.23.1) (Sigma), a także Lactozymu™3000 L HPG (Novo Nordisk).

Analizę uzyskanych produktów przeprowadzono, stosując następujące metody analityczne: ELISA, elektroforeza 2D i immunoblotting, rozdziały chromatograficzne, analiza sensoryczna i spektroskopia masowa. Porównano działanie immunoreaktywne wybranych hydrolizatów i handlowo dostępnych odżywek (Profylac i Nutramigen), wykorzystując surowice chorych na alergią spowodowaną spożywaniem mleka krowiego.

Stwierdzono możliwość uzyskania hypoalergennego produktu na bazie niskocząsteczkowej frakcji hydrolizatu Alkalazowo-pronazowego białek serwatkowych WPC-65.

Słowa kluczowe: alergia, hydroliza enzymatyczna, mleko krowie, immunoreaktywność

Wprowadzenie

Białka serwatkowe mleka krowiego i kazeina są podstawowym surowcem do produkcji ukierunkowanych odżywek dla chorych wymagających specjalnej diety. Najliczniejszą grupę wśród takich osób stanowią pacjenci cierpiący na alergię pokarmową spowodowaną spożywaniem mleka. Obecnie szacuje się, że 1,9 do 4,4% populacji dziecięcej świata cierpi na alergię pokarmową wywołaną spożywaniem mleka krowiego. W Polsce alergia na białko mleka krowiego występuje u 2,7% niemowląt karmionych sztucznie i u 1,8% karmionych naturalnie [8].

Często zdarza się, że alergii na mleko towarzyszy nietolerancja laktozy, czego przyczyną jest niedobór laktazy (β -D-galaktozydazy). Badania Woś i wsp. [13] wska-

zują, że nietolerancja laktozy występuje u 40% dzieci, u których wcześniej stwierdzono alergię na białka mleka krowiego.

Hydroliza enzymatyczna białek mleka to najczęściej stosowana modyfikacja podczas produkcji odżywek hypoalergiczných. Dochodzi wówczas do rozerwania niektórych wiązań peptydowych w obrębie sekwencji epitopów konformacyjnych. Możliwość ścisłej kontroli warunków procesu proteolizy pozwala na otrzymywanie produktów o określonym i przewidywalnym stopniu hydrolizy, pożądaných masach cząsteczkowych poszczególných frakcji oraz określonej zawartości wolnych aminokwasów. Zasadniczą wadą metody jest powstawanie peptydów o gorzkim smaku, nadających specyficzne cechy sensoryczne, trudne do zaakceptowania.

Podjęte badania miały na celu uzyskanie hydrolizatu białkowego o obniżonym stopniu alergizacji, mogącego stanowić składnik odżywki hypoalergicznę dla dzieci atopowych.

Material i metody badań

Do badań użyto preparatu białek serwatkowych WPC-65 oraz kazeinianu sodu, pochodzących z firmy Laktopol w Suwałkach. W celu przeprowadzenia hydrolizy białek mleka zastosowano: pronazę – EC 3.4.24.31 (proteaza ze *Streptomyces griseus*, Sigma P 8811), Alkalazę 2,4 L FG f-my Novo Nordisk (proteaza z *Bacillus licheniformis*), papainę – EC 3.4.22.2 (Sigma P 3375), pepsynę - E.C. 3.4.23.1, (Sigma P 7000) oraz LactozymTM3000 L HPG (Novo Nordisk) obniżający zawartość laktozy, cukru wywołującego nietolerancję pokarmową. Proces hydrolizy prowadzono wg metodyki przedstawionej we wcześniejszych pracach [14, 15, 16].

Rozdział hydrolizatów preparatów białek serwatkowych i kazeinianu sodu z użyciem żelu Sephadex G-75

W chromatografii żelowej zastosowano kolumnę chromatograficzną (85 cm x 3 cm) o objętości 600 ml, firmy Pharmacia LKB (Uppsala, Szwecja), wypełnioną żelem Sephadex G-75. Na szczyt kolumny nanoszono próbę o stężeniu 70 mg/ml. Eluat zbierano po 5 ml do probówek umieszczonych w kolektorze frakcji (Pharmacie LKB-FRAC-100, Uppsala, Szwecja). Absorbancję mierzono przy długości fali 214 i 280 nm w aparacie Spectrophotometer Dn 7500 (Beckman).

Chromatografia frakcji hydrolizatów o masach cząsteczkowych poniżej $14,4 \cdot 10^3 Da$ w systemie FPLC z użyciem kolumny SuperdexTM Peptide HR 10/30

Rozdział wykonywano na kolumnie SuperdexTM Peptide HR 10/30 (firmy Amersham Pharmacia Biotech) z użyciem zestawu do FPLC (Pharmacia LKB Pump P-500, Controller LCC-501 Plus). Próby przed naniesieniem na szczyt kolumny filtrowano przez filtry Millex® GV (firmy Millipor) o średnicy porów 0,22 μm . Rozdział pro-

wadzano z szybkością 0,2 ml eluatu na min, a absorbancję odczytywano przy długości fali 214 nm.

Dwukierunkowa elektroforeza (IEF oraz SDS-PAGE), KEKI, Budapeszt

Pierwszy kierunek rozdziału białek (IEF) prowadzono w żelu w gradiencie pH, na pasku IPG (nakładano 0,7-0,9 mg próby na każdy pasek). Próby były rozpuszczane w 250 µl buforu rehydratacyjnego (8 mol/L mocznik, 1% CHAPS, 20 mmol/l DTT), [4, 12]. Rozdział prowadzono w urządzeniu pHaser do izoelektrofokusingu (Bio-Rad PROTEAN IEF Cell). Po osiągnięciu równowagi, pasek inkubowano w 1,5 ml roztworu 6 mol/l mocznik, 375 mmol/l Tris, 130 mmol/l DTT, 2% SDS, 20% glicerolu i delikatnie wytrząsano przez 10 min, w temp. pokojowej, a następnie wykonywano rozdział białek w drugim kierunku metodą SDS-PAGE w żelu cienkowarstwowym (75 mm x 83 mm x 1,5 mm) w aparacie Mini-protean II-cell. Stężenie akrylamidu w żelu rozdzielającym wynosiło 15%. Po zakończeniu rozdziału, żełe przemyto 20% roztworem TCA i barwiono barwnikiem Coomassie Brilliant Blue R-250. Żele skanowano stosując system Gel Doc 2000.

Oznaczanie zawartości immunoreaktywnych białek serwatkowych i kazeinianu sodu metodą COMPETITIVE ELISA.

Mikro płytki opłaszczano roztworem antygeny o stężeniu 1 µg/ml w buforze węglanowym o pH 9,6 w ilości 100 µl/studzienkę, a następnie inkubowano 60 min w temp. 37°C. Po tym czasie płukano 0,9% roztworem NaCl w 50 mM buforze fosforanowym o pH 7,5 z 0,05% dodatkiem Tween-20 (PBS-T). Po każdym etapie metody ELISA stosowano inkubację mikro płytek w temp. 37°C i trzykrotne przemycie roztworem PBS-T. Następnie wprowadzano do studzienek po 150 µl 1,5% roztworu żelatyny w PBS-T i inkubowano 30 min w temp. 37°C. Kolejnym etapem było równoczesne wprowadzenie do każdej ze studzienek 50 µl badanych antygenów, bądź standardu i 50 µl roztworu surowicy króliczej zawierającej specyficzne przeciwciała. Następnie podawano 100 µl koniugatu koziej przeciwi króliczej IgG znaczonej peroksydazą chrzanową.

Oznaczając poziom specyficznej IgE na tym etapie analizy dodawano do studzienek ludzką surowicę w rozcieńczeniu 1:2, prowadzono inkubację 2 h, a następnie dodawano biotynylowany koniugat poliklonalnej antyludzkiej surowicy IgE (1:5000), (Nordic Immunology). W dalszej kolejności dodawano 100 µl streptawidyny skoniugowanej z peroksydazą chrzanową w rozcieńczeniu 1:100 (Nordic Immunology).

Ciąg dalszy w obydwu rodzajach analizy był taki sam. Po kolejnej inkubacji i przemyciu mikro płytki, dodawano substrat (100 µl roztworu 3,3',-5,5'-tetrametylobenzydyny, TMB) w buforze fosforanowo-cytrynowym, pH 5,5. Po 30-minutowej inkubacji reakcję enzymatyczną zatrzymywano dodając 2 M roztwór kwasu

siarkowego (50 µl/studzienka). Absorbancję odczytywano przy długości fali 450 nm stosując czynnik „Sunrise” firmy Tecan.

Ocena sensoryczna wybranych hydrolizatów

Do badań przygotowano 1% roztwory hydrolizatów WPC w wodzie destylowanej. Z badań sensorycznych wyłączono hydrolizaty kazeinowe, ze względu na wyraźny gorzki smak. Ocena sensoryczną wykonywano metodą ilościowej analizy opisowej (Quantitative Descriptive Analysis–QDA) [2, 9] w laboratorium sensorycznym, spełniającym wymagania określone normą ISO 8589 [6]. Do oszacowania wyników zastosowano skomputeryzowany system wspomagania analiz sensorycznych ANALSENS.

Analiza białek mleka przy zastosowaniu spektrometrii mas wykonana w Zakładzie Biochemii Żywności, UWM, Olsztyn

Masy cząsteczkowe uzyskanych preparatów hydrolizowanych białek analizowano w trybie liniowym za pomocą spektrometru mas, typu Ettan MALDI-ToF Pro (Amersham Biosciences), stosując jako matrycę kwas sinapinowy (Amersham) w roztworze 50% acetonitrylu i 0,1% kwasu trifluorooctowego. Do kalibracji zewnętrznej wykorzystano α -laktoalbuminę (SIGMA). Teoretyczne masy cząsteczkowe wyliczono na podstawie sekwencji aminokwasowej, korzystając z programu pI/MW, dostępnego na stronie <http://www.expasy.org>.

Wyniki i dyskusja

Dostępna aktualnie na rynku oferta odżywek dla alergików charakteryzuje się resztkową aktywnością alergenną i antygenową [11]. W publikacji Giampietro [3] dotyczącej hypoalergiczných odżywek podkreślono, że żadna z dotychczas opracowanych i znajdujących się w sprzedaży odżywek nie jest całkowicie bezpieczna, oprócz mieszaniny aminokwasów. Współczesne badania skupiają się więc na wskazaniu granicznej wartości masy cząsteczkowej peptydów, które wchodziłyby w skład standaryzowanej mieszanki hypoalergiczných i nie inicjowały reakcji alergicznej poprzez wiązanie przeciwciał klasy IgE. Duże możliwości technologiczne stwarza hydroliza enzymatyczna białek.

Ocena surowca za pomocą analizy spektralnej

Mleko jest bardzo rozbudowaną matrycą żywnościową o licznych interakcjach występujących pomiędzy poszczególnymi składnikami. Współczesne techniki badawcze, takie jak np. spektroskopia masowa, pozwalają w pełni zaobserwować niektóre wzajemne powiązania pomiędzy białkami, cukrami, tłuszczami i innymi substancjami o mniejszym znaczeniu technologicznym, ale bardzo dużym wpływie na organizm ludzki.

Stwierdzono, że surowiec wybrany do produkcji hydrolizatów (WPC-65) jest bogatym zbiorem glikoprotein (białka skoniugowane z laktozą lub heksozą), które niewątpliwie stanowią duże zagrożenie alergenne. Na podstawie analizy mas cząsteczkowych wykazano obecność 15 glikoprotein w zakresie mas cząsteczkowych od 14519,767 do 19251,765 Da (tab. 1). W pracy dotyczącej zastosowania spektrometrii masowej do monitorowania jakości mleka, Siliciano i wsp. [10] zwracają szczególną uwagę na fakt pojawiania się laktozylowanych białek, które reagują w sposób zbliżony do haptenu, powodując wzrost aktywności alergennej poszczególnych białek.

Tabela 1

Masy cząsteczkowe białek i glikoprotein scharakteryzowane w składzie surowca białek serwatkowych użytych do produkcji hydrolizatów, przy zastosowaniu spektrometru mas typu Ettan MALDI ToF Pro (Amersham Biosciences).

Molecular weight of proteins and glycoproteins found in WPC raw material used to production of hydrolysates determined by mass spectrum with usage Ettan MALDI ToF Pro (Amersham Biosciences).

Masa cząsteczkowa [Da] Molecular weight [Da]	Powierzchnia [jednostki umowne} Area [arbitrary units]	Czas [μs] Time [μs]	Przewidywany produkt Components
14190,9	5209	80,7581	α-la
14519,7	12647	81,6850	α-la+2 heksozy
14683,6	16588	82,1430	α-la+laktoza+heksoza
14842,6	18521	82,5850	α-la+2 laktozy
15016,2	18402	83,0651	α-la+laktoza+3 heksozy
15173,3	16655	83,4970	α-la+ 2 laktozy+2 heksozy
15330,9	12968	83,9280	α-la+3 laktozy+heksoza
15493,7	11468	84,3708	α-la+4 laktozy
18511,2	2633	92,1946	β-Ig+heksoza
18599,2	2925	92,4128	β-Ig+laktoza
18776,7	4560	92,8514	β-Ig+3 heksozy
18837,9	4876	93,0022	β-Ig+3 heksozy
18926,5	6201	93,2200	β-Ig+laktoza+2 heksozy
19098,8	8751	93,6421	β-Ig+laktoza+3 heksozy
19157,0	9690	93,7841	β-Ig+2 laktozy+heksoza
19251,7	11809	94,0150	β-Ig+3 laktozy

Immunoreaktywność hydrolizatów – ELISA i elektroforeza 2D

Metodą ELISA stwierdzono, że zarówno hydroliza jedno- i dwustopniowa preparatu białek serwatkowych nie pozwoliła na wyizolowanie frakcji całkowicie pozbawionej immunoreaktywności. Wraz ze zmniejszaniem się udziału białek

wysokocząsteczkowych w poszczególnych frakcjach obserwowano obniżanie się poziomu immunoreaktywności względem α -la i β -lg, która jest charakterystyczna dla białek niemodyfikowanych. Procesy enzymatyczne, powodując rozerwanie łańcucha białkowego, nie niszczyły jednak obszarów obejmujących epitop. Dlatego też w każdej, analizowanej oddzielnie frakcji, stwierdzano aktywne wiązanie się antygeny z przeciwciałem. W tab. 2. przedstawiono pozostałą immunoreaktywność wybranych hydrolizatów serwatkowych podzielonych na frakcje w zależności od mas cząsteczkowych składowych białek. Enzymem najbardziej obniżającym immunoreaktywność α -la była pronaza. Koszty jej zakupu są jednakże zbyt wysokie, aby wskazywać ją jako enzym do wykorzystania w przyszłej produkcji odżywek dla dzieci alergicznych. Dlatego też uwagę zwrócono na Alkalazę, która jest tańsza, a również skuteczna. Proces hydrolizy dwustopniowej z Alkalazą i pronazą był najkorzystniejszym procesem, albowiem pozwolił na uzyskanie obniżenia immunoreaktywności α -la do 0,244 $\mu\text{g/ml}$, a β -lg do 1,566 $\mu\text{g/ml}$.

Tabela 2

Immunoreaktywność poszczególnych frakcji wybranych hydrolizatów białek serwatkowych.
Immunoreactivity of fractions of selected WPC hydrolysates.

Enzym stosowany do hydrolizy Enzyme used for hydrolysis	Numer frakcji Number of fraction	Masy cząsteczkowe białek frakcji serwatkowych Protein molecular mass of fraction [$\cdot 10^3$ Da]	Immunoreaktywność Immunoreactivity	
			α -la [$\mu\text{g/ml}$]	β -lg [$\mu\text{g/ml}$]
Pronaza	I	67-43	4,002	0,051
	II	43-25	4,299	7,626
	III	25-13,7	5,921	14,160
	IV	13,7-6,5	0,197	1,566
	V	6,5-1,35	0,037	3,272
Alkalaza	I	18,5-6,8	21,460	13,910
	II	6,8-4,8	10,420	11,710
	III	4,8-1,4	0,215	2,467
	IV	>1,4	0,116	2,476
Alkalaza + pronaza	I	25-13,7	4,746	3,647
	II	13,7-6,5	4,831	5,587
	III	6,5-1,35	0,244	1,566

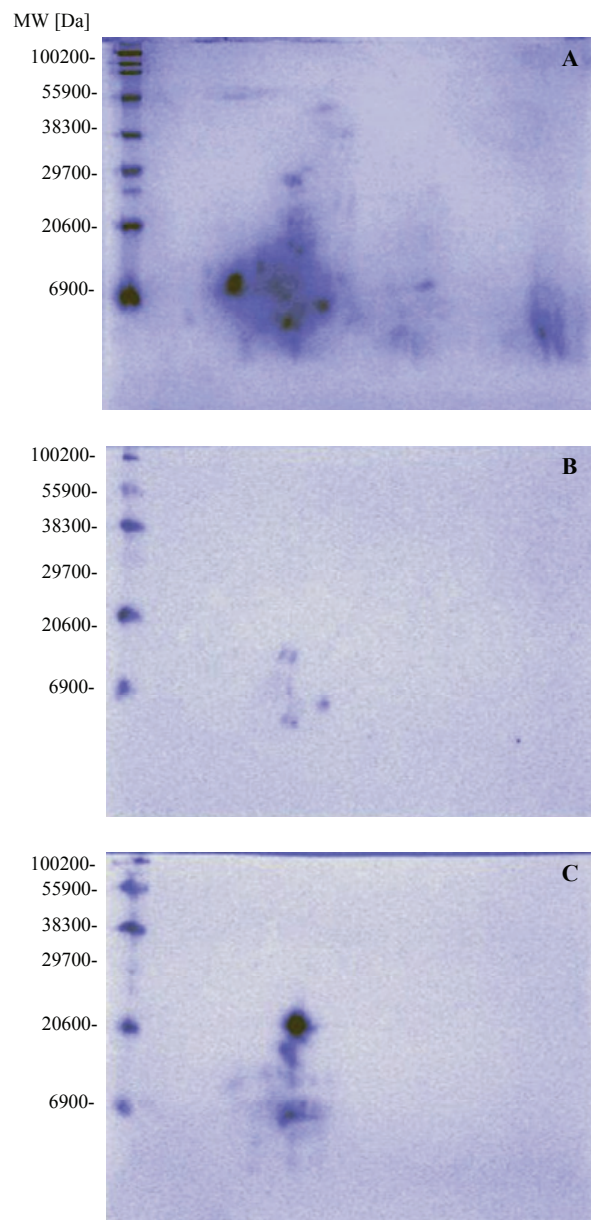
Immunoreaktywne właściwości poszczególnych hydrolizatów zostały dobrze udokumentowane metodą immunoblottingu, wykonaną po dwukierunkowej elektroforezie.

Obraz elektroforetyczny hydrolizatu uzyskanego z WPC przy udziale Alkalazy uwidocznił mnogość białek i peptydów obecnych praktycznie w całym analizowanym zakresie pI (3-10) i mas cząsteczkowych (do $67 \cdot 10^3$ Da). Największe skupisko immunoreaktywnych podjednostek białkowych stwierdzono w obszarze poniżej $14,4 \cdot 10^3$ Da i pI 2,5-7. Elektroforegram białek WPC hydrolizowanych pronazą uwidocznił białka w większości zhydrolizowane do cząsteczek mniejszych niż $20 \cdot 10^3$ Da głównie w zakresie pI 4-6,5 oraz 9-10 pI. Natomiast na immunoblocie wykonanym z przeciwciałem anty α -la widocznych było wyodrębnionych 5 plamek, zaś z przeciwciałem anty β -lg było wyraźne skupisko większej liczby plamek poniżej $22 \cdot 10^3$ Da. Elektroforegramy rozdzielów białek serwatkowych w systemie 2D uzyskanych podczas dwustopniowej hydrolizy przedstawiają skupisko plamek białkowo-peptydowych w zakresie pI 3-6,5 (hydrolizat WPC z Alkalazą i papainą) pI 3,8-6,2 (hydrolizat WPC z pronazą i Alkalazą), pI 4,2-6,2 (hydrolizat WPC z pronazą i papainą), poniżej masy cząsteczkowej odpowiadającej wielkości cząsteczek $20,6 \cdot 10^3$ Da. Na rys 1. przedstawiono przykład elektroforezy dwukierunkowej i immunoblottingu hydrolizatu WPC z Alkalazą i pronazą. Żaden z procesów dwustopniowej hydrolizy nie zagwarantował całkowitej redukcji immunoreaktywności nowo wytworzonych produktów z WPC. Jednocześnie stwierdzono, że łatwiej hydrolizowane jest białko α -la niż β -lg. Proteoliza β -lg spowodowała powstanie większej ilości peptydów, w których pozostały epitopy o charakterze liniowym, reagujące z przeciwciałem anty- β -lg.

Holland i wsp. [5] zastosowali metodę elektroforezy 2D do analizy wszystkich białek mleka. Stosując 24 cm żel do rozdzielu białek na paskach w zakresie pI 4-7 i SDS-PAGE w 14% żelu oznaczono 150 plam wskazujących na obecność różnych białek, z czego 50 zidentyfikowano metodą PMF (Peptide Mass Fingerprinting). Najwyraźniej były widoczne plamy pochodzące od α_{s1} kazeiny, β -kazeiny, β -lg i α -la. W obrębie α_{s2} kazeiny scharakteryzowano trzy plamki, które obrazowały różne poziomy fosforylacji. κ -kazeina występowała w postaci przynajmniej 10 oddzielnych plamek w przedziale pI 5-81 – 4,47. Autorzy stwierdzili, że obraz elektroforetyczny białek mleka jest następstwem potranslacyjnych ich modyfikacji występujących u poszczególnych krów.

Ocena sensoryczna

Produkcja hydrolizatów z białek mleka łączy się z ryzykiem uzyskania produktów o niezadawalających lub wręcz negatywnych cechach sensorycznych, co jest szczególnie ważne podczas produkcji odżywek dla dzieci. Dlatego też zastosowanie analizy sensorycznej do oceny hydrolizatów pozwala na wyeliminowanie całkowicie niekorzystnych produktów i wyłonienie tych, które mogą spełniać oczekiwania konsumentów.



Rys. 1. A) Elektroforeza dwukierunkowa hydrolizatu białek serwatkowych WPC uzyskanego z pronazą i Alkalazą,

B) immunoblotting z przeciwciałami skierowanymi do α -la (rozc. 1:1500),

C) immunoblotting z przeciwciałami skierowanymi do β -lg (rozc. 1:1000)

Fig. 1. A) 2D electrophoresis of WPC hydrolysate obtained with pronase and Alcalase,

B) Immunoblotting with anti- α -la antibodies (diluted 1:1500),

C) Immunoblotting with anti- β -la antibodies (diluted 1: 1000).

Zaobserwowano, że dominującymi cechami, typowymi dla tego rodzaju produktów, były smak i zapach mydlasty oraz mleka w proszku. Intensywność tych wyróżników była znacznie wyższa od pozostałych, takich jak zapach tłuszczu, smak słodki i słony.

Wszystkie hydrolizaty charakteryzowały się słabo wyczuwalnym zapachem tłuszczu oraz niskim poziomem smaku słodkiego. Podczas hydrolizy laktozy znacznie wzrosła w preparacie ilość glukozy, aczkolwiek nie miało to wpływu na poprawę smaku hydrolizatu.

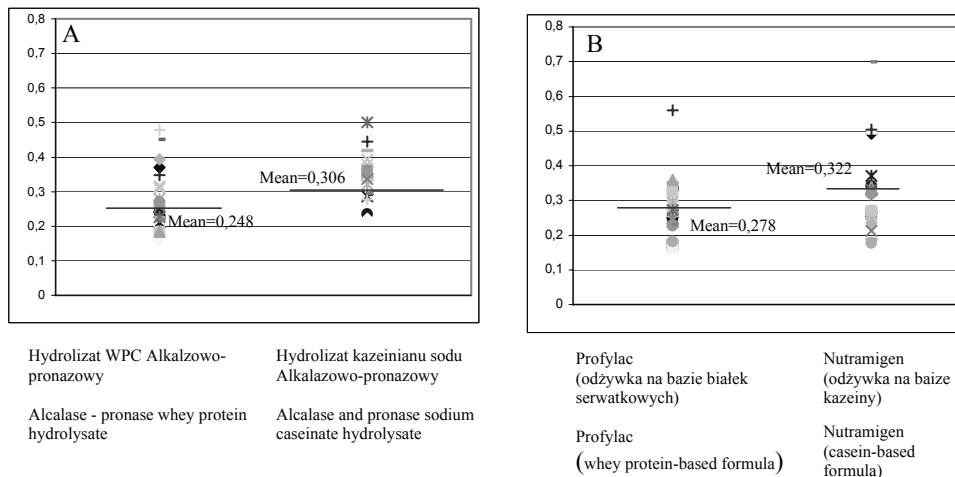
Hydrolizat pepsynowy opisano jako najbardziej słony, na co niewątpliwie miał wpływ proces przygotowywania preparatu, a w szczególności konieczność zmiany pH do wartości optymalnej do działania każdego ze stosowanych enzymów. Podczas tego procesu używano roztworów NaOH oraz HCl, co było przyczyną wytworzenia znacznej ilości soli w reakcji zobojętniania.

Głównym wyróżnikiem decydującym o jakości sensorycznej hydrolizatów białkowych było natężenie smaku gorzkiego. Smak gorzki stwierdza się zazwyczaj w preparatach zawierających peptydy o masach cząsteczkowych poniżej $10 \cdot 10^3$ Da. Jego nasilenie jest proporcjonalne do stopnia hydrolizy i aktywności zastosowanej proteazy [1]. Stwierdzono, że wszystkie badane hydrolizaty charakteryzowały się mniej lub bardziej intensywną goryczą, której towarzyszył dodatkowo smak zjełczałego tłuszczu. Najwyższą ocenę ogólną uzyskał hydrolizat Alkalazowo-papainowy.

Alergenność hydrolizatów

Wytwarzanie specyficznych przeciwciał klasy IgE jest genetycznie uwarunkowaną cechą atopii, aczkolwiek na poziom immunoglobulin wpływa dużo innych czynników środowiskowych, ustrojowych oraz procesy regulacji komórkowej.

W badaniach porównano potencjał alergenny dwóch hydrolizatów o najniższej immunogenności produkcji własnej oraz dwóch wyprodukowanych przemysłowo (Nutramigen i Profylac). Uzyskane wartości średnie absorbancji opisujące poziom IgE specyficznej oszacowany w stosunku do hydrolizatów Alkalazowo-pronazowych z WPC i kazeinianu sodu były niższe (0,248 i 0,306) niż analogicznych handlowych odżywek (Nutramigen i Profylac) wyprodukowanych na bazie takiego samego surowca (0,278 i 0,332), (rys. 2.). Skłania do wyciągnięcia wniosku o słusznym i korzystnym kierunku prowadzonych badań dążących do wprowadzenia nowego zestawu enzymatycznego mogącego stanowić w przyszłości podstawę do produkcji odżywek hypoalergiczych.



Rys. 2. Poziom specyficznej immunoglobuliny klasy E w reakcji z A) hydrolizatem WPC i kazeinianu sodu uzyskany przy zastosowaniu Alkalazy i pronazy, B) odżywkami Nutramigen i Profylac.

Fig. 2. The level of specific IgE determined against of A) Alcalase-pronase hydrolysate from WPC and sodium caseinate, B) Nutramigen and Profylac.

Wnioski

1. Metoda spektrometrii masowej pozwoliła na ocenę stosowanego liofilizatu białek mleka i wykazanie obecności adduktów reszt cukrowych z cząsteczkami białkowymi, co może inicjować reakcje alergiczne jako skutek procesu technologicznego wstępnej obróbki mleka.
2. Stwierdzono znaczne zróżnicowanie immunoreaktywności frakcji peptydowo-białkowych hydrolizatów serwatkowych i kazeinowych. Produktem charakteryzującym się najniższą immunoreaktywnością w stosunku do przeciwciał anty- α -la i anty- β -lg był hydrolizat białek serwatkowych uzyskany przy użyciu dwustopniowej hydrolizy WPC-65 Alkalazą i pronazą, a w szczególności jego niskocząsteczkowa frakcja.
3. Podczas analizy metodą ELISA z wykorzystaniem ludzkich surowic stwierdzono, że hydrolizaty te charakteryzowały się niższą alergenicnością aniżeli preparaty handlowe Nutramigen i Profylac.
4. Zastosowanie Laktozemu pozwoliło na obniżenie poziomu laktozy w hydrolizatach, co może mieć duże znaczenie dla osób cierpiących na nietolerancję mleka wywołaną obecnością tego dwucukru.
5. Ocena sensoryczna wybranych hydrolizatów wykazała znaczny poziom niekorzystnych cech smakowych i zapachowych utrzymujących się w hydrolizatach. Poprawę walorów sensorycznych hydrolizatu WPC uzyskano stosując hydrolizę dwustopniową z Alkalazą i papainą.

Badania wykonano w ramach grantu PBZ/KBN021/P06/99/16

Autorzy składają serdeczne podziękowanie pracownikom Zakładu Biochemii Żywności, UWM w Olsztynie, prof. dr hab. Jerzemu Dziubie, dr. inż. Marcie Niklewicz i dr hab. Piotrowi Minkiewiczowi, prof. UWM za pomoc w wykonaniu i opracowaniu wyników uzyskanych metodą spektroskopii masowej.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura

- [1] Bumberger E, Belitz HD.: Bitter taste of enzymic hydrolyzates of casein. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* 1993, **197**, 14–19.
- [2] Baryłko-Pikielna N.: Sensoryczna analiza profilowa i ocena konsumencka w opracowaniu nowych produktów żywnościowych. *Mat. Konf. „Food product development – Opracowywanie nowych produktów żywnościowych” Akademia Rolnicza, Poznań 1995*, s. 207-220.
- [3] Giampietro P.G., Kjellman N.I.M., Oldaeus G., Wouters-Wesseling W., Businco L.: Hypoallergenicity of an extensively hydrolyzed whey formula. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2001, **12**, 2, 83-86.
- [4] Hanson B. J., Schulenberg B., Patton W.: A novel subfraction approach for mitochondrial proteins: A tree-dimensional mitochondrial proteome map. *Electrophoresis* 2001, **22**, 950-959.
- [5] Holland J. W., Deeth H. C., Allewood P. F.: Proteomic analysis of k-casein micro-heterogeneity. *Proteomics*, 2004, **4**, 743-752.
- [6] ISO 8589:1998. Sensory analysis – General guidance for the design of test rooms.
- [7] ISO/DIS 13299.2:1998. Sensory analysis – Methodology - General guidance for establishing a sensory profile.
- [8] Kozłowska-Wojciechowska M., Naruszewicz M., Mamcarz A., Mamcarz B.: Rada Promocji Zdrowego Żywności Człowieka. Mleko i jego przetwory – niezbędne produkty w zachowaniu zdrowia. Ekspertyza i rekomendacje. Warszawa 2004.
- [9] Matuszewska I., Szczecińska A., Baryłko-Pikielna N.: Przydatność sensorycznej metody profilowej w interpretacji preferencji konsumenckich wybranych produktów. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1998, **1**, (14), 5-21.
- [10] Siciliano R., Rega B., Amoresano A., Pucci P.: Modern mass spectrometric methodologies in monitoring milk quality. *Analytical Chemistry*, 2000, (72), 2, 15.
- [11] Rosendal A., Barkholt V.: Detection of Potentially Allergic Material in 12 Hydrolyzed Milk Formulas. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**, 2200-2210.
- [12] Szabó E., Hajós Gy., Matuz J.: Identification of major allergens of cereal proteins by electrophoretic methods. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2002, **11/52**, SI 2, 131-134.
- [13] Woś H., Grzybowska-Chlebowczyk U., Ubik-Wróbel B., Szymańska M., Maciejowska A., Kopyta I.: Częstość występowania nietolerancji laktozy u dzieci z IgE-zależną alergią na białka mleka krowiego. *Pediatrica Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka*, 2000, **2**, 1, 31-34.
- [14] Wróblewska B., Jędrychowski L., Szabó E., Hajós G.: The reduction of cow milk proteins immunoreactivity by two-step enzymatic hydrolysis. *Acta Alimentaria*, 2005, **34**, 3, 307-315.
- [15] Wróblewska B., Troszyńska A.: Enzymatic hydrolysis of cow's whey milk protein in aspect of utility in production of hypoallergenic formulas. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14/55**, 4, 349-357.

- [16] Wróblewska B., Jędrychowski L., Hajós G., Szabó E.: Properties of an enzymatic hydrolysate obtained from sodium caseinate isolate as a hypoallergenic formula. *Pol. J. Envir. Studies*, 2005, **14**, II, 411-416.


QUALITY OF COW MILK PROTEIN HYDROLYSATES IN ASPECT OF PRODUCTION OF HYPOALLERGENIC FORMULAE

S u m m a r y

The aim of the study was to reduce of the immunoreactivity of cow milk proteins, present in WPC-65 (α -lactalbumin i β -lactoglobulin) and sodium caseinate (α -, β -, κ -casein) as a result of enzymatic hydrolysis prepared with Alcalase 2.4 L, Novo Nordisk (*Bacillus licheniformis*), pronase – (*Streptomyces griseus* protease), papain – EC 3.4.22.2, pepsin (E.C. 3.4.23.1) (Sigma), and LactozymuTM3000 L HPG (Novo Nordisk).

The analysis was carried out by ELISA methods, 2D electrophoresis, gel chromatography, sensory analysis and mass spectroscopy. The immunoreactivity of selected hydrolysates and hypoallergenic formulas (Profylac and Nutramigen) was compared using of CMA patients sera.

It was concluded that there is possibility to obtain hypoallergic product based on low molecular fraction of WPC-65 Alcalase-pronase hydrolysate.

Key words: allergy, enzymatic hydrolysis, cow milk, immunoreactivity 

WALDEMAR GUSTAW, MACIEJ NASTAJ

WPLYW DODATKU WYBRANYCH KONCENTRATÓW BIAŁEK SERWATKOWYCH (WPC) NA WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE JOGURTÓW OTRZYMANÝCH METODĄ TERMOSTATOWĄ

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu koncentratów białek serwatkowych różniących się składem chemicznym na właściwości reologiczne jogurtów otrzymanych metodą termostatową. Zwiększenie suchej masy mleka przeznaczonego do produkcji jogurtów osiągnięto poprzez dodatek 1, 2 lub 4% WPC 35, WPC 65, WPC 85 i WPC odtłuszczonego (WPCO). Przebieg fermentacji jogurtu monitorowano przy wykorzystaniu reometrii oscylacyjnej oraz oznaczano lepkość, twardość i gumowatość gotowego produktu. W przypadku jogurtu kontrolnego skrzep powstawał po 126 min fermentacji. Dodatek odtłuszczonego mleka w proszku (OMP) spowodował skrócenie czasu do 119 min, natomiast po dodaniu WPC 85 i WPCO zaobserwowano wydłużenie okresu niezbędnego do powstania skrzepu jogurtowego odpowiednio do 148 i 165 min. Największą twardością charakteryzowały się jogurty z 4% dodatkiem WPC 85 i WPCO, jednak miały one zbyt gumowatą teksturę.

Słowa kluczowe: jogurt, twardość, lepkość, WPC

Wprowadzenie

Jogurt jest mlecznym produktem fermentowanym chętnie spożywanym na całym świecie. Jednym z etapów przemysłowej produkcji jogurtu jest zwiększanie zawartości suchej masy mleka, m.in. przez dodatek różnych preparatów białek mleka. Zawartość składników suchej masy ma istotny wpływ na konsystencję produktu gotowego. Dlatego też do produkcji jogurtów, w szczególności niskotłuszczowych, w celu uzyskania odpowiedniej tekstury konieczny jest dodatek preparatów białkowych lub hydrokolidów polisacharydowych [8].

Najczęściej stosowanym sposobem zwiększania suchej masy mleka przeznaczonego do produkcji mlecznych napojów fermentowanych jest dodatek odtłuszczonego mleka w proszku (OMP). Jednak wzrost produkcji, a zarazem dostępności innych preparatów

białek mleka, takich jak serwatka w proszku czy koncentraty białek serwatkowych (WPC), mogą być alternatywą dla OMP. Zastosowanie WPC może umożliwić uzyskanie produktu o innych właściwościach funkcjonalnych i niższej cenie w porównaniu z jogurtami zawierającymi dodatek pełnego lub odtłuszczonego mleka w proszku.

W literaturze naukowej opublikowano wiele prac poświęconych zastosowaniu różnych preparatów białek mleka na właściwości fizykochemiczne jogurtów otrzymywanych metodą termostatową i zbiornikową. Wyniki otrzymane podczas badań wpływu WPC na właściwości jogurtów są sprzeczne. Niektórzy autorzy wykazali pozytywny wpływ dodatku koncentratów na twardość i lepkość jogurtów [6, 7]. Guzman-Gonzalez i wsp. stwierdzili natomiast, że jogurty otrzymane z dodatkiem WPC charakteryzowały się lepkością zbliżoną lub mniejszą w porównaniu z jogurtami z dodatkiem OMP [3].

Celem pracy było określenie wpływu koncentratów białek serwatkowych różniących się składem chemicznym na właściwości reologiczne jogurtów otrzymanych metodą termostatową.

Material i metody badań

Do badań użyto mleka pełnego w proszku (OSM Krasnystaw) i odtłuszczonego mleka w proszku (Biomlek Chełm). Koncentraty białek serwatkowych stanowiły: WPC 35 (Laktopol, Warszawa) zawierający: 33,86% białka, 35,28% laktozy, 3,68% wody; WPC 65 (Lacma, Nadarzyn) zawierający: 65,43% białka, 9,05% laktozy, 5,56% wody; WPC 85 (Lacma, Nadarzyn) zawierający: 75,42% białka, 1,44% laktozy, 7,22% wody i WPC odtłuszczony (Eurial, Herbignac, Francja) zawierający: 75,62% białka, 0,73% laktozy i 8,47% wody. Do produkcji jogurtu użyto szczepionki YC-X11, Yo-Flex, *Thermophilus Lactic Culture* (CHR HANSEN, Polska).

Otrzymywanie jogurtu

Sproszkowane mleko pełne w ilości 130 g stopniowo rozpuszczano w 1000 ml wody destylowanej poprzez ciągłe mieszanie mieszadłem magnetycznym. Mleko pasteryzowano w temp. 80°C przez 30 min w łaźni wodnej. Następnie schładzano do temp. 40–45°C i dodawano szczepionkę jogurtową, w ilości 0,015 g na 100 g mleka. Próbkę inkubowano w łaźni wodnej w temp. 45°C przez 4 godz. Po zakończonej inkubacji próbki przechowywano w temp. 4°C przez 10 godz.

Zwiększenie suchej masy mleka wykonywano poprzez dodatek białek serwatkowych (WPC 35, WPC 65, WPC 85, WPCO) lub odtłuszczonego mleka w proszku, w ilości 1, 2 i 4%. Koncentraty białek serwatkowych dodawano przed pasteryzacją mleka.

Oznaczenia reologiczne

Teksturę jogurtów oznaczano za pomocą analizatora tekstury TA-XT2i, (Stable Micro Systems, UK). Próbkę jogurtu o objętości 40 ml badano, stosując zmodyfikowany test TPA. Średnica trzpienia wynosiła 10 mm, a prędkość przesuwu głowicy analizatora 1 mm/s. Oznaczano twardość i gumowatość. Pomiary wykonywano w 3 seriach po 6 powtórzeń.

Badanie lepkości otrzymanych jogurtów prowadzono za pomocą lepkościomierza Brookfield, model DV- II+ z przystawką Helipath (Brookfield Engineering Laboratories, USA). Zastosowano wrzeciono C, szybkość ścinania wynosiła $0,3 \text{ s}^{-1}$. Pomiar wykonywano w 3 seriach po 3 powtórzenia.

W celu kontrolowania procesu fermentacji jogurtów zastosowano pomiar w reometrze oscylacyjnym RS300, (ThermoHaake Niemcy). Rejestrowano zmiany modułów zachowawczego G' i stratności G'' przy $f = 0,1 \text{ Hz}$ i odkształceniu 0,01. Pomiar prowadzono podczas ogrzewania w temp. 45°C przez 4 godz. a następnie przechowywania w temp. 5°C przez 17 godz.

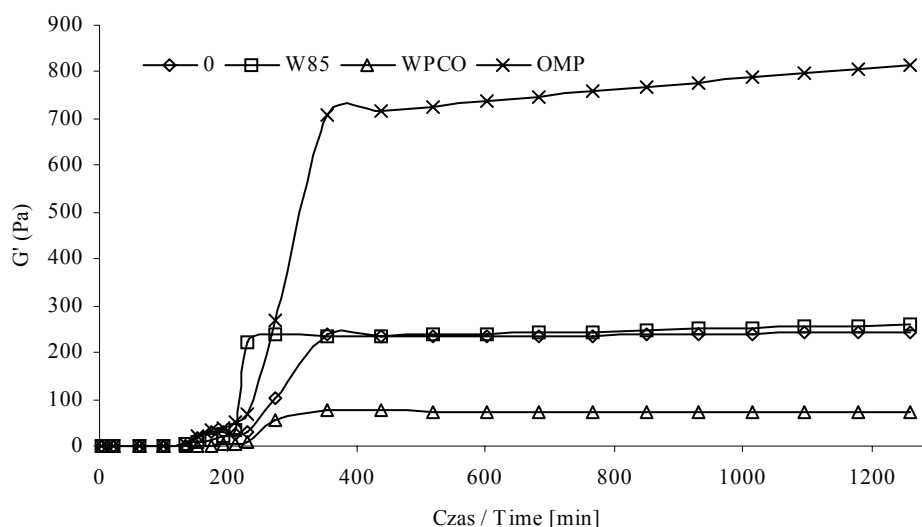
Analizę statystyczną istotności różnic między wartościami średnimi wykonano testem t-Studenta, za pomocą programu Stat – 1 (ISK Skierniewice).

Wyniki i dyskusja

Na rys. 1. przedstawiono wpływ fermentacji w temp. 45°C , a następnie przechowywania w 5°C na właściwości lepkością jogurtu kontrolnego (bez dodatków) i jogurtów zawierających 1% dodatek zastosowanych preparatów białek mleka. W przypadku jogurtu kontrolnego tworzenie skrzepu rozpoczęło się po 126 min fermentacji, co na wykresie było widoczne jako wzrost wartości modułu zachowawczego G' . Dodatek OMP spowodował skrócenie czasu potrzebnego do zapoczątkowania procesu powstawania skrzepu kwasowego do 119 min, natomiast po dodaniu WPC 85 i WPCO nastąpiło wydłużenie tego okresu odpowiednio do 148 i 165 min.

Lucey i wsp. [4] stwierdzili, że dodatek białek serwatkowych do mleka i ogrzewanie układu powodowało skrócenie czasu żelowania jogurtu, jednak dodatek WPC po pasteryzacji mleka powodował wydłużenie okresu potrzebnego do powstania skrzepu. Podczas zakwaszania spowodowanego fermentacją mlekową białka serwatkowe, które są połączone z micelami kazeinowymi, mogą oddziaływać ze sobą w środowisku o pH zbliżonym do ich punktu izoelektrycznego, powodując szybsze powstawanie żelu jogurtowego [5]. Wzrost ilości dodanych preparatów białek mleka we wszystkich badanych przypadkach spowodował skrócenie czasu potrzebnego do zapoczątkowania procesu powstawania skrzepu kwasowego (dane nie zamieszczone). W przypadku koncentratów białek serwatkowych okresy te były jednak dłuższe nawet przy 4% ich dodatku w porównaniu z jogurtem kontrolnym. Oprócz skrócenia czasu powstawania skrzepu

kwasowego, dodatek OMP powodował wyraźny wzrost wartości G' w porównaniu z jogurtem kontrolnym, natomiast dodatek WPCO negatywnie wpływał na właściwości lepkością jogurtu (rys. 1). Podczas przechowywania jogurtów przez 17 godz. w temp. 5°C wartość modułu zachowawczego wzrastała wraz z upływem czasu przechowywania. Wcześniejsze badania wykazały, że za efekt wzmacniania tekstury żelu kwasowego podczas przechowywania odpowiedzialne są wiązania dwusiarczkowe [9].



Rys. 1. Zmiany modułu zachowawczego G' podczas fermentacji i przechowywania jogurtu.
Fig. 1. Changes of storage modulus G' during fermentation and storage of yogurt.

Wpływ stężenia dodanego preparatu białek mleka na lepkość jogurtu stałego przedstawiono w tab. 1.

Zwiększenie suchej masy mleka poprzez dodanie wybranych preparatów białek mleka spowodowało generalnie wzrost lepkości otrzymanych jogurtów, tylko w przypadku 1% dodatku WPCO otrzymano produkt końcowy o mniejszej lepkości. WPC 85 spowodował bardzo wyraźny wzrost lepkości próbek. Lepkość ta wzrastała wraz ze zwiększaniem zawartości suchej masy w jogurcie. Podobne zależności stwierdzono w przypadku WPCO i OMP (oprócz 4% dodatku). Natomiast dodatek WPC 35 w ilości 4% spowodował niewielki spadek lepkości w porównaniu z jogurtami otrzymanymi z 2% dodatkiem tego preparatu. W przypadku WPC 65 najwyższą lepkością charakteryzowały się jogurty otrzymane z 1% dodatkiem koncentratu, dalszy wzrost stężenia WPC 65 powodował zmniejszanie lepkości jogurtów. Wyższa lepkość jogurtu i związany z tym niższy poziom synerезy związane są ze stopniem denaturacji białek serwatkowych oraz ich oddziaływaniami z kazeiną [2]. Gutzman-Gonzales i wsp. [6]

otrzymali jogurt z dodatkiem WPC, który miał mniejszą lepkość niż jogurt z dodatkiem odtłuszczonego mleka w proszku. Niekorzystny wpływ większych dodatków WPC 35 i WPC 65 mógł wynikać ze wzrostu zawartości niebiałkowych składników, takich jak laktoza i tłuszcz, obecnych w tych preparatach w dużej ilości, co jednak nie znajduje potwierdzenia w przypadku WPC 35. Badania wpływu dodatku różnych WPC na właściwości reologiczne jogurtów wykazały, że zależały one od zawartości niebiałkowych składników w koncentratkach, ale także od stopnia denaturacji białek serwatkowych [8].

Tabela 1

Wpływ wielkości dodatku preparatu białek mleka na lepkość jogurtu [Pa·s].
Effect of additives' size of milk proteins preparation on viscosity of set yogurt [Pa·s].

Wielkość dodatku Additives size [%]	Rodzaj preparatu mlecznego Type of dry dairy product					
	0	OMP	WPC 35	WPC 65	WPC 85	WPCO
1	264,67 ^{bc} ± 16,67	585,00 ^g ±29	344,00 ^{de} ±41,21	488,67 ^f ±54,76	344,00 ^{de} ±41,21	128,00 ^a ±7,48
2	-	690,67 ^h ±9,57	374,00 ^e ±21,97	236,67 ^b ±10,37	879,33 ⁱ ±13,89	314,67 ^{cd} ±16,03
4	-	620,67 ^g ±16,68	337,33 ^{de} ±34,92	174,67 ^a ±22,88	1004,00 ^j ±28,28	730,67 ^h ±19,07

a-j – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne (P < 0,05);

a-j – mean values with different superscripts are statistically significant different at P < 0.05.

Tabela 2

Wpływ wielkości dodatku preparatu białek mleka na twardość jogurtu [G].
Effect of additives' size of milk proteins preparation on hardness of set yogurt [G].

Wielkość dodatku Additives size [%]	Rodzaj preparatu mlecznego Type of dry dairy product					
	0	OMP	WPC 35	WPC 65	WPC 85	WPCO
1	24,79 ^{bc} ± 1,49	39,19 ^f ±2,01	27,41 ^{cd} ±1,73	32,79 ^e ±1,43	23,57 ^b ±2,23	26,21 ^{bcd} ±3,02
2	-	43,60 ^g ±1,67	28,59 ^d ±2,76	17,68 ^a ±1,04	72,67 ^h ±1,47	36,31 ^f ±2,87
4	-	44,49 ^g ±1,88	32,08 ^e ±0,93	19,11 ^a ±0,83	85,03 ⁱ ±2,16	75,40 ^h ±7,55

a-i – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne (P < 0,05);

a-i – mean values with different superscripts are statistically significant different at P < 0.05.

Zmiany twardości jogurtów spowodowane dodatkiem wybranych preparatów białek mleka przedstawiono w tab. 2. Po dodaniu WPC 35, WPC 85, WPCO i OMP twardość jogurtów otrzymanych metodą termostatową wzrastała wraz ze wzrostem wielkości użytego dodatku. Jednak w przypadku WPC 65, podobnie jak przy oznaczaniu lepkości, twardość malała wraz ze wzrostem wielkości dodatku tego koncentratu. Wzrost twardości jogurtów z dodatkiem koncentratów białek serwatkowych tłumaczyć można korelacją zawartości kazeiny i białek serwatkowych. Gdy stosunek kazeiny do białek serwatkowych maleje, twardość żelu jogurtowego wzrasta [6]. Najtwardsze jogurty uzyskano po dodaniu 4% WPC 85 i WPCO. Bhullar i wsp. [1] otrzymywali jogurty z mleka pełnego, do którego dodawano 2% proszku serwatkowego, odtłuszczonego mleka w proszku i WPC. Najlepsze wyniki otrzymano przez wzbogacanie jogurtu WPC.

Tabela 3

Wpływ wielkości dodatku preparatu białek mleka na gumowatość jogurtu stałego.
Effect of additives' size of milk proteins preparation on gumminess of set yogurt.

Wielkość dodatku Additives size [%]	Rodzaj preparatu mlecznego Type of dry dairy product					
	0	OMP	WPC 35	WPC 65	WPC 85	WPCO
1	12,71 ^{ab} ± 0,59	16,72 ^{cde} ± 1,01	13,34 ^{abc} ± 0,67	14,80 ^{abcd} ± 0,47	11,56 ^{ab} ± 0,80	13,91 ^{abc} ± 2,52
2	-	18,17 ^{de} ± 1,78	13,90 ^{abc} ± 0,87	15,01 ^{bcd} ± 0,51	11,24 ^a ± 0,38	13,53 ^{abc} ± 3,41
4	-	19,83 ^e ± 1,12	17,83 ^{ede} ± 0,50	57,25 ^h ± 2,63	52,99 ^g ± 4,66	42,04 ^{hf} ± 7,54

a-h – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($P < 0,05$);

a-h – mean values with different superscripts are statistically significant different at $P < 0.05$.

Wzrost stężenia suchej masy w jogurtach wpływał na wzrost ich gumowatości (tab. 3). Dodatek OMP i WPC 35 w niewielkim stopniu wpływał na gumowatość jogurtów otrzymywanych metodą termostatową. Wzrost zawartości suchej masy, poprzez dodatek preparatów do 2%, w przypadku wszystkich stosowanych preparatów białek serwatkowych spowodował niewielki wzrost gumowatości. Najbardziej gumowatą teksturą charakteryzowały się jogurty otrzymane z dodatkiem 4% WPC 65 i WPC 85, a trochę niższą wartość gumowatości stwierdzono w przypadku jogurtu z dodatkiem WPCO. Pomimo dużej twardości jogurtów, jaką uzyskano przy 4% dodatku szczególnie WPC 85 i WPCO, ich gumowata tekstura byłaby źle oceniana przez kon-

sumentów. Dlatego też korzystniejszym rozwiązaniem wydaje się wzbogacanie mleka przy użyciu WPC 85 w ilości do 2%. Otrzymane w ten sposób jogurty miały dobrą teksturę (nie były zbyt twarde ani zbyt zwarte). Konsystencja jest jedną z ważniejszych cech fizycznych jogurtu, na którą zwracają uwagę konsumenci, decydując się na zakup tego produktu. W przemyśle mleczarskim konsystencja jogurtu modyfikowana jest zwykle przez dodatek odtłuszczonego mleka w proszku. Jako alternatywę tego rozwiązania można zaproponować stosowanie koncentratów białek serwatkowych zawierających stosunkowo niewielkie ilości laktozy. Ilość dodawanych koncentratów nie powinna być jednak większa niż 2%, gdyż wyższe dodatki niekorzystnie wpływają na teksturę gotowego wyrobu.

Wnioski

1. Dodatek koncentratów białek serwatkowych (WPC) do mleka przerobowego powodował wydłużenie okresu potrzebnego do powstania skrzepu jogurtowego.
2. Wśród stosowanych koncentratów białek serwatkowych (WPC) jogurty o najwyższej lepkości i odpowiedniej teksturze otrzymano po dodaniu WPC 85.
3. Jogurty otrzymywane z dodatkiem koncentratów zawierających dużo substancji niebiałkowych (WPC 35 i WPC 65) miały zdecydowanie słabsze właściwości reologiczne w porównaniu z jogurtami zagęszczanymi przez dodatek OMP do mleka przerobowego.
4. Zbyt duże stężenie dodawanych WPC (>2%) wpływało na zmianę tekstury jogurtów na zbyt gumowatą.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura

- [1] Bhullar Y. S., Uddin M. A., Shah N. P.: Effects of ingredients supplementation on textural characteristic and microstructure of yogurt. *Milchwissenschaft*, 2002, **57**, 328-332.
- [2] Dannenberg F., Kessler H. G.: Application of reaction kinetics to the denaturation of whey proteins in heated milk. *Milchwissenschaft*, 1988, **43**, 3-7.
- [3] Guzman-Gonzalez M, Morais F, Ramos M and Amigo L, Influence of skimmed milk concentrate replacement by dry dairy products in a low fat set-type yoghurt model system. I: Use of whey protein concentrates, milk protein concentrates and skimmed milk powder. *J. Sci. Food Agric.*, 1999, **79**, 1117–1122.
- [4] Lucey J. A., Munro P. A., Singh H.: Effects of heat treatment and whey protein addition on the rheological properties and structure of acid skim milk gels. *Int. Dairy J*, 1999, **9**, 275-279.
- [5] Lucey J. A., Tet Teo C., Munro P. A., Singh H.: Rheological properties at small (dynamic) and large (yield) deformation of acid gels made from heated milk. *J. Dairy Res*, 1997, **64**, 591-600.

- [6] Puvanenthiran A, Williams R.P.W. and Augustin M.A.: Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. *Int. Dairy J.*, 2002, **12**, 383-391.
- [7] Remeuf F., Mohammed S., Sodini I., Tissier J.P.: Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *Int Dairy J.*, 2003, **13**, 773-782.
- [8] Sodini I., Montella J., Tong P.: Physical properties of yogurt fortified with various commercial whey proteins concentrates. *J. Sci. Food Agric.*, 2005, **85**, 853.
- [9] Vasbinder A. J., Alting A. C., Visschers R. W., De Kruif C. G.: Texture of acid milk gels: formation of disulfide cross-links during acidification. *Int. Dairy J.*, 2003, **13** (1), 29-38.

EFFECT OF ADDITION OF DIFFERENT WHEY PROTEIN CONCENTRATES (WPC) ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF SET-TYPE YOGURT

S u m m a r y

The aim of this paper was to examine the effect of different types of protein concentrates on rheological properties of set type yogurts. Yogurts were supplemented by addition of 1,2 or 4% of WPC35, 65WPC, WPC 85 and defatted WPC(WPCO). The process of yogurt fermentation was monitored with using of dynamic oscillation rheometry and following parameters such as: viscosity, hardness and gumminess were determined. In case of yogurt where no milk protein powder was added, the curd started to form after 126 minutes of fermentation. The addition of skimmed milk powder (SMP) decreased the curdling time and it was 119 minutes. For WPC 85 and WPCO, the increase of curdling time was observed and it was 148 and 165 minutes respectively. The hardest yogurts were obtained with 4% of WPC 85 and WPCO addition, but these yogurts characterized with too gummy structure.

Key words: yogurt, hardness, viscosity, WPC ☒

IZABELA DMYTRÓW, KRZYSZTOF KRYŻA, KRZYSZTOF DMYTRÓW,
SŁAWOMIR LISIECKI

WPLYW OPAKOWANIA NA WYBRANE CECHY JAKOŚCIOWE SERA TWAROGOWEGO KWASOWEGO PRZECHOWYWANEGO W WARUNKACH CHŁODNICZYCH

Streszczenie

Analizowano wpływ rodzaju zastosowanej folii opakowaniowej na cechy sensoryczne i wybrane wskaźniki fizykochemiczne sera twarogowego podczas 3-tygodniowego przechowywania w temperaturze $5 \pm 1^\circ\text{C}$. Przedmiotem badań był ser twarogowy kwasowy wyprodukowany w warunkach laboratoryjnych, zapakowany w dwa rodzaje folii barierowej PE/PA tj. folię o grubości $40 \mu\text{m}$ i $80 \mu\text{m}$ z EVOH (PE/EVOH/PA).

Badany ser oceniono sensorycznie oraz oznaczono w nim zawartość wody, tłuszczu i białka, kwasowość miareczkową i pH oraz zmiany oksydacyjne tłuszczu. Oznaczono ponadto twardość twarogu za pomocą testu podwójnego ściskania TPA. Stwierdzono, że rodzaj opakowania nie wpłynął na cechy sensoryczne analizowanych prób. Zawartość wody była istotnie większa w przechowywanym chłodniczo serze twarogowym kwasowym zapakowanym w folię barierową o grubości $80 \mu\text{m}$ z EVOH (PE/EVOH/PA). Nie stwierdzono jednoznacznego wpływu zastosowanego opakowania na zawartość tłuszczu, kwasowość miareczkową oraz pH analizowanego twarogu doświadczalnego. W czasie całego okresu przechowywania większą twardością charakteryzował się twaróg przechowywany w folii o mniejszej barierowości. Oba rodzaje folii hamowały zmiany oksydacyjne tłuszczu do pierwotnych i wtórnych produktów, natomiast nie ograniczały przekształcania kwasów tłuszczowych do skoniugowanych struktur dienowych.

Słowa kluczowe: twaróg, opakowanie, skład chemiczny, twardość, utlenianie, jakość

Wprowadzenie

Zasadniczą wadą serów twarogowych jest ich niewielka, bo zaledwie kilkudniowa, trwałość. Przyczyn tego należy upatrywać z jednej strony w składzie produktu, który stanowi doskonałą pożywkę dla mikroorganizmów, z drugiej zaś w rodzaju opa-

Dr inż. I. Dmytrów, Zakład Technologii Mleczarskiej, dr inż. K. Kryża, Zakład Chłodnictwa, Akademia Rolnicza, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin, dr K. Dmytrów, Katedra Ekonometrii i Statystyki, Uniwersytet Szczeciński, ul. Mickiewicza 64, 71-101 Szczecin, dr inż. S. Lisiecki – Zakład Opakowalnicztwa i Biopolimerów, Akademia Rolnicza w Szczecinie, ul. Kazimierza Królewicza 4, 71-550 Szczecin

kowania, które nie zawsze stanowi dobre zabezpieczenie przed zanieczyszczeniami mikrobiologicznymi, chemicznymi oraz uszkodzeniami mechanicznymi [10]. Ochrona rola opakowania zależy w dużym stopniu od jego rodzaju. Barierowość opakowania decyduje o zmianie środowiska atmosferycznego w opakowaniu, stopniu oddziaływania czynników zewnętrznych i szybkości zmian składników produktu. Zbyt mała barierowość materiału opakowaniowego w stosunku do wilgoci i tlenu staje się przyczyną m.in. obniżenia wartości odżywczej, zmian sensorycznych, przyspieszenia reakcji brązowienia, utleniania witamin, barwników oraz tłuszczu [3].

Celem podjętych badań było określenie wpływu rodzaju zastosowanej folii opakowaniowej na cechy sensoryczne oraz wybrane wskaźniki fizykochemiczne sera twarogowego kwasowego przechowywanego w warunkach chłodniczych.

Material i metody badań

Materiałem badawczym był ser twarogowy kwasowy, wyprodukowany w warunkach laboratoryjnych zgodnie z tradycyjną technologią [5], zapakowany w dwa rodzaje folii różniące się parametrami technicznymi. Surowcem do produkcji sera było pasteryzowane i homogenizowane mleko spożywcze zakupione w handlu detalicznym. Mleko przerobowe zgodnie z deklaracją producenta zawierało 3,2% tłuszczu, 3,0% białka oraz 4,6% laktozy. Wyprodukowany ser w postaci klinków o masie około 300 g każdy zapakowano próżniowo. W systemie pakowania próżniowego zastosowano podciśnienie 15 mbar w ciągu 2,5 s oraz opcję „soft-air” na poziomie 400 mbar. Do pakowania użyto dwa rodzaje folii: folię barierową PE/PA bez EVOH o grubości 40 μm (folia A) i folię barierową PE/EVOH/PA o grubości 80 μm (folia B). EVOH (z ang. Ethylene Vinyl Alcohol Copolymer) to kopolimer etylenu i alkoholu winylowego należący do tworzyw sztucznych o największej dynamice sprzedaży. Zabezpiecza przed przenikalnością gazu, ok. 10 000 razy lepiej niż warstwa polietylenu (PE) o tej samej grubości. Parametry techniczne folii opakowaniowych zastosowanych do zapakowania badanego sera twarogowego przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Podstawowe właściwości fizyczne użytych folii barierowych.
Basic physical properties of used barrier foils.

Symbol folii Foil symbol	Przepuszczalność pary wodnej Permeability of water vapour [g/m ² x 24 h]	Przepuszczalność tlenu Permeability of oxygen [cm ³ /m ² x 24 h x 0,1MPa]
Folia A (40 μm)	max 6	max 35
Folia B (80 μm z EVOH)	max 6	max 3,0

Zapakowany ser twarogowy przechowywano w temp. $5 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 21 dni. Przechowywaniu poddano łącznie 24 klinki sera twarogowego. Analizy wykonywano w dniu produkcji oraz po 3, 7, 14 i 21 dniach przechowywania. Pobierany do badań ser twarogowy każdorazowo poddany został ocenie sensorycznej z zastosowaniem skali pięciopunktowej [14, 15]. Określono strukturę, barwę oraz smak i zapach sera. Oceny dokonywała 5-osobowa grupa degustatorów przeszkolona w wykonywaniu analiz sensorycznych sera twarogowego. Badanie przeprowadzono w pomieszczeniu wolnym od obcych zapachów, w którym każdy oceniający dysponował oddzielnym stanowiskiem oraz wodą destylowaną do przepłukiwania ust.

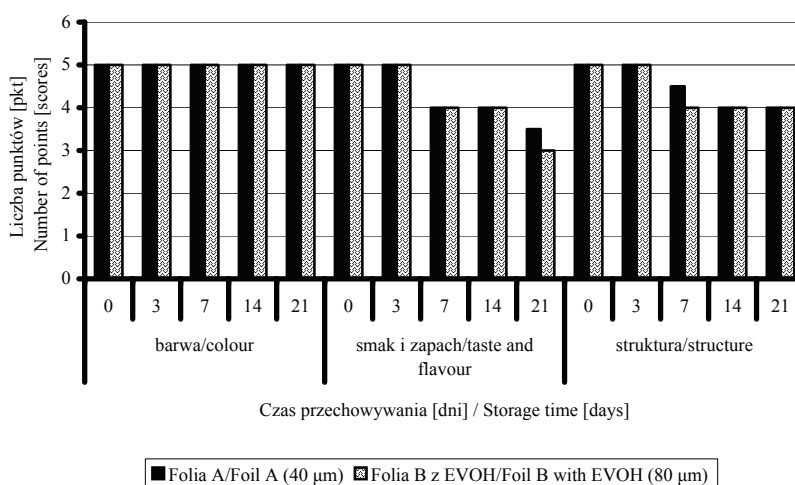
W analizowanych wariantach sera twarogowego oznaczano według Polskiej Normy [13]: zawartość wody metodą suszenia, zawartość tłuszczu metodą Gerbera kwasowość miareczkową w °SH oraz pH. Dodatkowo, w dniu produkcji oraz po 21 dniach przechowywania oznaczano zawartość białka metodą Kjeldahla [13]. Zmiany oksydacyjne frakcji lipidowej sera twarogowego oznaczano w tłuszczu wyekstrahowanym mieszaniną chloroformu z metanolem (2:1) metodą Bligha i Dyera w modyfikacji Linko [7]. W warstwie chloroformowej ekstraktów oznaczano: zawartości wodoronadtlenków metodą pośrednią po ich utlenieniu do aldehydu malonowego (AM) z zastosowaniem FeCl_3 i reakcji z TBA [16]; zawartość sprzężonych struktur dienowych i trienowych kwasów tłuszczowych poprzez pomiar absorbancji, rozcieńczonych od 1:10 do 1:20, ekstraktów chloroformowych przy długości fali odpowiednio 240 nm i 278 nm, a następnie obliczeniu współczynnika absorpcji. Warstwa metanolowowodna ekstraktów służyła do oznaczania zawartości wtórnych produktów utlenienia (aldehydu malonowego) z zastosowaniem TBA metodą Schmedesa i Hølmersa [16]. Doświadczalny ser twarogowy kwasowy poddawano również analizie reologicznej, która polegała na ocenie jego twardości [1]. Badanie to wykonano za pomocą testu podwójnego ściskania TPA przy użyciu analizatora tekstury TA.XT plus firmy Stable Micro System. Klinki sera twarogowego krojono na sześciiany o boku 20 mm, ściskano z prędkością 5 mm/s trzpieniem aluminiowym o średnicy 7,5 mm.

Wszystkie oznaczenia w ramach analizy fizykochemicznej i reologicznej wykonano w 4 powtórzeniach. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel przy wykorzystaniu testów t-Studenta, Cochran-Coxa oraz Shapiro-Wilka. Wszystkie testy wykonano na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Rodzaj zastosowanej folii opakowaniowej nie wpływał na cechy sensoryczne doświadczalnego sera twarogowego, natomiast obserwowane zmiany wyróżników jakościowych spowodowane były wydłużaniem się czasu przechowywania (rys. 1). Barwa prób obu wariantów badawczych pozostawała w całym analizowanym okresie prawi-

dłowa, jednolicie biała. Smak i zapach sera twarogowego niezależnie od opakowania określany był jako bardzo dobry jedynie w ciągu 3 pierwszych dni składowania chłodniczego. W miarę upływu czasu następowało pogorszenie się tych wyróżników jakości sensorycznej. Struktura sera twarogowego zarówno w folii A, jak i folii B w ciągu początkowego 3-dniowego okresu przechowywania była jednolita, zwarta bez wycieku serwatki (5 pkt). Niewielki jej wyciek pojawił się w twarogu B po 7 dniach (ocena za strukturę 4 pkt) natomiast w serze twarogowym A po upływie 14 dni przechowywania. Strukturę obu wariantów twarogu również po 21 dniach przechowywania oceniono na poziomie 4 pkt. Z badań Śmietany i wsp. [18] wynika, że wygląd zewnętrzny przechowywanego w warunkach chłodniczych twarogu nie ulega zmianie, natomiast jego konsystencja w czasie przechowywania staje się bardziej zwarta, barwa mniej jednolita, struktura bardziej ziarnista. Ponadto wzrasta intensywność smaku oraz zapachu kwaśnego i nieznacznie cierpkiego.

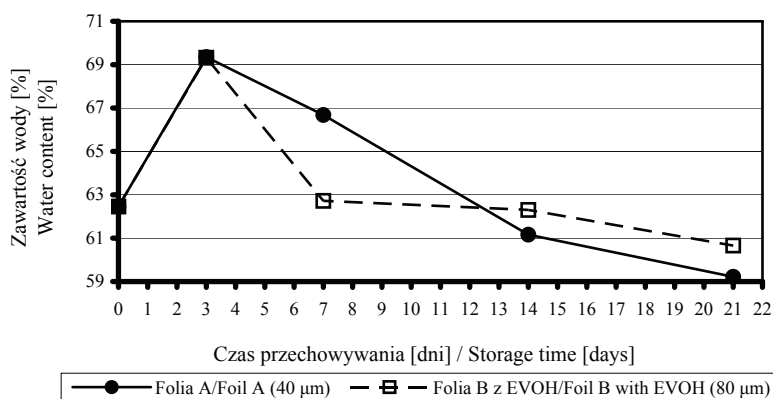


Rys. 1. Wyniki 5-punktowej oceny sensorycznej sera twarogowego kwasowego przechowywanego w temperaturze 5°C

Fig. 1. Results of 5 points sensory analyse of acid-cream cheese (twarog) during storage at 5°C (5-point scale).

Analizując zawartość poszczególnych składników w ocenianym produkcie stwierdzono, że średnia zawartość białka w serze twarogowym pakowanym w folię A wynosiła 12,02%, a w serze przechowywanym w folii B 11,54%. Karczewska i wsp. [6] podają, że zawartość białka w wyprodukowanych przez nich serach twarogowych wynosiła 19,36%. Wyniki pochodzące z innych źródeł literaturowych wskazują, że zawartość białka w twarogach kwasowych może zawierać się w zakresie od 12 do 20% [2, 8].

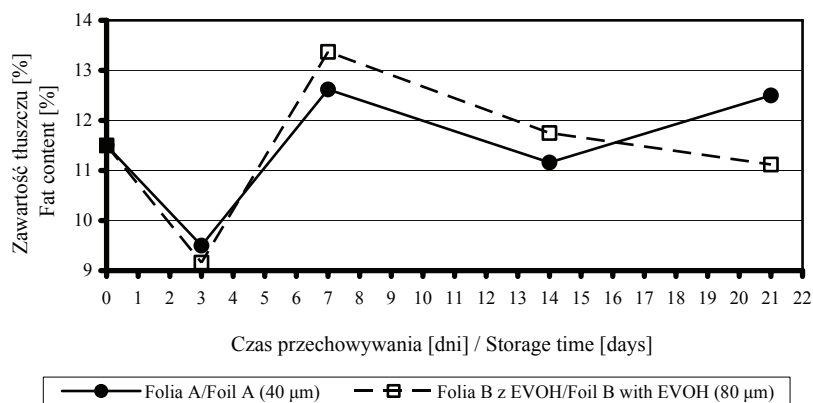
Podczas chłodniczego przechowywania sera twarogowego stwierdzono ogólne zmniejszenie w nim zawartości wody, zarówno w przypadku twarogu pakowanego w folię A (grubość 40 μm), jak i B (80 μm z EVOH). Zawartość wody wykazywała tendencję spadkową praktycznie w całym okresie badawczym (rys. 2). Wyjątek stanowiły pierwsze 3 dni chłodniczego składowania, w czasie których zanotowano blisko 11% wzrost zawartości tego składnika w obu próbach sera. Po 21 dniach przechowywania zawartość wody w serze twarogowym przechowywanym w folii A zmniejszyła się w stosunku do wielkości początkowej o 5,2%, a sera pakowanego w folię B o 2,9%. Analiza statystyczna potwierdziła, że zmiany procentowej zawartości wody w badanym serze twarogowym były statystycznie. Stopniowy ubytek wody w twarogach w miarę upływu czasu chłodniczego składowania wykazali również Karczewska i wsp. [6]. Z badań Cais i Wojciechowskiego [2] jednoznacznie wynika, że w serach twarogowych przechowywanych w temp. poniżej 8°C, może dojść do zatrzymania wody na skutek zbyt zaawansowanego procesu fizycznego dojrzewania twarogu. Proces ten polega między innymi na pęcznieniu białek i wchłanianiu wody wolnej. Zwiększona zawartość wody przejawia się także w strukturze i konsystencji twarogu, która staje się bardziej plastyczna i jednolita. Niewielki wzrost zawartości wody w produkcie i związanie jej z masą białkową wpływa korzystnie na wydatek i podwyższoną efektywność ekonomiczną [17]. W badaniach wykonanych przez Plutę i wsp. [11] stwierdzono ubytek zawartości wody w ciągu 3 tygodni przechowywania serów twarogowych pakowanych: próżniowo, w modyfikowanej atmosferze, jak i bezpróżniowo. Zmniejszenie zawartości wody spowodowane było wyciekaniem serwatki i gromadzeniem się jej w opakowaniu, co obserwowano również w badaniach własnych w okresie od 3. do 21. dnia przechowywania.



Rys. 2. Zmiany zawartości wody w serze twarogowym kwasowym w czasie przechowywania w temperaturze 5°C.

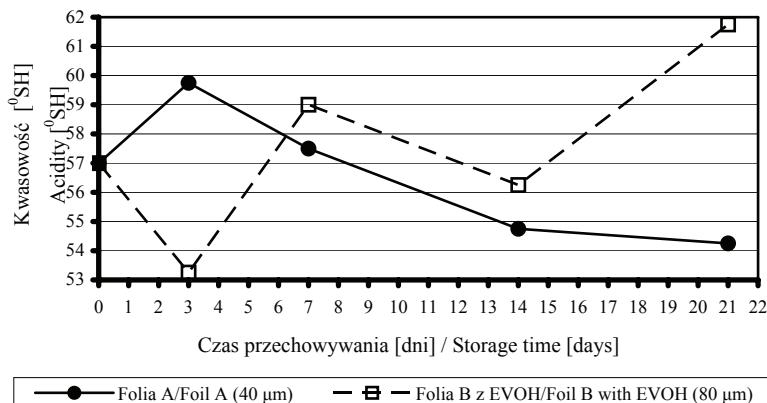
Fig. 2. Changes of water content in acid-curd cheese (tvarog) during storage at 5°C.

Średnia zawartość tłuszczu w serze twarogowym przechowywanym w folii A wynosiła 11,5%, natomiast w serze w folii B 11,4%. W wyniku przeprowadzonych analiz stwierdzono (mimo okresowych wahań) ogólny przyrost zawartości tłuszczu w serze pakowanym w folię o grubości 40 μm (o 8,7%) oraz 3,3% ubytek w serze w folii o grubości 80 μm (rys. 3). Zastosowane opakowanie nie wywierało jednoznacznego wpływu na zawartość tłuszczu w serze twarogowym.



Rys. 3. Zmiany zawartości tłuszczu w serze twarogowym kwasowym w czasie przechowywania w temperaturze 5°C.

Fig. 3. Changes of fat content in acid-curd cheese (tvarog) during storage at 5°C.



Rys. 4. Zmiany kwasowości miareczkowej sera twarogowego kwasowego w czasie przechowywania w temperaturze 5°C.

Fig. 4. Changes of titratable acidity in acid-curd cheese (tvarog) during storage at 5°C.

Początkowa zawartość nadtlenków w serze twarogowym po wyprodukowaniu wynosiła 1,77 mg aldehydu malonowego w 1 kg twarogu. W analizowanych próbach obu wariantów zaobserwowano w czasie pierwszego tygodnia przechowywania zmniejszenie ich zawartości (o około 70%), a następnie stopniowy przyrost do zawar-

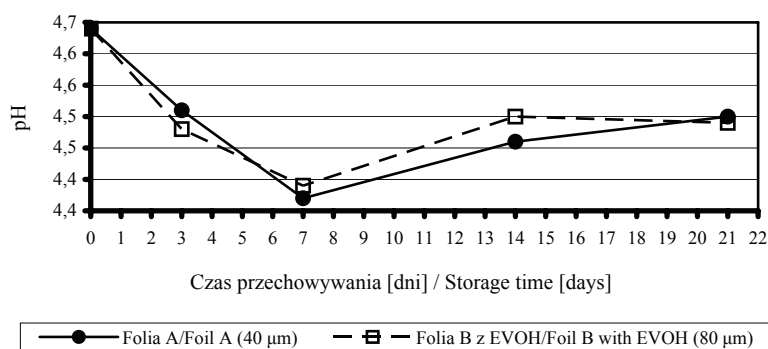
tości zbliżonych w dniu produkcji (rys. 7). Zawartość nadtlenu w serze zapakowanym w oba rodzaje folii była zbliżona przez cały okres przechowywania. Wyniki analizy statystycznej potwierdziły brak statystycznie istotnego wpływu rodzaju folii opakowaniowej na różnice zawartości wodoronadtlenków w całym okresie przechowywania twarogu. Dostęp tlenu w czasie produkcji sera twarogowego oraz inne czynniki przyspieszające reakcje utleniania (np. metale) mogą wpłynąć na dynamikę przebiegu autooksydacji tłuszczu, której może nie ograniczyć całkowicie nawet zastosowanie atmosfery modyfikowanej [9].

Początkowa zawartość związków karbonylowych w tłuszczu sera twarogowego wynosiła 0,088 mg aldehydu malonowego w 1 kg twarogu i utrzymywała się na tym poziomie, w próbach obu wariantów badawczych, przez 14 dni składowania. Dopiero po 21 dniach przechowywania, w twarogu w folii B nastąpił wzrost zawartości wtórnych produktów (o 55,55%), zaś w serze twarogowym zapakowanym w folię A stwierdzono spadek (o 44,44%) zawartości analizowanych związków (rys. 8). Stabilna zawartość związków karbonylowych może być wynikiem efektywnego ograniczenia przemian wodoronadtlenków w związki karbonylowe wskutek zastosowanej techniki pakowania oraz przechowywania w temperaturze chłodniczej. Ponadto kompleksy białkowo-tłuszczowe w produktach mlecznych mogą wykazywać aktywność przeciwutleniającą [12]. Statystycznie istotne różnice zmian zawartości wtórnych produktów utlenienia stwierdzono tylko w 21. dniu przechowywania twarogu. W tłuszczu sera twarogowego zapakowanego zarówno w folię A, jak i B przez cały okres przechowywania następował stopniowy wzrost zawartości skoniugowanych struktur dienowych kwasów tłuszczowych. Największy ich przyrost (około 8-krotny) oznaczono w 3. dniu przechowywania, w obu wariantach (A i B). Zastosowane folie i warunki próżniowego oraz chłodniczego przechowywania nie spowalniały szybkości przekształcania kwasów tłuszczowych do dienowych struktur w całym okresie badawczym (rys. 9). Statystycznie istotne różnice zawartości sprzężonych dienów zanotowano tylko w 3. i 14. dniu przechowywania obu wariantów twarogu.

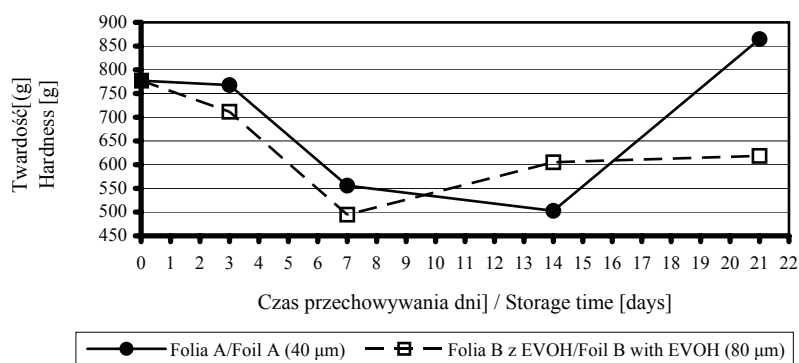
Zawartość skoniugowanych trienów w tłuszczu twarogu zapakowanego w oba rodzaje folii po początkowych wahaniach utrzymywała się na zbliżonym poziomie od 7. dnia przechowywania. Zaobserwowano ponad 1,5-krotny przyrost zawartości sprzężonych trienów w serze w folii A i B pomiędzy 3. a 7. dniem przechowywania (rys. 10). Statystycznie istotne różnice zmian zawartości sprzężonych trienów stwierdzono tylko w 21. dniu przechowywania twarogów.

Przeprowadzone badania wykazały niejednoznaczny wpływ rodzaju zastosowanej folii opakowaniowej na kształtowanie się pH oraz kwasowości miareczkowej doświadczalnych serów twarogowych. Oznaczono ogólny spadek pH zarówno sera pakowanego w folię A (o grubości 40 μm), jak i przechowywanego w folii B (80 μm z EVOH) (rys. 4). Kwasowość czynna (pH) świeżych twarogów wynosiła średnio 4,66. W obu

przypadkach, w czasie przechowywania, odnotowano początkowy spadek pH (w ciągu pierwszych 7 dni), a następnie wzrost nieprzekraczający jednak wielkości początkowej. Dynamika zmian kwasowości czynnej była prawie identyczna w obu próbach badawczych, jedynie w ostatnim etapie przechowywania stwierdzono 3% wzrost pH sera twarogowego przechowywanego w folii o mniejszej barierowości oraz prawie 3,5% obniżenie pH twarogu w folii B.



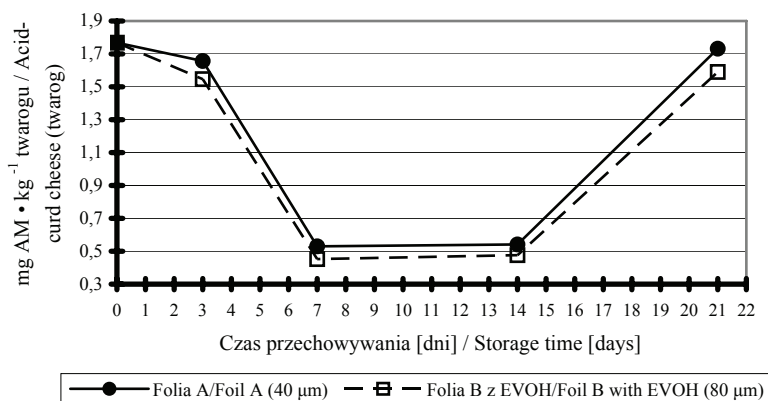
Rys. 5. Zmiany pH sera twarogowego kwasowego w czasie przechowywania w temperaturze 5°C.
Fig. 5. Changes of pH in acid-curd cheese (tvarog) during storage at 5°C.



Rys. 6. Zmiany twardości sera twarogowego kwasowego w czasie przechowywania w temperaturze 5°C.
Fig. 6. Changes of hardness of acid-curd cheese (tvarog) during storage at 5°C.

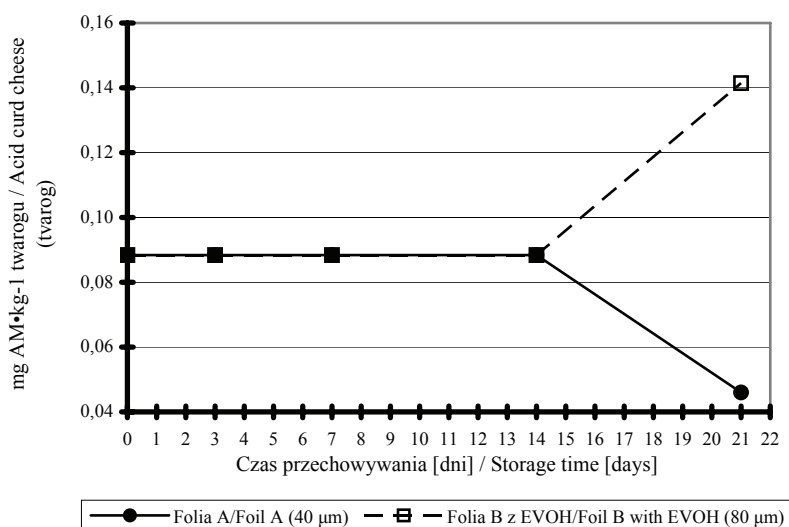
W czasie przechowywania stwierdzono ogólne zmniejszenie kwasowości miareczkowej sera twarogowego kwasowego pakowanego w folię A (o 4,82%) oraz ponad 8% wzrost w serze przechowywanym w folii B (80 µm z EVOH) (rys. 4). Zmniejszenie kwasowości miareczkowej Gertner i wsp. [4] tłumaczą zahamowaniem aktywności paciorkowców mlekowych, a nawet ich częściowym wymieraniem podczas chłodniczego przechowywania twarogów. Również w badaniach serów twarogowych, przeprowadzonych przez Molską i wsp. [8], zaobserwowano zmiany kwasowości miarecz-

kowej. Według tych autorów wzrost kwasowości twarogu może być spowodowany między innymi proteolizą białek i powstawaniem zjonizowanych grup.



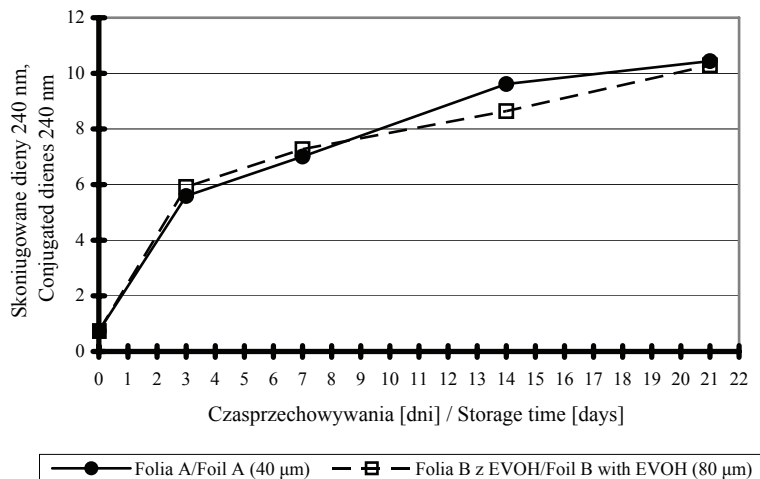
Rys. 7. Zmiany zawartości wodoronadtlenków [mg AM · kg⁻¹ twarogu] w serze twarogowym kwasowym w czasie przechowywania w temperaturze 5°C.

Fig. 7. Changes of hydroperoxides content [mg AM · kg⁻¹ of cheese] in acid-curd cheese (twarog) during storage at 5°C.



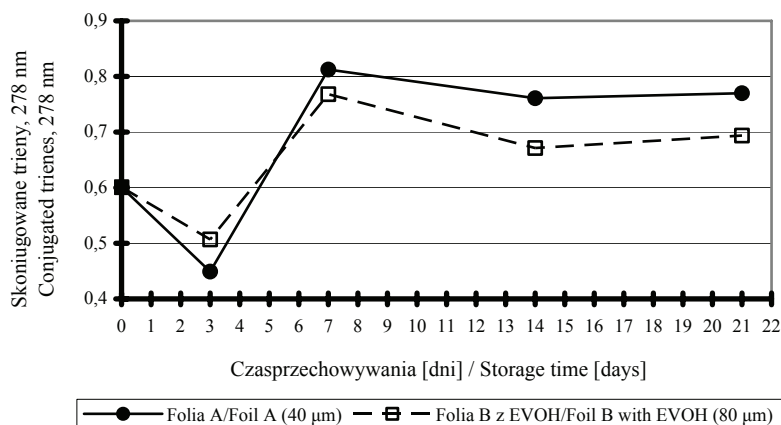
Rys. 8. Zmiany zawartości wtórnych produktów utlenienia [mg AM · kg⁻¹ twarogu] w serze twarogowym kwasowym w czasie przechowywania w temperaturze 5°C.

Fig. 8. Changes of content of secondary products of oxidation [mg AM · kg⁻¹ of cheese] in acid-curd cheese (twarog) during storage at 5°C.



Rys. 9. Zmiany współczynnika absorpcji sprzężonych struktur dienowych kwasów tłuszczowych sera twarogowego kwasowego w czasie przechowywania w temperaturze 5°C.

Fig. 9. Changes of absorption coefficient of compound dien structures of fat acids in acid-curd cheese (tvarog) during storage at 5°C.



Rys. 10. Zmiany współczynnika absorpcji sprzężonych struktur trienowych kwasów tłuszczowych sera twarogowego kwasowego w czasie przechowywania w temperaturze 5°C.

Fig. 10. Changes of absorption coefficient of compound trien structures of fat acids in acid-curd cheese (tvarog) during storage at 5°C.

Analiza reologiczna wykazała wahania twardości w obu wariantach sera twarogowego (rys. 6). W obu przypadkach, w czasie przechowywania odnotowano wyraźne zmniejszenie się twardości w pierwszym tygodniu przechowywania, natomiast

w ostatnim intensywny wzrost twardości sera twarogowego pakowanego w folię o grubości 40 μm (o 72%) oraz 2,2% wzrost tego wskaźnika w serze przechowywanym w folii o grubości 80 μm z EVOH. Analiza statystyczna twardości badanego sera twarogowego potwierdziła, że zaobserwowane zmiany okazały się w większości przypadków statystycznie istotne. Z badań Ziółkowskiego i wsp. [19] wynika, że sery pakowne próżniowo charakteryzują się mniejszą twardością niż sery pakowane innym systemem. Jest to spowodowane naruszeniem struktury podczas pakowania i przechowywania. W literaturze często opisywane są zależności między twardością sera a zawartością wody lub białek. Wraz ze wzrostem zawartości wody w serach twarogowych obserwuje się spadek ich twardości. Odwrotna zależność występuje w przypadku zawartości białka, czyli wraz ze wzrostem zawartości tego składnika następuje wzrost twardości serów twarogowych. Podobnie Bonczar i Walczycka [1] stwierdziły, że właściwości reologiczne serów uzależnione są od zawartości w nich wody. W niniejszych badaniach stwierdzono wzrost twardości twarogu opakowanego w folię A powyżej 14. dnia przechowywania wraz ze zmniejszającą się w nim zawartością wody (rys. 2 i 6).

Na podstawie badań wykazano, że gwarantowany okres przydatności do spożycia serów twarogowych pakowanych próżniowo w folię PA/PE o grubości 40 μm oraz w folię EVOH 80 μm , przechowywanych w temp. $5 \pm 1^\circ\text{C}$ wynosi około 14 dni.

Wnioski

1. Rodzaj zastosowanej folii barierowej nie wpłynął na cechy sensoryczne sera twarogowego kwasowego w czasie przechowywania.
2. Zawartość wody w przechowywanym chłodniczo serze twarogowym kwasowym w istotny sposób zależała od rodzaju użytej do pakowania folii barierowej.
3. Nie stwierdzono jednoznacznego wpływu użytego opakowania na zawartość tłuszczu, pH oraz kwasowość miareczkową sera twarogowego w czasie przechowywania.
4. Większą twardością charakteryzował się ser twarogowy kwasowy przechowywany w folii o mniejszej barierowości.
5. Obie zastosowane folie aktywnie zapobiegały utlenieniu tłuszczu w twarogu do pierwotnych i wtórnych produktów w czasie chłodniczego przechowywania.
6. Zastosowane folie opakowaniowe A (o grubości 40 μm) i B (80 μm z EVOH) nie spowodowały różnic w przebiegu zmian zawartości sprzężonych kwasów tłuszczowych (dienów i trienów) w analizowanym serze twarogowym podczas chłodniczego przechowywania.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura


- [1] Bonczar G., Walczycka M.: Zależność między parametrami chemicznymi a teksturą świeżej i parzonej masy serowej z mleka owczego. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 2001, **2** (28), 24-31.
- [2] Cais D., Wojciechowski J.: Zmiany wybranych cech jakościowych serów twarogowych w trakcie ich przechowywania. *Przegl. Mlecz.*, 1998, **6**, 177-179.
- [3] Czapski J., Michniewicz J.: Wpływ opakowania na zmiany jakości żywności podczas przechowywania. *Przem. Spoż.*, 1997, **10**, 15-19.
- [4] Gertner L., Jaszewska M., Frölich A.: Kształtowanie się ubytków i zmian fizykochemicznych w serach twarogowych w zależności od warunków mikroklimatycznych. *Przegl. Mlecz.*, 1980, **2**, 17-19.
- [5] Instrukcja technologiczna CZSM Nr 342/88. Sery twarogowe niedojrzewające.
- [6] Karczewska D., Pikul J., Pluszka H., Chudy S.: Zmiany wybranych cech fizykochemicznych tradycyjnie pakowanego twarogu w zależności od rodzaju użytego materiału opakowaniowego. *Chłodnictwo*, 2005, **10**, 46-51.
- [7] Linko R.R.: Fatty acid and other components of Baltic herring flesh lipids. *Ann. Univ. Turku. Ser. A.*, 1967, **101**, 7-121.
- [8] Molska I., Kielak I., Łapińska H.: Wpływ termizacji i przechowywania mleka na jakość mikrobiologiczną i trwałość sera twarogowego. *Przem. Spoż.*, 1996, **2**, 42-46.
- [9] Niewiadomski H.: *Technologia tłuszczów jadalnych*. WNT, Warszawa 1979, s. 381-382.
- [10] Panfil-Kuncewicz H., Kuncewicz A.: Nowoczesne opakowania twarogów i serów. *Przegl. Mlecz.*, 1996, **12**, 366-368.
- [11] Pluta A., Wnuk B., Ziarno B., Berthold A.: Wpływ systemu pakowania twarogu na jego jakość. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **4** (37), 330-340.
- [12] Pokorny J., Kołakowska A.: Lipid-protein and lipid-saccharide interactions. In: *Chemical and Functional Properties of Food Lipids* - pod red. Z. Sikorski, A. Kołakowska, Ed. CRS Press., 2003, pp. 345-362.
- [13] PN-73/A-86232. Mleko i przetwory mleczarskie. Sery. Metody badań.
- [14] PN-ISO 6658:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne.
- [15] PN-ISO 4121:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
- [16] Schmedes A., Hölmer G.: A new thiobarbituric acid (TBA) method for determining free malondialdehyde (MDA) and hydroperoxides selectively as a measure of lipid peroxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1989, **66** (6), 813-817.
- [17] Śmietana Z., Derengiewicz W., Jankowski A., Wojdyński T.: Nowa technika i technologia produkcji twarogów. *Przegl. Mlecz.*, 1998, **9**, 288-292.
- [18] Śmietana Z., Szpendowski J., Bohdziewicz K.: Charakterystyka tradycyjnego, „polskiego twarogu” otrzymanego według własnej nowoczesnej techniki i technologii. *Przegl. Mlecz.*, 2003, **4**, 126-129.
- [19] Ziółkowski T., Panfil-Kuncewicz H., Staniewska K., Szpendowski J.: Durability of tvarogs produced with modified technology and packed with different methods. *Pol. J. Nat. Sci.*, 2004, **2**, 163-170.

**THE INFLUENCE OF PACKING ON SELECTED QUALITATIVE FEATURES
OF ACID-CURD CHEESE STORED IN COOLING CONDITIONS**

S u m m a r y

Analyse of influence of used packaging foil on sensory features and selected physicochemical characteristics of acid-curd cheese during 3-weeks storage in temperature $5^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ is presented in this paper. The object of analysis was acid-curd cheese produced in laboratory conditions and packed in two types of barrier foil PE/PA, e.g. foil 40 μm thick and 80 μm thick with EVOH.

The analysed cheese was assessed by means of sensory analysis and the following characteristics were marked: water content, fat content, protein content, titratable acidity, pH and oxidant changes of fat. Moreover, its hardness was marked by means of test of double compression TPA. The results state that type of packaging had not influenced sensory features of analysed samples. Water content was significantly higher in acid-curd cheese packed in barrier foil 80 μm thick with EVOH. The analysis did not indicated unambiguous influence of used packaging on fat content, titratable acidity and pH of analysed acid - curd cheese. During the whole storage period, acid - curd cheese stored in thinner foil was harder. Both types of foil inhibited oxidation changes of fat into primary and secondary products, while they did not inhibit transformation of fat acids into conjugated dien structures.

Key words: acid-curd cheese, packaging, chemical composition, hardness, oxidation, quality 

MAREK NOWAK, TADEUSZ TRZISZKA, MAREK SZOŁTYSIK

PREFERENCJE KONSUMENTÓW MLECZNYCH NAPOJÓW FERMENTOWANYCH

Streszczenie

Przedmiotem badań było określenie preferencji konsumentów mlecznych napojów fermentowanych. Badania wykonano w okresie październik 2005 - styczeń 2006 na terenie Wrocławia. Bezpośrednie wywiady kwestionariuszowe przeprowadzono z 310 respondentami. Badania wykazały, że nabywcom mlecznych napojów fermentowanych najbardziej znane były jogurty - 97% i kefir - 94% wskazań. Produkty te były konsumowane głównie 1-3 razy tygodniowo - 43% i codziennie - 39% wskazań. Szacowany poziom spożycia wyniósł 2 litry na osobę miesięcznie i był trzykrotnie wyższy od średniej na Dolnym Śląsku. Największy wpływ na wybór badanych produktów miały: smak - 24%, marka - 23% i cena - 18% wskazań. Mniejsze znaczenie miały: jakość (9%), obniżona zawartość tłuszczu (6%), termin przydatności do spożycia (5%) i wartość odżywcza (5%). Konsumenti preferowali następujące marki jogurtów: Danone (28%), Zott (24%) i Bakoma (15% wskazań). Głównym źródłem informacji o mlecznych napojach fermentowanych były: reklama (43%) oraz informacje prasowe i telewizyjne (23% wskazań).

Słowa kluczowe: mleczne napoje fermentowane, preferencje konsumenckie

Wprowadzenie

Preferencje konsumenckie mają zasadnicze znaczenie w procesie podejmowania decyzji zakupu produktów żywnościowych. Konsument dokonuje wyboru, biorąc pod uwagę sposób wykorzystania produktu, jego fizyczną postać, sortyment i gatunek, zawartość dodatkowych składników, sposób przygotowania posiłków. Częstość czynnikiem różnicującym preferencje nabywców produktów żywnościowych są wrażenia smakowe oraz pozytywne lub negatywne nastawienie do produktów. Ważne są również preferencje konsumentów wobec marek produktów.

Preferencje zarówno smaków, jak i marek, mogą być rozpatrywane w ujęciu szerszym i węższym. Szersze ujęcie preferencji smaków pozwala na różnicowania pod

Dr M. Nowak, Katedra Ekonomiki i Organizacji Rolnictwa, Wydz. Rolniczy, Uniwersytet Przyrodniczy, pl. Grunwaldzki 24A, 50-363 Wrocław, prof. dr hab. T. Trziszka, dr inż. M. Szoltysik, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. C. K. Norwida 25, 50-375 Wrocław

względem smaku całej grupy produktów, np. jogurtów. Natomiast preferencje w węższym ujęciu pozwalają szeregować smaki wyrobów konkretnego producenta [7, 12]. W ramach preferencji wobec marek *sensu largo* konsument dokonuje wyboru marek reprezentujących kategorie produktów, np. fermentowane napoje mleczne. Preferencje *sensu stricte* dotyczą wyboru określonej marki w danej grupie produktowej lub produktów podobnych pod względem cech sensorycznych, np. marki jogurtów o smaku brzoskwińowym [1].

Wyniki badań przeprowadzonych w krajach UE wykazały, że na decyzje zakupu produktów żywnościowych wpływają przede wszystkim: smak, cena, właściwości zdrowotne, zdolność do długotrwałego przechowywania, wartość odżywcza, naturalność, kraj pochodzenia, producent (marka), nazwa rynkowa, ekologiczność, sposób przyrządzania, wartość kaloryczna, jakość opakowania [23].

Material i metody badań

Badania przeprowadzono na terenie Wrocławia w okresie październik 2005 r. – styczeń 2006 r. w miejscach dystrybucji mlecznych napojów fermentowanych oraz mieszkaniach i miejscach pracy respondentów. W badaniach wykorzystano metodę wywiadu bezpośredniego. Zastosowano kwestionariusz wywiadu, składający się z dwóch części. W pierwszej, dotyczącej badanego problemu, pytania miały charakter otwarty. Natomiast w drugiej części, zawierającej opis sytuacji socjo-ekonomicznej respondentów, zastosowano pytania zamknięte. Próba 310 respondentów została dobrana uznaniowo. W wywiadach uczestniczyły wyłącznie osoby dokonujące zakupów dla całej rodziny oraz znające mleczne napoje fermentowane [10].

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono strukturę społeczno-ekonomiczną badanej grupy respondentów.

Wśród respondentów zdecydowanie przeważały kobiety (81,0%), które najczęściej podejmują decyzje dotyczące zakupów żywności i same ich dokonują [11]. Dominującą grupę badanych nabywców i konsumentów mlecznych napojów fermentowanych stanowiły osoby: zamieszkałe w dużym mieście (87,1%), w wieku 18–35 lat (52,9%), i 36–50 lat (31,9%), z wykształceniem średnim (56,1%) i wyższym (39,0%), o statusie pracownika (62,9%) lub studenta (12,9%), prowadzące gospodarstwa domowe trzyosobowe (31,0%) lub czterosobowe (30,0%), dysponujące dochodem miesięcznym na poziomie 1401–2100 zł (29,0%), 701–1400 zł i 2001–3000 zł (po 22,0%). Poziom wykształcenia w analizowanej grupie był dużo wyższy niż mieszkańców miast Dolnego Śląska, wynoszący 12,6% osób z wyższym wykształceniem i 38,3% ze średnim [14]. Jest to charakterystyczne dla konsumentów kupujących innowacyjne produkty, do których należą, m.in., biojogurty i napoje nowej generacji [4].

Tabela 1

Struktura społeczno-ekonomiczna respondentów.
Social and economical structure of respondents.

Płeć / Sex	Liczba odpowiedzi Answers number	[%] odpowiedzi
kobieta / woman	251	81,0
mężczyzna / man	59	19,0
Wiek / Age		
18-35 lat / years	164	52,9
36-50 lat / years	99	31,9
powyżej 50 lat / above 50 years old	47	15,2
Wykształcenie / Education level		
podstawowe / primary	3	1,0
zawodowe / vocational	12	3,9
średnie / secondary	174	56,1
wyższe / higher	121	39,0
Status społeczny		
przedsiębiorca / businessman	22	7,1
pracownik / employee	195	62,9
student / student	40	12,9
rencista/emeryt / pensioner	31	10,0
bezrobotny / unemployed	22	7,1
Miesięczny dochód rodziny respondenta		
Monthly income		
poniżej / below 700 zł	6	1,9
701-1400 zł	68	22,0
1401-2100 zł	90	29,0
2101-3000 zł	68	22,0
3001-3700 zł	28	9,0
powyżej / above 3700 zł	50	16,1
Miejsce zamieszkania / Place of living		
duże miasto / big city	270	87,1
małe miasto / small city	34	11,0
wieś / village	6	1,9

Źródło: obliczenia własne.

Source: own calculations.

Niemal wszyscy respondenci (98%) deklarowali zakup i spożycie fermentowanych napojów mlecznych, spośród których najbardziej znane były jogurty (97%), kefir (94%) i maślanka (63%). Natomiast szeroko reklamowane napoje nowej generacji uzyskały jedynie 19% wskazań. Respondenci kupowali analizowane produkty głównie dla siebie i członków rodziny (84%). Zakupy 1–3 razy w tygodniu deklarowało 56% badanych, codziennie – 21%, 4–6 razy w tygodniu – 11%. Badania częstotliwości zakupu trzech głównych marek mlecznych napojów fermentowanych wykazały, iż więcej respondentów kupowało je kilka razy w tygodniu (32%) oraz kilka razy w miesiącu (22%), 18% dokonywało codziennych zakupów, a raz w tygodniu – 16% [12].

Jako miejsce zakupu mlecznych napojów fermentowanych respondenci najczęściej wskazywali market – 48% lub sklep osiedlowy – 45% wskazań. Rzadziej był to plac targowy (4%) lub hurtownia (3%).

We Wrocławiu 39% badanych deklarowało codzienne spożycie tych produktów, natomiast w skali całego kraju wskaźnik ten wyniósł jedynie 12% [9]. Najczęściej konsumowano je 1-3 razy tygodniowo (43%). W 2004 roku przeciętne miesięczne spożycie na osobę mlecznych napojów wyniosło 0,61 l, w tym jogurtów 0,35 l. Było to pięciokrotnie mniej niż we Francji, gdzie roczne spożycie jogurtu na osobę wyniosło 21,02 kg. W latach 2000-2004 krajowa konsumpcja jogurtów wzrosła o 9,4%, przy czym w roku 2004 była taka sama jak w 2003 [5, 20, 21]. W województwie dolnośląskim w 2004 roku skonsumowano 0,67 l napojów mlecznych miesięcznie na osobę, tj. o 9,8% więcej od średniej krajowej [15]. W badaniach taki poziom spożycia (przedział 501–1100 ml) wskazało 19% respondentów. Poziom niższy – 11%, a wyższy odpowiednio: 29% (1101–2000 ml), 20% (2001–3000 ml), 11% (3001–4000 ml) i 10% (ponad 4000 ml). Szacowana konsumpcja w badanej próbie wyniosła 2 litry na osobę miesięcznie i była trzykrotnie wyższa od średniej na Dolnym Śląsku. Produkty te spożywane były głównie między posiłkami (30% wskazań), jako deser (22%) i na śniadanie (21%); rzadziej na kolację (13%) i jako uzupełnienie posiłku (10%).

Największy wpływ na wybór nabywców fermentowanych napojów mlecznych miały: smak (24% wskazań), marka (23%) i cena (18%). Mniejsze znaczenie miały: jakość (9%), obniżona zawartość tłuszczu (6%), termin przydatności do spożycia (5%) i wartość odżywcza (5%). Kierowanie się smakiem, marką i ceną przez kupujących te produkty potwierdzają wyniki ogólnopolskich badań [2, 6, 7]. Relatywnie niewielki wpływ na decyzję zakupu miały walory zdrowotne opisywanych produktów. Respondenci jedynie pośrednio wybierali ten atrybut, wskazując wartość odżywcza i zakup produktów light. Również badania preferencji konsumentów produktów mleczarskich przeprowadzone w południowo-wschodniej Polsce wykazały, że wartość odżywcza stanowiła mało znaczącą cechę analizowanych produktów [19]. Natomiast z badań przeprowadzonych w Finlandii wynika, że 19% respondentów kupowało jogurty ze względu na ich probiotyczne właściwości [22]. Badania Pieczonki i Skibińskiej-

Buczek [13] wykazały, iż: „W konsumenckiej strukturze cech jakości mlecznych napojów probiotycznych najważniejszą rolę odgrywa ich trwałość”. Natomiast z badań własnych wynika, że jest to cecha interesująca marginalną liczbą konsumentów mlecznych napojów fermentowanych.

Badania znajomości marek głównego sortymentu mlecznych napojów fermentowanych – jogurtów wykazały, iż najchętniej kupowane były produkty marek: Danone (28% wskazań), Zott (24%) i Bakoma (15%). Natomiast 15% respondentów nie było w stanie wybrać ulubionej marki jogurtów. Wyniki badań ogólnopolskich potwierdzają dominację wymienionych marek na krajowym rynku jogurtów [3, 8].

Celem promocji jest przekazanie potencjalnym nabywcom informacji dotyczących oferowanych produktów i zachęcenie do ich zakupu. Właśnie jedna z form promocji – reklama w telewizji, radiu, prasie, na billboardach – była najczęściej wybieranym (43% wskazań) źródłem informacji o mlecznych napojach fermentowanych. Z kolei 23% badanych osób czerpało wiedzę o tych produktach z fachowej literatury, artykułów w czasopismach oraz programów edukacyjnych. Informacyjną funkcję reklamy docenia ponad 70% Polaków [16]. W badaniach zachowań konsumentów produktów mleczarskich zrealizowanych w 1999 roku jedynie 8,7% respondentów deklaroowało wpływ reklamy na ich decyzję zakupu [18]. Na uwagę zasługuje niski odsetek wskazań (7%) opakowań jako źródła informacji o mlecznych napojach fermentowanych. Z badań przeprowadzonych w USA wśród konsumentów żywności wynika, że zdecydowana ich większość nie korzysta z informacji podanych na etykiecie wyrobu ani ich nie rozumie [4]. Natomiast z badań Świdy i Kulińskiego [17] wynika, że aż 83,8% respondentów z Polski południowo-wschodniej zwracało uwagę na informacje zamieszczone na opakowaniach produktów mleczarskich. Dotyczyło to szczególnie: terminu przydatności do spożycia, zawartości składników odżywczych i zawartości tłuszczu.

Wnioski

1. Do najbardziej znanych mlecznych napojów fermentowanych należą jogurt (97% wskazań) i kefir (94%). Znajomością napojów nowej generacji wykazało się jedynie 19% respondentów.
2. Spożycie jogurtów w badanej grupie było trzykrotnie wyższe od średniej krajowej. Wynikało to głównie ze sposobu doboru próby, w której reprezentowane były osoby spożywające fermentowane napoje mleczne i kupujące je dla całej rodziny.
3. Największy wpływ na decyzje dotyczące zakupu analizowanych produktów miały: smak (24% wskazań), marka (23%) i cena (18%). Mniejsze znaczenie miały atrybuty związane ze zdrowotnością tych napojów.

4. Preferowanymi przez respondentów markami jogurtów były: Danone (28% wskazań), Zott (24%) i Bakoma (15%). Brak preferencji w tym zakresie wykazało 15% respondentów.
5. Głównym źródłem informacji o mlecznych napojach fermentowanych była reklama (43% wskazań) oraz wiadomości publikowane w mediach (23%). W niewielkim stopniu korzystano z informacji umieszczonych na opakowaniach (7%).

Literatura


- [1] Altkorn J.: Podstawy marketingu. Instytut Marketingu, Kraków 1997, s. 67-79.
- [2] Babicz-Zielińska E.: Czynniki wpływające na wybór żywności. Konsument żywności i jego zachowania rynkowe. Wyd. SGGW, Warszawa 2000, s. 245-253.
- [3] Chrostowska A.: Rynki produktów - jogurty. Detal Dzisiaj, 2004, 15, www.detaldzisiaj.com.pl
- [4] Foxall G.R., Goldsmith R.E.: Psychologia konsumenta dla menedżera marketingu. PWN, Warszawa 1998, s. 48, 59.
- [5] Golubicka. B., Kwasek M.: Wpływ dochodów na spożycie żywności - przesłanki dla polityki żywnościowej. Zagadnienia Ekonomiki Rolnej, 2006, 1, 25.
- [6] Górską-Warsewicz H: Znaczenie marki produktu w decyzjach konsumentów na rynku żywności. W: Pilarski S. (red.): Decyzje konsumentów i ich determinanty. Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn 2003, s. 191-194.
- [7] Jeznach M.: Ocena zmian na rynku produktów mleczarskich w opinii konsumentów. Roczn. Nauk. SERiA, 2005, t. VII, z. 3, 71-77.
- [8] Kowalczyk I.: Wpływ marki na zachowania nabywcze konsumentów na rynku produktów żywnościowych W: Adamowicz M. (red.) Marketing w strategiach rozwoju sektora spożywczego. Wyd. SGGW, Warszawa 2003, s. 269.
- [9] Kowalska A.: Sytuacja na rynku jogurtów w Polsce i ich znaczenie w żywieniu człowieka. Roczniki Naukowe SERiA, 2004, t. VI, z. 2, 147.
- [10] Kozyra-Szymczak I.: Preferencje konsumenckie w zakresie wybranych produktów mleczarskich na terenie miasta Wrocławia. Praca magisterska. Akademia Rolnicza we Wrocławiu, Wrocław 2006.
- [11] Mikuła B.: Polski konsument żywności W: Adamowicz M. (red.) Marketing w strategiach rozwoju sektora rolno-spożywczego. Wyd. SGGW, Warszawa 2003, s.121.
- [12] Nieżurawski L., Szczepańska E.: Preferencje klientów na rynku wybranych produktów mleczarskich. Przegl. Mlecz., 2004, 4, 10-14.
- [13] Pieczonka W., Skibińska-Buczek J.: Próba segmentacji rynku pod względem popytu i struktury cech jakości mlecznych napojów probiotycznych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2001, 4, 125.
- [14] Raport z wyników spisów powszechnych w województwie dolnośląskim., 2003, www.stat.gov.pl
- [15] Rocznik Statystyczny Województwa Dolnośląskiego. Wrocław, 2005, 190.
- [16] Świątkowska M.: Reklama jako narzędzie wpływu na konsumentów. Przegl. Mlecz., 2006, 2, 32-34.
- [17] Świda J., Kuliński A.: Opakowania produktów mleczarskich w opinii konsumentów. Żywność. Nauka Technologia Jakość, 2002, 3, 118-119.
- [18] Świda J., Sikora T.: Model zachowania konsumenta na rynku produktów mleczarskich. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1999, 4, 156.
- [19] Świda J., Sikora T.: Preferencje konsumenckie cech jakości produktów mleczarskich w Polsce południowo-wschodniej. Żywność, Nauka. Technologia. Jakość, 1999, 1, 63.
- [20] Świetlik K.: Popyt na żywność - stan i perspektywy. Analizy Rynkowe, 2005, 6, 17.

- [21] Tableaux de l'Economie Française. Consommation moyenne de quelques produits alimentaires, 2006, www.insee.fr
- [22] Urala N., Arvola A., Lahteenmaki L.: Strength of health-related claims and their perceived advantage. *Int. J. Food Technol.*, 2003, **38**, 819.
- [23] Urban S.: Marketing produktów spożywczych., AE we Wrocławiu, Wrocław 1999, s. 48-53.

CONSUMERS' PREFERENCES OF FERMENTED MILK DRINKS

S u m m a r y

The aim of the study was to examine the preferences of consumers of fermented milk drinks. The study was conducted in Wrocław, in the period from October 2005 to January 2006. 310 persons were surveyed. The results showed that the consumers of fermented milk drinks were best acquainted with yoghurts – 97% and kefir – 94% of indications. The products were consumed mainly 1-3 times a week – 43% and daily – 39% of indications. The estimated level of consumption was 2 liters/person/month and was three times higher than the average in the Lower Silesia region. The factors which were most important for the selection of products were: taste – 24%, brand name – 23% and price 18% of indications. Quality (9%), reduced fat content (6%), expiry date (5%) and nutritional value (5%) were less important. The consumers preferred the following brand names of yoghurts: Danone (28%), Zott (24%) and Bakoma (15% of indications). The main source of information about fermented milk drinks were advertisements (43%) and press and TV news (23% of indications).

Key words: fermented milk drinks, consumer preferences 

ZBIGNIEW RZEDZICKI, PIOTR ZARZYCKI

WPLYW EKSTRUZJI DWUŚLIMAKOWEJ MIESZANEK Z UDZIAŁEM RAZÓWKI OWSIANEJ NA SKŁAD FRAKCYJNY BŁONNIKA POKARMOWEGO

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było określenie możliwości zastosowania komponentów wysokobłonnikowych, takich jak razówka owsiana, otręby pszenne oraz okrywa nasienna grochu do produkcji wysokobłonnikowych zbóż śniadaniowych. W badaniach użyto ekstrudera dwuślimakowego przeciwbieżnego; stosując profil rozkładu temperatury cylindra 120/150/180/180/130°C, obroty ślimaków 72 obr·min⁻¹, średnicę matrycy 2x5 mm oraz wilgotność surowca 14 i 22%. Badano wpływ udziału poszczególnych komponentów błonnikowych oraz wilgotności mieszanki na przemiany chemiczne ekstrudatów, ze szczególnym uwzględnieniem polisacharydów nieskrobiowych. Wprowadzając do mieszanek z kaszką kukurydzianą komponenty błonnikowe uzyskano ekstrudaty o podwyższonej zawartości błonnika pokarmowego oraz białka. Proces ekstruzji wpłynął destrukcyjnie na polisacharydy nieskrobiowe. Stwierdzono zmniejszenie zawartości błonnika pokarmowego całkowitego (TDF) i jego frakcji nierozpuszczalnej (IDF) przy jednoczesnym podwyższeniu zawartości frakcji rozpuszczalnej (SDF). Wielkość zmian była uzależniona od składu mieszanki oraz wilgotności surowca. Wykazano także zmniejszenie zawartości białka w ekstrudacie w porównaniu z surowcem, jak również znaczne obniżenie zawartości tłuszczu wolnego.

Słowa kluczowe: ekstruzja, błonnik pokarmowy, owies, otręby pszenne, okrywa nasienna grochu

Wprowadzenie

Zmiany nawyków żywieniowych wielu społeczeństw łączy się z nasileniem występowania chorób cywilizacyjnych (choroby układu krążenia, otyłość, cukrzyca typu II, nowotwory). W krajach rozwiniętej Północy choroby układu krążenia i choroby nowotworowe są przyczyną ponad 80% zgonów [14]. Niezwykle istotny staje się zatem problem racjonalnego żywienia i wzbogacania żywności w substancje prozdrowotne. Uznany komponentem żywności mających znaczenie profilaktyczne i lecznicze w tym zakresie jest błonnik pokarmowy, w szczególności prebiotyczne frakcje rozpuszczalne. Błonnik powoduje m.in. obniżenie stężenia cholesterolu całkowitego

we krwi, korzystne zmiany w proporcji frakcji cholesterolu HDL do LDL [9, 10], obniża poposiłkowe stężenie glukozy [7], zapewnia uczucie sytości oraz zakwasza treść jelitową itp.

Głównym źródłem błonnika w diecie pozostają produkty zbożowe. Jego zawartość w poszczególnych produktach uzależniona jest nie tylko od cech surowca, ale także od procesu technologicznego [6, 15]. Aktualnie rynek produktów zbożowych zdominowany jest przez produkty o wysokim stopniu przetworzenia. W wielu przypadkach cechuje je niska zawartość błonnika i białka, a także bardzo wysoka rozpuszczalność suchej masy (WSI), nawet powyżej 50% [16, 18]. Trudno takie produkty zakwalifikować do podstawy piramidy żywieniowej. Zwiększenie zawartości błonnika w produktach zbożowych oraz taki dobór parametrów procesu, aby błonnik ulegał jak najmniejszej degradacji powinno stać się priorytetem technologii zbóż. Procesem, który umożliwia odpowiednie wkomponowanie frakcji błonnikowych do składu produktu, przy jego dobrych właściwościach sensorycznych, jest ekstruzja [20]. Należy jednak zaznaczyć, że technologia ta jest bardzo destrukcyjna. Obserwuje się znaczny wzrost rozpuszczalności (WSI), nawet powyżej 50% [16, 20], obniżenie zawartości błonnika całkowitego (TDF) i frakcji nierozpuszczalnej (IDF) oraz jednoczesny wzrost zawartości frakcji rozpuszczalnej (SDF) [6, 17, 22]. Umiarkowane warunki procesu mogą powodować wzrost strawności białka [11], natomiast zwiększenie jego intensywności prowadzi do obniżenia wartości biologicznej białka, związanej ze stratami lizyny [4]. Notuje się także nieznaczne zmniejszenie całkowitej zawartości białka [17, 25]. Dochodzi także do znacznego kompleksowania tłuszczu [1, 13].

Celem niniejszej pracy było określenie możliwości ekstruzji surowców wysoko-błonnikowych (otręby pszenne, okrywa nasienna grochu, razówka owsiana) w mieszankach z kaszką kukurydzianą oraz określenie wpływu ekstruzji na zmiany składu chemicznego ekstrudatu, w szczególności zmiany składu frakcyjnego błonnika pokarmowego.

Material i metody badań

Badaniom poddano: komercyjnie dostępną kaszkę kukurydzianą, ziarno owsa obłuszczonego, otręby pszenne oraz okrywę nasienną grochu (tab. 1, 2). Surowce rozdrabniano do odpowiedniej granulacji (rozdrabniacz udarowy typ H-111/3, średnica zastępcza $\Phi_z = 0,7$ mm) oraz oznaczano zawartość suchej masy. Przygotowane mieszanki nawilżano zgodnie z modelem doświadczenia (tab. 3), kondycjonowano przez 12 h i ponownie określano zawartość suchej masy. Ekstruzję prowadzono w ekstruderze dwuślimakowym przeciwbieżnym. Na podstawie badań pilotażowych przyjęto rozkład temperatur cylindra 120/150/180/180/130°C, obroty ślimaków 72 obr·min⁻¹, średnicę matrycy 2 × 3,5 mm oraz dwa poziomy wilgotności surowca 14 i 22%.

Tabela 1

Skład chemiczny surowców [% s.m.].

Chemical composition of the raw materials [% d.m.].

Komponent Component	Bezazot. wyciąg. N-free extract	Białko Protein x ± SD	Tłuszcz Fat x ± SD	Włókno surowe Crude fibre x ± SD	Popiół Ash x ± SD	TDF	SDF x ± SD	IDF x ± SD
Kaszka kukurydź. Corn semolina	87,13	9,96 ±0,02	1,09 ±0,08	0,39 ±0,07	1,43 ±0,15	6,31	1,05 ±0,07	5,26 ±0,04
Razówka owsiana Oat meal	73,01	14,93 ±0,27	7,64 ±0,11	2,30 ±0,2	2,12 ±0,06	18,05	4,73 ±0,26	13,32 ±0,05
Otręby pszenne Wheat bran	68,38	20,57 ±0,18	1,81 ±0,09	5,32 ±0,14	3,92 ±0,07	31,95	4,19 ±0,13	27,76 ±0,07
Okrywa nasienna grochu Pea hulls	44,49	15,51 ±0,09	2,01 ±0,12	33,37 ±0,05	4,62 ±0,08	67,64	5,78 ±0,21	61,86 ±0,54

TDF – błonnik pokarmowy całkowity / Total dietary fibre, SDF – błonnik pokarmowy rozpuszczalny / Soluble dietary fibre, IDF – błonnik pokarmowy nierozpuszczalny / Insoluble dietary fibre.

Tabela 2

Zawartość poszczególnych frakcji włókna detergentowego w surowcach [% s.m.].

The content of particular dietary fibre fraction in raw materials [% d.m.].

Komponent Component	NDF x ± SD	ADF x ± SD	HCEL	CEL	ADL x ± SD
Kaszka kukurydź. Corn semolina	3,59±0,11	0,73±0,05	2,86	0,64	0,09±0,01
Razówka owsiana Oat meal	13,02±0,09	4,7±0,11	8,32	2,75	1,95±0,02
Otręby pszenne Wheat bran	24,26±0,15	7,48±0,08	16,98	5,53	1,96±0,03
Okrywa nasienna grochu Pea hulls	50,23±0,23	41,50±0,36	8,73	41,26	0,4±0,07

NDF – włókno neutralno-detergentowe / Neutral detergent fibre, ADF – włókno kwaśno-detergentowe / Acid detergent fibre, HCEL – hemiceluloza / hemicellulose; CEL – celuloza / cellulose; ADL – lignina / lignin

W badaniach określano zawartość: białka (AACC, Method 46-06, $N \times 6,25$), tłuszczu (AACC, Method 30-10), popiołu (AACC, Method 08-01) i włókna surowego metodą weendejską (AACC, Method 32-10). Na podstawie metod opracowanych przez van Soesta [23, 24] oznaczano: włókno neutralno-detergentowe (NDF), włókno kwaśno-detergentowe (ADF), celulozę (CEL), hemicelulozy (HCEL) i ligninę kwaśno-detergentową (ADL). Metodami enzymatycznymi oznaczano błonnik pokarmowy całkowity (TDF), rozpuszczalny (SDF) oraz nierozpuszczalny (IDF) (AOAC, Method 991.43; AOAC, Method 985.29; AACC, Method 32-07; AACC, Method 32-21; AACC, Method 32-05); zastosowano enzymy i procedury metodyczne firmy Megazyme. Oznaczenia wykonywano metodami AACC i AOAC [3] w trzech powtórzeniach; obliczano wartość średnią, odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Jeżeli współczynnik zmienności przekraczał wyznaczone doświadczalnie granice błędów danej metody, badania powtarzano. W przypadku zmiennych ciągłych wykonano analizę regresji i obliczono współczynniki determinacji R^2 .

Tabela 3

Model doświadczenia.

Model of the experiment.

Lp. No.	Komponenty Components [%]				Wilgotność Moisture content [%]
	Kaszka kukurydziana Corn semolina	Razówka owsiana Oat meal	Otręby pszenne Wheat bran	Okrywa nasienna grochu Pea hulls	
1	80	10	10	0	22
2	70	15	15		
3	60	20	20		
4	50	25	25		
5	40	30	30		
6	80	10	10	0	14
7	70	15	15		
8	60	20	20		
9	50	25	25		
10	80	6,66	6,66	6,66	22
11	70	10	10	10	
12	60	13,33	13,33	13,33	
13	50	16,66	16,66	16,66	
14	40	20	20	20	

Wyniki i dyskusja

Podstawowym surowcem stosowanym do produkcji szerokiego asortymentu wyrobów ekstrudowanych jest kaszka kukurydziana. Niestety, produkty wytworzone na bazie tego surowca cechuje niska wartość odżywcza. Wynika to z właściwości kaszki kukurydzianej; surowca otrzymywanego z obłuszczonego i odzarodkowanego ziarna kukurydzy. Ekstruzja mieszanek komponentów błonnikowych (razówka owsiana, otręby pszenne, okrywa nasienna grochu) z kaszką kukurydzianą pozwoliła na zwiększenie zawartości białka oraz poszczególnych frakcji błonnika pokarmowego w ekstrudatach, w porównaniu z kaszką kukurydzianą (tab. 4). Zwiększenie udziału komponentów błonnikowych z 20 do 60% w mieszaninach 3-składnikowych (kaszka kukurydziana, razówka owsiana, otręby pszenne) przy wilgotności surowca 22% prowadziło do zwiększenia zawartości TDF z 6,99 do 15,4% s.m., SDF z 2,59 do 4,67% s.m. oraz IDF z 4,4 do 10,73% s.m. (rys. 1-3). W przypadku mieszanek 4-składnikowych, w których część komponentów owsianych i pszennych zastąpiono okrywą nasienną grochu uzyskano zwiększenie zawartości frakcji błonnikowych, odpowiednio, TDF z 9,56 do 23,15 % s.m., SDF z 2,9 do 4,31% s.m. oraz IDF z 6,66 do 18,84% s.m. Szczególnie cennym surowcem wydaje się być razówka owsiana ze względu na mniej skomplikowaną technologię pozyskiwania w porównaniu z często polecanymi otrębami owsianymi oraz wysoką zawartość białka i błonnika pokarmowego, zwłaszcza bardzo cennej frakcji rozpuszczalnej.

Porównanie wartości oczekiwanych z wartościami uzyskanymi analitycznie wskazało na istotne przemiany poszczególnych składników w czasie procesu. Oznaczono nieznacznie mniejszą zawartość białka w ekstrudatach w porównaniu z wartościami oczekiwanymi (tab. 4). Zmiany te uwidoczniły się we wszystkich analizowanych próbach. Podobne zależności obserwowali także inni autorzy [17, 25]. Wg Stanley [21] w czasie ekstruzji może dochodzić do wydzielania amoniaku, w wyniku powstawania wiązań izopeptydowych pomiędzy ϵ -aminową grupą lizyny i amidową grupą asparaginy lub glutaminy. Obserwowano także zmniejszenie oznaczalności tłuszczu w ekstrudatach w porównaniu z surowcem (tab. 4). Związane jest to z tworzeniem się w czasie procesu kompleksów skrobiowo-lipidowych, które mogą być odporne na niektóre ze stosowanych technik ekstrakcji tłuszczu [5]. Różnica pomiędzy zawartością tłuszczu wolnego w surowcach i ekstrudatach może być prostym sposobem określenia stopnia wiązania tłuszczu w czasie ekstruzji. Wykazano także zmniejszenie zawartości włókna surowego oraz poszczególnych frakcji włókna detergentowego w ekstrudatach, w porównaniu z surowcem (tab. 4). Jest to zgodne z pracami innych autorów [8]; tłumaczy się to wzrostem rozpuszczalności poszczególnych frakcji, związanym z depolimeryzacją. Różnice pomiędzy zawartością poszczególnych frakcji, występujące przy wilgotności surowca 14 i 22%, wskazują na duży wpływ intensywności procesu na obserwowane zmiany. We wcześniejszych badaniach uzyskano zwiększenie intensywności procesu przy mniejszej wilgotności wymienionych surowców [19].

Tabela 4

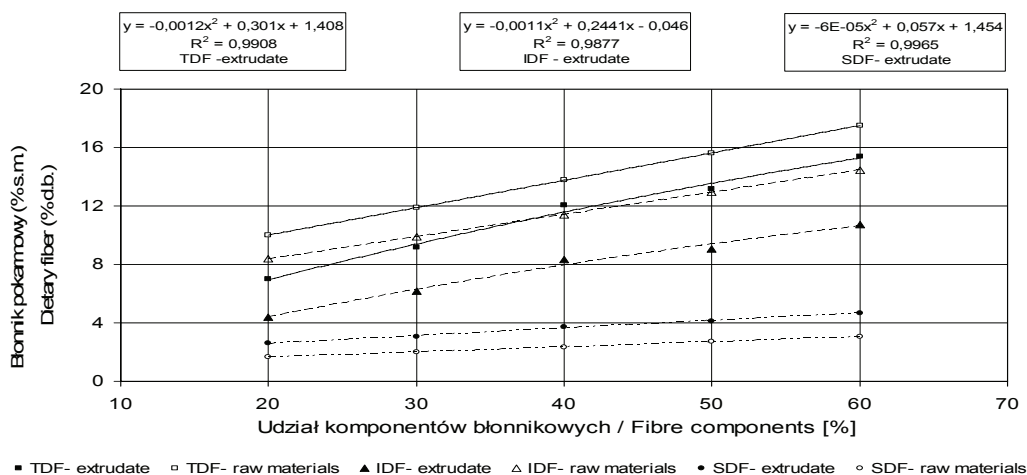
Skład chemiczny ekstrudatów [% s.m.].
Chemical composition of the extrudates [% d.m.].

Nr próbny Sample no	Białko Protein		Tłuszcz Fat		Włókno surowe Raw fibre		NDF		ADF		HCEL		CEL		ADL	
	+	* x±SD	+	* x±SD	+	* x±SD	+	* x±SD	+	* x±SD	+	* x±SD	+	* x±SD	+	* x±SD
1	11,5	11,4±0,11	1,82	0,18±0,06	1,12	0,74±0,09	6,7	4,65±0,11	1,91	1,23±0,09	4,76	3,42	1,43	0,88	0,48	0,35±0,02
2	12,3	12,1±0,15	2,18	0,85±0,05	1,46	0,83±0,05	8,2	5,58±0,21	2,43	1,55±0,15	5,75	4,04	1,77	1,17	0,66	0,37±0,04
3	13,1	12,3±0,13	2,54	1,25±0,02	1,79	0,94±0,06	9,7	5,87±0,08	2,95	1,73±0,08	6,73	4,13	2,11	1,37	0,85	0,36±0,07
4	13,9	12,7±0,11	2,91	1,68±0,11	2,13	1,1±0,02	11,2	7,66±0,21	3,48	2,06±0,11	7,72	5,60	2,45	1,50	1,03	0,56±0,06
5	14,6	12,9±0,17	3,27	2,02±0,15	2,47	1,34±0,11	12,7	8,16±0,11	4,00	2,37±0,16	8,71	5,79	2,78	1,71	1,22	0,66±0,07
6	11,5	11,1±0,21	1,82	0,53±0,06	1,12	0,74±0,08	6,7	3,81±0,13	1,91	1,15±0,09	4,76	2,66	1,43	0,85	0,48	0,30±0,08
7	12,3	12,1±0,14	2,18	1,49±0,14	1,46	1,02±0,1	8,2	4,55±0,24	2,43	1,54±0,04	5,75	3,01	1,77	1,14	0,66	0,40±0,1
8	13,1	12,0±0,1	2,54	1,67±0,11	1,79	0,91±0,08	9,7	5,57±0,08	2,95	1,56±0,21	6,73	4,02	2,11	1,15	0,85	0,40±0,11
9	13,9	12,6±0,09	2,91	1,93±0,09	2,13	1,09±0,09	11,2	6,19±0,07	3,48	1,79±0,07	7,72	4,40	2,45	1,40	1,03	0,39±0,08
10	11,4	11,1±0,07	1,64	0,52±0,11	3,09	2,33±0,15	8,8	5,90±0,18	4,26	3,78±0,19	4,50	2,12	3,90	3,56	0,36	0,22±0,06
11	13,1	11,4±0,21	2,02	0,6±0,06	4,46	3,55±0,12	11,7	8,69±0,21	6,06	5,53±0,2	5,64	3,16	5,55	5,05	0,50	0,48±0,05
12	14,8	12,0±0,16	2,40	0,92±0,08	5,82	4,55±0,09	14,6	11,0±0,11	7,84	7,56±0,2	6,77	3,45	7,20	6,94	0,64	0,63±0,1
13	16,5	12,5±0,11	2,78	1,15±0,12	7,19	5,90±0,14	17,5	13,3±0,07	9,63	8,54±0,03	7,90	4,76	8,85	7,90	0,78	0,64±0,05
14	18,2	12,4±0,08	3,16	1,28±0,15	8,56	7,27±0,16	20,5	16,6±0,12	11,4	11,2±0,14	9,04	5,48	10,5	10,5	0,92	0,68±0,12

+ - wartość oczekiwana / expected value.

* - wartość oznaczona / determined value.

Metodą enzymatyczną wykazano zmniejszenie zawartości błonnika całkowitego (TDF) przy jednoczesnym zmniejszeniu zawartości frakcji nierozpuszczalnej (IDF) i wzroście zawartości frakcji rozpuszczalnej (SDF) (rys. 1-3). Podobny kierunek zmian obserwowany był w badaniach innych autorów [6, 17]. Intensywna obróbka, jaką bez wątpienia jest ekstruzja, może prowadzić do rozrywania długich łańcuchów frakcji IDF na mniejsze fragmenty o rozmiarach zbliżonych do rozmiarów frakcji SDF. Powstałe frakcje błonnika rozpuszczalnego mają jednak nadal strukturę frakcji nierozpuszczalnej, jakkolwiek tracą niektóre ze swoich właściwości np. zdolność wiązania kwasów żółciowych [6]. W warunkach obróbki termiczno-plastycznej może równocześnie dochodzić także do tworzenia się skrobi odpornej [12], wpływającej na wzrost zawartości frakcji TDF i IDF. Zawartość poszczególnych frakcji w ekstrudacie jest więc wypadkową powyższych procesów. Nie można jednak mówić o całkowitym kompensowaniu strat, jak też o całkowitej konwersji frakcji nierozpuszczalnej do rozpuszczalnej. Podjęcia dodatkowych badań wymaga natomiast określenie czy powstały w czasie procesu ekstruzji rozpuszczalny błonnik wywiera podobny wpływ fizjologiczny, jak naturalnie występujące w żywności β -glukany.

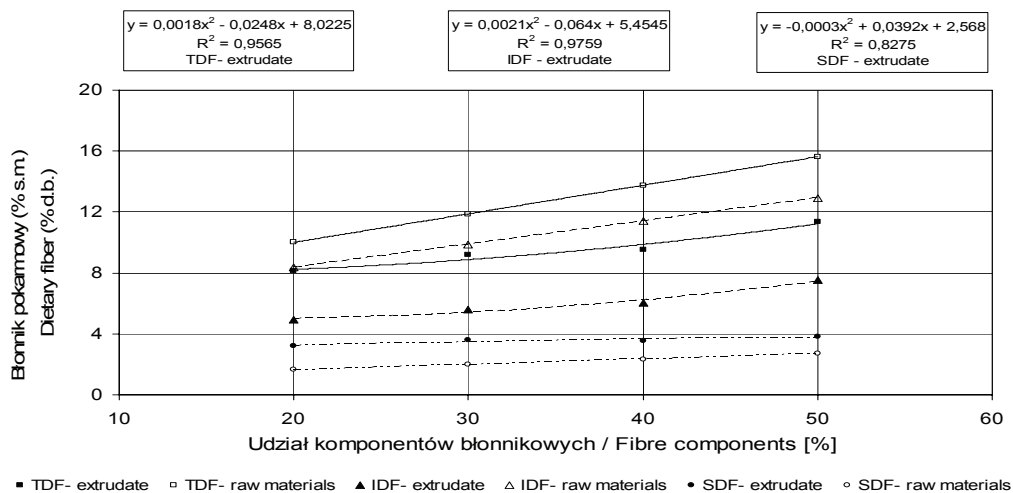


Rys. 1. Zmiany zawartości błonnika pokarmowego (TDF, SDF i IDF) w wyniku ekstruzji. Próby nr 1-5.

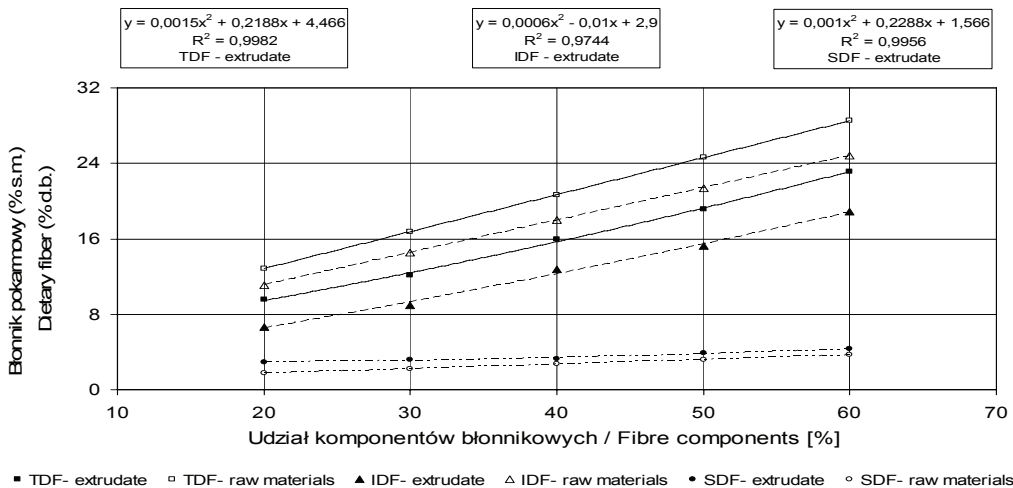
Fig. 1. Changes in dietary fibre content (TDF, SDF and IDF) during extrusion-cooking. Sample no. 1-5.

Zestawione wyniki z trzech metod analitycznych: detergentowej, enzymatycznej i weendejskiej (włókno surowe) pozwalają na porównawczą ocenę tych metod. Wskazują na całkowitą nieprzydatność metody oznaczania włókna surowego. Otrzymane wartości są każdorazowo niższe od zawartości frakcji NDF, jak i ADF. Jeszcze większe różnice występują pomiędzy włóknem surowym a błonnikiem pokarmowym całkowitym (TDF). Nie można także określić zależności pomiędzy uzyskanymi wynika-

mi, co potwierdzają także wcześniejsze badania [2, 16]. Zdecydowanie najbardziej przydatną metodą do oznaczanie błonnika pokarmowego jest metoda enzymatyczna.



Rys. 2. Zmiany zawartości błonnika pokarmowego (TDF, SDF i IDF) w wyniku ekstruzji. Próby nr 6-9.
 Fig. 2. Changes in dietary fibre content (TDF, SDF and IDF) during extrusion-cooking. Sample no. 6-9.



Rys. 3. Zmiany zawartości błonnika pokarmowego (TDF, SDF i IDF) w wyniku ekstruzji. Próby nr 10-14.
 Fig. 3. Changes in dietary fibre content (TDF, SDF and IDF) during extrusion-cooking. Sample no. 10-14.

Wnioski

1. Wprowadzenie komponentów błonnikowych (razówka owsiana, otręby pszenne, okrywa nasienna grochu) do mieszanek z kaszką kukurydzianą pozwala na uzyskanie ekstrudatów o podwyższonej zawartości białka i błonnika pokarmowego, zwłaszcza frakcji rozpuszczalnych.
2. Ekstruzja powoduje istotne przemiany w składnikach ekstrudowanej masy m.in. obniżenie zawartości białka oraz tłuszczu wolnego, jak również zmniejszenie zawartości TDF oraz frakcji IDF przy jednoczesnym wzroście zawartości frakcji SDF. Wielkość tych zmian jest uzależniona od parametrów procesu oraz rodzaju surowca.
3. Przedstawione wyniki wykazują duże zróżnicowanie pomiędzy różnymi metodami oznaczania błonnika pokarmowego. W badaniach produktów zbożowych, a zwłaszcza wysoko przetworzonych, zaleca się stosowanie metody enzymatycznej.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura


- [1] Addo K., Pomeranz Y.: Lipid binding and fatty acid distribution in flour dough, and baked and steamed bread. *Cereal Chem.*, 1991, **68**, 570-572.
- [2] Anioła J., Górecka D.: Charakterystyka zawartości i składu włókna pokarmowego nowych preparatów wysokobłonnikowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004, **37**, 145-148.
- [3] Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists (AACC). St. Paul, Minnesota, 2000.
- [4] Björck I., Asp N-G., Brikhed D., Lundquist I.: Effects on processing on availability of starch for digestion *in vitro* and *in vivo*. I. Extrusion cooking of wheat flour starch. *J. Cereal Sci.*, 1984, **2**, 91-103.
- [5] Camire M. E.: Extrusion and nutritional quality. In: Guy R.: Extrusion cooking, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge 2001.
- [6] Camire M., Zhao J., Violette D. A.: *In vitro* binding of bile acids by extruded potato peels. *J. Agric. Food Chem.*, 1993, **41**, 2391-2394.
- [7] Cavallero A., Empillit S., Brighenti F., Stanca A. M.: High (1-3, 1-4) β glucan barley fraction in bread making and their effects on human glycemc response. *J. Cereal Sci.*, 2002, **36**, 59-66.
- [8] Fornal L., Właż A., Bąkowska B.: Przemiany spolimeryzowanych węglowodanów w czasie ekstruzji. *Acta. Acad. Agricult. Tech. Olst. Tech. Aliment.*, 1993, **25**, 125-135.
- [9] Friedrich M.: The effects of diet enrichment with hull-less oat cultivar on glucose, lipid, lipoprotein, fibrinogen, and estradiol contents in the blood of post-mastectomy women. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **12/53**, 4, 69-74.
- [10] Gerhardt A. L., Gallo N. G.: Full-fat rice bran and oat bran similarly reduce hypercholesterolemia in humans. *J. Nutr.*, 1998, **128**, 865-869.
- [11] Gujska E., Khan K.: Effect of extrusion variables on amino acids, available lysine and 'in vitro' protein digestibility of the extrudates from pinto bean (*Phaseolus vulgaris*). *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **11/52**, 1, 39-43.

- [12] Huth M., Dongowski G., Gebhardt E., Flamme W.: Functional properties of dietary fibre enriched extrudates from barley. *J. Cereal Sci.*, 2000, **32**, 115-128.
- [13] Izzo M. T., Ho C.-T.: Protein-lipid interaction during single-screw extrusion of zein and corn oil. *Cereal Chem.*, 1989, **66**, 47-51.
- [14] Jones J.M.: Dietary advice in North America: the good, the bad and the unheeded. In: *Advanced Dietary Fibre Technology*. Blackwell Science, U.K., 2001, 13-22.
- [15] Poutanen K.: Effect of processing on the properties of dietary fiber. In: *Advanced Dietary Fibre Technology*, Blackwell Science, U.K., 2001
- [16] Rzedzicki Z.: Badania składu chemicznego wybranych błyskawicznych zbóż śniadaniowych. *Bromat. Chem. Toksygol.*, 2005, **37 S**, 141-146.
- [17] Rzedzicki Z., Kozłowska H., Troszyńska A.: Application of pea hulls for extrudate production. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **13/54**, 4, 363-368.
- [18] Rzedzicki Z., Wirkijowska A.: Badania składu chemicznego wybranych kukurydzianych zbóż śniadaniowych ze szczególnym uwzględnieniem składu frakcyjnego błonnika pokarmowego. *Bromat. Chem. Toksygol.*, 2006, **39 (S)**, 97-102.
- [19] Rzedzicki Z., Zarzycki P.: Ekstruzja dwuślimakowa mieszanek wysokobłonnikowych z udziałem razówki owsianej. *Acta Agrophysica*, 2006, **8 (4)**, 935-947.
- [20] Rzedzicki Z., Zarzycki P.: Badania procesu ekstruzji mieszanin z udziałem lędźwianu i razówki owsianej. *Acta Agrophysica*, 2005, **6 (2)**, 515-528.
- [21] Stanley D. W.: Protein reactions during extrusion cooking, in: *Extrusion Cooking*, AACC, Inc., St. Paul, Minnesota, USA, 1989, p. 321.
- [22] Vasanthan T., Jiang G., Yeung J., Li J.: Dietary fiber profile of barley flour as effect by extrusion cooking. *Food Chem.*, 2002, **77**, 35-40.
- [23] Van Soest P.: Use of detergents in the analysis of fibrous Leeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J. A.O.A.C.*, 1963, **43**, 829-835.
- [24] Van Soest P. J., Wine R. H.: Use of detergents in the analysis of fibrous Leeds. IV: Determination of plant cell-wall constituents. *J. A.O.A.C.*, 1967, **50**, 50-51.
- [25] Zieliński H., Rzedzicki Z.: Reduced/oxidized glutathione index as a tool for monitoring oxidative stress during extrusion cooking. *J. Food Proc. Preserv.*, 2001, **25/3**, 197-206.

INFLUENCE OF EXTRUSION COOKING OF MAIZE-OAT MEAL MIXTURES ON THE CHANGES OF FRACTIONAL COMPOSITION OF DIETARY FIBRE

S u m m a r y

The aim of the study was to determine the possibilities of using fibre components such as: oat meal, wheat bran, pea hulls to produce high-fiber breakfast cereals. Counter rotating twin-screw extruder was used: barrel temp. 120/150/180/180/130°C, screw speed 72 rpm, die diameter 2x5mm and moisture content 14 and 22%. The influence of participation of exact fiber components and mixture's moisture on extrudates chemical changes with special compliance of non-starch polysaccharides was tested. An increase in the fiber components share in the mixture increased the content of dietary fibre and protein in extrudates. The extrusion process had destructive influence on non-starch polysaccharides. However the extrusion cooking process resulted in the decrease in the content of dietary fibre (TDF) and its insoluble fraction (IDF) as well as caused an increase in the content on the soluble fraction of fiber (SDF). These changes depended on the composition of the mixture subjected to the extrusion cooking process and moisture content. Also a slight decrease in the protein content in the extrudates compared to the raw materials was observed.

Key words: extrusion cooking, dietary fibre, oat, wheat bran, pea hulls 

JAN OSZMIAŃSKI, ANETA WOJDYŁO, PAWEŁ MATUSZEWSKI

ZMIANY ZAWARTOŚCI ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH PODCZAS PRODUKCJI ZAGĘSZCZONEGO SOKU TRUSKAWKOWEGO W WARUNKACH PRZEMYSŁOWYCH

Streszczenie

Celem badań była ocena zmian zawartości związków fenolowych podczas produkcji zagęszczonego soku truskawkowego w warunkach przemysłowych na poszczególnych etapach procesu technologicznego.

Badaniom poddano surowiec, soki po tłoczeniu, klarowaniu oraz zagęszczaniu, oznaczając zawartość związków fenolowych, w tym polimery procyjanidyn metodą chromatografii cieczowej. Próbki z linii technologicznej Zakładu Owocowo-Warzywnego „AGRICO” w Kluczkowicach pobierano w 2005 roku, w ciągu 2-tygodniowej produkcji zagęszczonego soku truskawkowego.

W próbkach zidentyfikowano pochodne kwasu *p*-kumarowego, elagowego, galusowgo, kwercetyny, kempferolu oraz (+)-katechinę i proantocyjanidyny. Spośród antocyjanów oznaczono pochodne pelargonidyny i cyjanidyny. Wykazano duże zróżnicowanie zawartości związków fenolowych w truskawkach w czasie dwutygodniowej produkcji zagęszczonego soku. Ogólna ich ilość w surowcu wynosiła od 1970,5 do 3390,3 mg/kg, w tym największy udział stanowiły proantocyjanidyny od 1417,5 do 2751,8 mg/kg. W porównaniu z surowcem w soku po tłoczeniu ilość tych związków była mniejsza około 5-krotnie. Proantocyjanidyny są związane z nierozpuszczalnymi polisacharydami ścian komórkowych i w dużym stopniu pozostają w wyciekach. Różnice zawartości pozostałych związków fenolowych w truskawkach i soku były znacznie mniejsze. Dalsze etapy produkcji tj. klarowanie oraz zagęszczanie wpłynęło w znacznie mniejszym stopniu na straty związków polifenolowych. W soku truskawkowym w wyniku procesu klarowania stwierdzono zmniejszenie zawartości związków fenolowych o około 17%, a w wyniku procesu zagęszczania tylko o 5%.

Proantocyjanidyny truskawek są najbardziej cennymi związkami tego surowca, które jednak są najbardziej tracone w procesie produkcji klarownych soków. Zasadniczym etapem w produkcji zagęszczonego klarownego soku truskawkowego, na którym traci się najwięcej polifenoli jest tłoczenie soku. W mniejszym stopniu związki te ulegają degradacji podczas procesu klarowania oraz podczas zagęszczania soku.

Słowa kluczowe: truskawki (*Fragaria x ananasa*), zagęszczony sok truskawkowy, związki polifenolowe

Wstęp

Wzrasta zainteresowanie żywnością prozdrowotną o maksymalnie zachowanych naturalnych składnikach odżywczych korzystnych dla zdrowia konsumentów. Dotychczas w doskonaleniu procesów technologicznych, np. w produkcji zagęszczonych soków owocowych, zwracano głównie uwagę na poprawę barwy i klarowności. Zagęszczony sok owocowy otrzymywany jest ze świeżych lub mrożonych owoców, bez dodatków i konserwantów chemicznych, najczęściej przez odparowanie wody w wyparkach próżniowych, przy jednoczesnym wychwyceniu i skoncentrowaniu substancji aromatycznych. Końcowy stopień zagęszczenia jest zwykle 5- lub 7-krotny, a ekstrakt półkoncentratu wynosi 30%, natomiast koncentratu 70%. Zagęszczone soki przechowywane w temp. 4°C są trwałe bez stosowania konserwantów chemicznych. Są one półproduktami do wytwarzania (odtwarzania) pitnych soków owocowych nektarów i napoi [5].

Usunięcie części wody zmniejsza masę soku surowego, w związku z tym łatwiejsze i tańsze jest jego magazynowanie, przechowywanie i transportowanie. O dobrej wartości odżywczej zagęszczonych soków owocowych decydują: korzystne cechy smakowo-zapachowe, typowa, naturalna barwa charakterystyczna dla danego surowca, pełna klarowność oraz stabilność mikrobiologiczna. Ważny wpływ na jakość przechowywalną zagęszczonych soków ma także sposób produkcji oraz warunki koncentracji [7].

W Polsce dominującym surowcem wykorzystywanym do produkcji soków zagęszczonych są jabłka, w mniejszym stopniu inne owoce np. truskawki. Nadwyżki tego popularnego w naszym kraju deserowego i stosowanego głównie do produkcji mrożonek surowca są ostatnio wykorzystywane także do otrzymywania soków zagęszczonych. Owoce truskawek (*Fragaria x ananasa*) są cenne ze względu na atrakcyjny smak, barwę, zapach oraz zawartość substancji bioaktywnych pełniących rolę w procesach fizjologicznych.

Do najważniejszych bioaktywnych składników truskawek należy zaliczyć fenolkwasy (kwas elagowy, *p*-kumarowy i galusowy) i flawonoidy (flawonole – kwercetyna, kampferol), proantocyjanidyny i antocyjany (pelargonidyny i cyjanidyny) [13, 18]. Dzięki tym związkom owoce te mają właściwości antykancerogenne, przeciwutleniające, przeciwzakrzepowe, immunomodulujące, przeciwzapalne, regulujące ciśnienie krwi oraz poziom cholesterolu [4, 6, 11, 12, 16].

Zawartość tych substancji w gotowym produkcie zależy od ich ilości w surowcu i strat spowodowanych procesem technologicznym. W procesie przetwarzania truskawek na klarowne, zagęszczone soki działanie temperatury w czasie rozparzania miazgi, zagęszczania czy pasteryzacji może w różnym stopniu spowodować stratę cennych składników surowca. Dodatkowo enzymacja miazgi, tłoczenie i klarowanie

soku także może oddziaływać na ilość składników biologicznie czynnych w gotowym produkcie.

Celem niniejszych badań była ocena zawartości związków fenolowych w surowcu oraz ich zmian na poszczególnych etapach procesu technologicznego w produkcji zagęszczonego soku truskawkowego w warunkach przemysłowych.

Material i metody badań

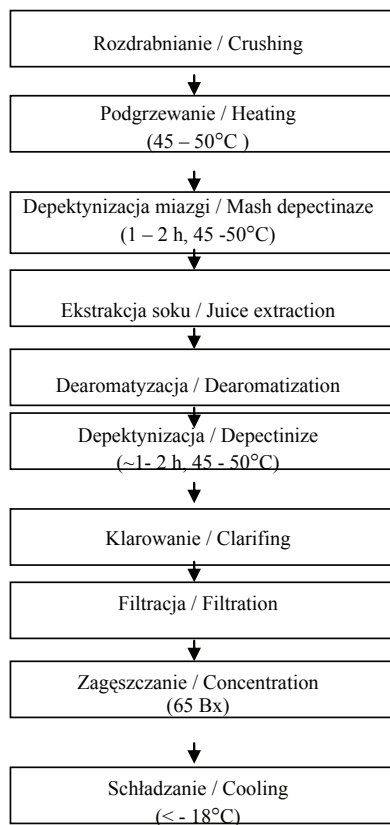
Surowcem do badań były owoce truskawek stosowane do produkcji zagęszczonego soku w sezonie 2005 na linii technologicznej Zakładu Owocowo-Warzywnego „AGRICO” w Kluczkowicach. Losowo pobierano próbki surowca, soku po tłoczeniu, klarowaniu oraz zagęszczaniu w ciągu 2-tygodniowej produkcji zagęszczonego soku truskawkowego. Próbki natychmiast zamrażano i przechowywano w stanie zamrożonym do czasu wykonywania analiz.

Produkcja zagęszczonego soku truskawkowego

Schemat procesu produkcji zagęszczonego soku truskawkowego w Zakładzie w Kluczkowicach przedstawiono na rys. 1.

Zebrane owoce truskawek rozgniatano do półpłynnego medium w gniotownikach, następnie podgrzewano przeponowo do temp. 45 - 50°C w wymiennikach rurowych. W przepływie do miazgi dodawano roztwór enzymów pektynolitycznych, a następnie w zbiornikach technologicznych przez 1- 2 h prowadzono depektynizację miazgi. Sok tłoczono w prasie HPX 5005i firmy Bücher-Guyer i poddawano dalszej obróbce. Wytloki po tłoczeniu stanowiły odpad produkcyjny. Otrzymany w wyniku tłoczenia sok mętny poddawano procesowi dearomatyzacji. Po dearomatyzacji sok schładzano do temp. około 50°C i poddawano obróbce enzymami pektynolitycznymi celem hydrolizy związków pektynowych i ułatwienia procesu klarowania. Jako substancje pomocnicze stosowano dodatek bentonitu, żelatynę i żol kwasu krzemowego. Po 2 h sedimentacji sok filtrowano przez filtr z użyciem ziemi okrzemkowej i perlitu, a następnie poddawano ultrafiltracji w celu uzyskania pożądanego poziomu klarowności. Otrzymany klarowny sok zagęszczano w wielodziałowej instalacji wyparnej firmy Wiegand, pracującej pod obniżonym ciśnieniem, do 65 Bx. Zagęszczony sok wstępnie schładzano do temp. poniżej 5°C, a następnie w opakowaniach jednostkowych niezwłocznie doprowadzano do temp. -18°C i w tej temperaturze przekazywano do dalszego przechowywania.

Podczas procesu technologicznego pobierano próbki do analizy zawartości związków fenolowych po procesie tłoczenia, klarowania oraz w uzyskanym zagęszczonym soku truskawkowym.



Rys 1. Schemat produkcji zagęszczonego soku truskawkowego.

Fig. 1. Scheme of the production of strawberry concentrates.

Zawartość poszczególnych związków fenolowych [15], w tym polimerów proantocyjanidyn oznaczano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej [9].

Analiza związków fenolowych metodą chromatografii cieczowej

Średnią próbkę 25 g truskawek po rozmrożeniu 3-krotnie ekstrahowano 80% roztworem wodnym metanolu do uzyskania 100 ml wyciągu. W czasie ekstrakcji próbki poddawano działaniu ultradźwięków w ciągu 15 min w łaźni ultradźwiękowej. Próbkę sączono przez lejek Schotta G4 i odwirowywano dwukrotnie po 10 min przy 14 tys. obr./min w wirówce laboratoryjnej. Tak przygotowany wyciąg oraz soki i koncentraty po odpowiednim rozcieńczeniu do ekstraktu soku przed zagęszczaniem po odwirowaniu podawano do analizy techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Analizę związków fenolowych prowadzono w aparacie firmy Merck-Hitachi L-7455 z diode array detektorem (DAD) i z użyciem czteroskładnikowej pompy L-7100

wyposażonej w system kontroli D-7000 HSM Multisolvent Delivery System (Merck-Hitachi, Tokio, Japonia). Rozdział prowadzono w kolumnie Synergi Fusion RP-80A 150 x 4,6 mm (4 μm) Phenomenex (Torrance, CA USA), kolumnę termostatowano w temp. 30°C. Jako fazę ruchomą stosowano roztwór A (4,5% kwas mrówkowy) i roztwór B (acetonitryl). Program gradientu był następujący: liniowo od 0% B do 25% B w ciągu 36 min, następnie kolumnę przemywano i równoważono roztworem 100% A. Przepływ fazy ciekłej wynosił 1 ml·min⁻¹, detekcję prowadzono przy czterech długościach fali: flawanole - 280 nm, kwas p-kumarowy - 320 nm, flawonole i kwas elagowy - 360 nm oraz antocyjany - 510 nm. Do identyfikacji związków porównywano czas retencji i widma z Photo Diode Array (PAD) detektora analizowanych związków i wzorców w zakresie 200 – 600 nm.

Dodatkowo prowadzono hydrolizę enzymatyczną glikozydów flawonoli w roztworze buforu kwasu cytrynowego o pH 5. Stosowano specyficzne enzymy: β -glukozydazę, β -ksylozydazę, β -galaktozydazę i β -hesperydazę (Sigma, Steinheim, Niemcy). Zanik pojedynczych pików na chromatogramie wskazywał na zidentyfikowany związek. Analizę wykonywano po 1 h inkubacji w temp. 38°C ze specyficznym enzymem. Ilościowe oznaczenia wykonywano z krzywych wzorcowych sporządzonych z odpowiednich standardów: kwasu p-kumarowego, (+)katechiny, glikozydu kwercytiny i pelargonidyny firmy (Extrasynthese Francja).

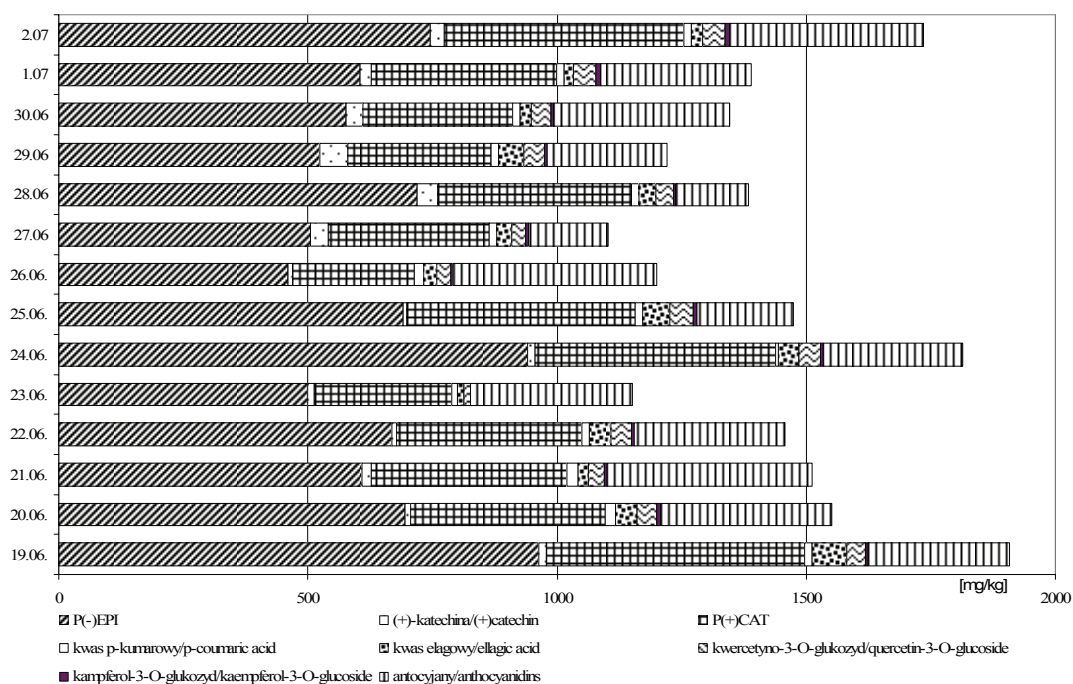
Oznaczanie polimerów proantocyjanidyn

Oznaczenie prowadzono metodą tiolizy liofilizowanych próbek owoców i soku [9]. Proszek z truskawek naważano (30-50 mg) do 2 ml (Eppendorf) naczynek. Dodawano zakwaszony metanol (3,3% obj., 400 μl) i tolueno α -tiol (5% w metanolu, 800 μl). Naczynka zamykano i ogrzewano w temp. 40°C przez 30 min, mieszając co 10 min. Następnie naczynka schładzano w lodowatej wodzie i wirowano w 4°C w wirowce z chłodzeniem przez 10 min. Próbkę przetrzymywano w temp. 4°C do czasu analizy metodą HPLC. Każdą próbkę analizowano trzykrotnie.

Produkty tiolizy rozdzielano w Merck Purospher RP 18 end-capped kolumnie 250 x 4 mm, 5 μm (Merck, Darmstadt, Germany). Stosowano aparat HPLC Waters (Milford, MA) ze skaningowym fluorescencyjnym detektorem. Jako rozpuszczalniki stosowano gradient roztworu A (2,5% kwas octowy) i roztwór B (acetonitryl): początkowo 3% B, 0-5 min, 9% B liniowo; 5-15 min, 16% B liniowo i 15-45 min, 50% B liniowo, następnie myto kolumnę i kondycjonowano w warunkach gradientu początkowego. Przepływ 1 ml·min⁻¹, temp. 30°C. Detekcję na fluorymetrze prowadzono przy wzbudzeniu 278 nm i emisji 360 nm. Krzywą kalibracyjną sporządzono ze wzorca procyjanidyny B3 (Extrasynthese Francja).

Wyniki badań i dyskusja

Jakość koncentratu zależy w dużej mierze od jakości surowca, dlatego przez czas trwania badań podjęto próbę określenia zmian zawartości związków fenolowych w surowcu użytym do produkcji. Na rys. 2. przedstawiono zmiany zawartości związków fenolowych w trakcie 2-tygodniowego procesu przerobu surowca na zagęszczony sok truskawkowy.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

P(-)EPI- proantocyjanidyny pochodne (-)epikatechiny / proanthocyanidin derivative (-)epicatechin;

P(+)-CAT- proantocyjanidyny pochodne (+)katechiny / proanthocyanidin derivative (+)catechin.

Rys. 2. Zmiany zawartości związków fenolowych w trakcie 2-tygodniowego przerobu surowca na zagęszczony sok truskawkowy.

Fig. 2. Phenolic content changes of compound during 2 weeks processing raw material from strawberry fruit.

Wykazano duże zróżnicowanie zawartości związków fenolowych w truskawkach w czasie produkcji zagęszczonego soku w okresie od 19 czerwca do 2 lipca. W próbkach zidentyfikowano pochodne kwasu *p*-kumarowego, elagowego, kwercetyny, kempferolu oraz (+)-katechinę i proantocyjanidyny. Spośród antocyjanów oznaczano pochodne pelargonidyny i cyjanidyny.

Sumaryczna zawartość związków fenolowych w surowcu wynosiła od 1970,5 do 3390,3 mg/kg, w tym największy udział stanowiły proantocyjanidyny od 1417,5 do 2751,8 mg/kg. Dominującym kwasem fenolowym w truskawkach, który stanowi niemal 51% ogólnej ilości tych związków [1, 10, 19] jest kwas elagowy. Przez cały okres przerobu surowca jego zawartość wahała się od 14,92 do 68,42 mg/kg surowca przy średniej zawartości 35,10 mg/kg truskawek. Williner i wsp. [19] podają, że zawartość kwasu elagowego w truskawkach jest kilka razy wyższa niż w owocach jagodowych tj. malinach czy czarnej porzeczce i 6 razy wyższa niż w jabłkach czy brzoskwiinach. Ponadto, że wraz ze stopniem dojrzałości owoców truskawek zawartość tego kwasu maleje [19]. Drugim kwasem fenolowym, którego oznaczono o połowę mniej niż kwasu elagowego był kwas *p*-kumarowy (średnia zawartość to 15,08 mg/kg surowca). Oznaczona zawartość kwasu *p*-kumarowego, jak i elagowego, są podobne do tych, jakie otrzymali Häkkinen i wsp. [10], analizując kilka odmian truskawek hodowanych w Finlandii.

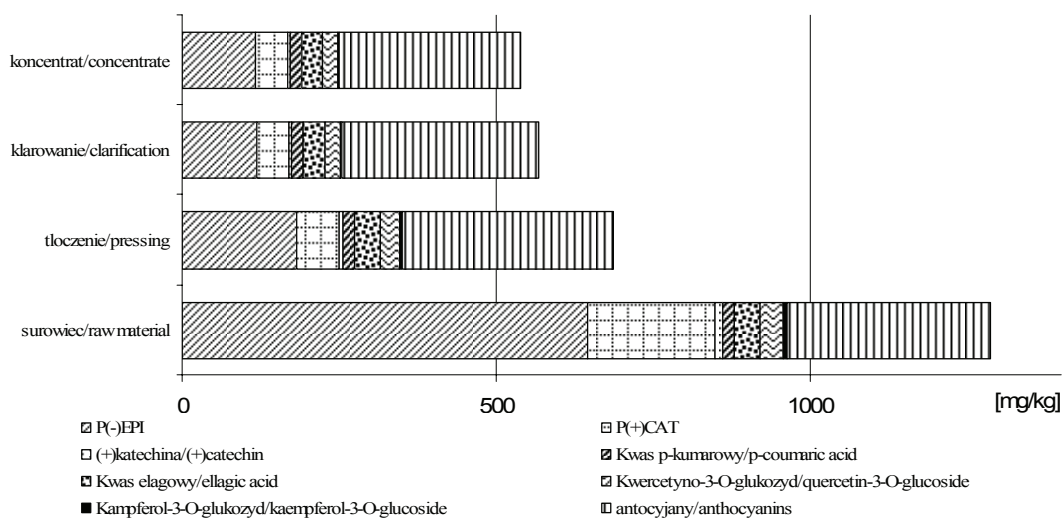
Ponadto w surowcu oznaczono pochodne kwercetyny i kempferolu. Przez cały okres, w którym badano surowiec, zawartość tych związków nie podlegała znacznym wahaniom. Średnia zawartość kwercetyny wynosiła 36,84, a kempferolu 5,52 mg/kg surowca. Wykazano, że w badanych truskawkach była niemal 7-krotnie mniejsza zawartość pochodnych kempferolu niż kwercetyny, co potwierdziły badania Amakura i wsp. [2]. Natomiast Häkkinen i wsp. [10] w swoich badaniach uzyskali jednakową zawartość zarówno kempferolu, jak i kwercetyny w badanych przez nich truskawkach. Ponadto, porównując te same odmiany wyhodowane w Finlandii oraz w Polsce stwierdzono, że polskie odmiany są mniej zasobne w te związki niż fińskie. Natomiast Olsson i wsp. [14] wykazali w owocach truskawek wyższą zawartość kempferolu niż kwercetyny.

Kolejną ważną grupą związków fenolowych truskawek jest (+)-katechina oraz związki z grupy proantocyjanidyn. Zaobserwowano, że zawartość (+)-katechiny ulegała pewnym wahaniom w trakcie monitorowanego okresu badawczego surowca. Przy średniej zawartości (+)-katechiny 23,16 mg/kg surowca, w pierwszych dniach zbioru oraz przerobu na zagęszczony sok truskawkowych jej zawartość była niższa niż w drugim etapie przerobu. Podobną zależność stwierdzono w przypadku pochodnych procyanidyn, (-)-epikatechiny oraz (+)-katechiny. Łączna zawartość związków z grupy flawan-3-ole wynosiła od 1417,5 do 2751,8 mg/kg surowca. Natomiast Abby i wsp. [1] podają, że truskawki, które są zasobne w związki z grupy flawan-3-oli mają podobną ich zawartość, jak nasiona winogron, jednak niższą niż nasiona czarnej porzeczki. Wahania zawartości tych związków w truskawkach przetwarzanych w Zakładzie w Kluczkowicach związane były z użyciem różnych odmian o zróżnicowanym stopniu dojrzałości surowca podczas okresu zbiorczego. Ponadto warunki klimatyczne, a mianowicie ciepłe, słoneczne lub chłodne i deszczowe dni w czasie wegetacji truskawek

sprawiają, że surowiec może zawierać zróżnicowane ilości związków biologicznie aktywnych – polifenoli, a także witaminy C i barwników.

Czerwona barwa truskawek pochodzi od antocyjanów i jest wskaźnikiem dojrzałości owoców. Dominującymi antocyjanami w owocach truskawek są pochodne pelargonidyny i w niewielkim stopniu cyjanidyny. W badanych owocach pelargonidyno-3-O-glukozyd stanowił niemal 89,4% ogólnej zawartości antocyjanów. Pozostałe związki stanowiły niewielką ilość, tj. pelargonidyno-3-O-sukcyloglukozyd 7,3%, pelargonidyno-3-O-rutynozyd 1,2%, zaś pozostałość - 1,2% stanowił cyjanidyno-3-O-glukozyd. Należy podkreślić, że charakterystyczna dla truskawek pelargonidyna jest związkiem stosunkowo mało stabilnym i ulega dynamicznym zmianom, na które surowiec ten jest narażony podczas produkcji zagęszczonego soku truskawkowego.

W ocenie zmian związków fenolowych zachodzących w procesie otrzymywania zagęszczonego soku w porównaniu z surowcem, już po pierwszym etapie badań stwierdzono, że w soku po tłoczeniu zawartość związków fenolowych była około 5-krotnie mniejsza (rys. 3). W stosunku do surowca najwięcej ubyło związków z grupy flawan-3-oli tj. katechin i proantocyjanidyn. Zawartość (+)-katechiny zmniejszyła się



Objaśnienia: / Explanatory notes

P(-)EPI- proantocyjanidyny pochodne (-)epikatechiny / proanthocyanidin derivative (-)epicatechin;

P(+)-CAT- proantocyjanidyny pochodne (+)katechiny / proanthocyanidin derivative (+)catechin

Rys. 3. Zmiany zawartości związków fenolowych podczas poszczególnych etapów produkcji zagęszczonego soku truskawkowego.

Fig. 3. Phenolic content change of compound during each stage of production of strawberry concentrates.

średnio z 23,16 mg/kg surowca do 5,71 mg/kg soku po tłoczeniu. Podobnie było w przypadku pochodnych proantocyjanidyn zawierających cząsteczki (-)-epikatechiny oraz (+)-katechiny; wartość ta w soku była 3,5 razy mniejsza w stosunku do zawartości w surowcu. Tak znaczne straty cennych biologicznie związków na tym etapie produkcyjnym są związane z nierozpuszczalnymi polisacharydami ścian komórkowych, które w dużym stopniu wiążą te związki i pozostają one w wytlókach, zmniejszając ich ilość w soku. Zachowanie jak największej ilości proantocyjanidyn w soku jest tym bardziej ważna, że w 50% odpowiadają one za aktywność przeciwutleniającą truskawek [17].

W przypadku pozostałych badanych związków fenolowych degradacja ich była znacznie mniejsza (1-2%). Dalsze etapy produkcji tj. klarowanie oraz zagęszczanie wpłynęły w znacznie mniejszym stopniu na straty związków polifenolowych. W soku truskawkowym w wyniku procesu klarowania stwierdzono zmniejszenie zawartości związków fenolowych o około 17%, a w wyniku procesu zagęszczania tylko o 5%. Na etapie klarowania w wyniku zastosowania środków klarujących, przede wszystkim żelatyny, następuje kolejne usunięcie z soku cennych proantocyjanidyn, gdyż powstające z nich wysokocząsteczkowe związki na tym etapie są przez nią adsorbowane i usuwane.

Barwa przetworów truskawkowych zależy przede wszystkim od ilości zawartych w nich antocyjanów. Trwałość tych barwników jest niewielka, a duży wpływ ma na nie obróbka termiczna oraz warunki przechowywania uzyskanych produktów [3, 8]. W niniejszych badaniach stwierdzono, że w produkcji zagęszczonego soku truskawkowego po procesie tłoczenia antocyjany zostały zachowane niemal w całości, natomiast po procesie klarowania w 97%, a po procesie zagęszczania w 89% w stosunku do ilości oznaczonej w surowcu. Tak wysoka zachowalność antocyjanów, w szczególności po procesie klarowania, świadczy o tym, że rodzaj i jakość zastosowanych związków klarujących został prawidłowo dobrany, gdyż pozwoliło to uzyskać pożądaną klarowność, a zarazem zminimalizować degradację barwy w stosunku do soku przed klarowaniem.

Uważa się, że to pelargonidyno-3-O-glukozyd, który jest dominującym antocyjanem truskawek, ze względu na specyficzną budowę chemiczną (jedna grupa hydroksylowa w pierścieniu B) ulega największej degradacji. Po przeprowadzeniu analizy zachowania tego barwnika podczas całego procesu produkcji zagęszczonego soku truskawkowego stwierdzono największy jego ubytek po ostatnim etapie procesu tj. po zagęszczaniu. W uzyskanym koncentracie zachowało się niemal 86% tego związku w stosunku do surowca, na co w decydującej mierze miały wpływ zastosowane parametry zagęszczania.

Podsumowanie

Podsumowując niniejsze badania należy stwierdzić, że proantocyjanidyny truskawek są najbardziej cennymi związkami tego surowca, które w największej ilości są tracone w procesie produkcji zagęszczonego klarownego soku. Zasadniczym etapem produkcji zagęszczonego klarownego soku truskawkowego, w którym traci się najwięcej związków fenolowych, jest proces tłoczenia soku. W mniejszym stopniu związki te ulegają degradacji podczas procesu klarowania oraz podczas zagęszczania soku. Pozostałe związki fenolowe, jak i antocyjany ulegają w znacznie mniejszym stopniu degradacji, a ich zawartość jest o kilka procent niższa od zawartości w owocach truskawek użytych do produkcji zagęszczonego soku.

Pracę wykonano w ramach VI Programu Ramowego dotyczącego realizacji projektu badawczego FOOD-CT-2004-513960 FLAVO.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura

- [1] Aaby K., Skrede G., Wrolstad R.E.: Phenolic composition and antioxidant activities in fresh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). J. Agric. Food Chem., 2005, **53**, 4032-4040.
- [2] Amakura Y., Umino Y., Tsuji S., Tonogai Y.: Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. J. Agric. Food Chem., 2000, **48**, 6292-6297.
- [3] Bakker J., Bridle P., Koopman A.: Strawberry juice colour: The effect of some processing variables on the stability of anthocyanins. J. Sci. Food Agric., 1992, **60**, 4, 471-476.
- [4] Beattie J., Crozier A., Duthie G.: Potential health benefits of berries. Current Nutr. Food Sci., 2005, **1**, 71-86.
- [5] Bednarski W.: Niektóre pojęcia z przetwórstwa owoców i warzyw. Przem. Spoż., 1999, **4**, 51-52.
- [6] Benzie I.F.F., Strain J.J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal. Biochem., 1996, **239**, 70-76.
- [7] Fedejko E., Jarczyk A., Królewicz P.: Charakterystyka jakości zagęszczonych soków owocowych. Przem. Ferm. Owoc-Warz., 1995, **9**, 22-25.
- [8] Garcia-Viguera C., Zafrilla P., Romero F., Abellan P., Artes F., Thomas-Barberan F.A.: Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. J. Food Chem., 1999, **64**, 2, 243-247.
- [9] Guyot, S. Marnet, N. Sanoner, P. Drilleau, J.F.: Direct thiolysis on crude apple materials for HPLC characterization and quantification of polyphenols in cider apple tissues and juices. Met. Enzymol., 2001, **335**, 57-70.
- [10] Häkkinen S.H., Törrönen A.R.: Content of flavonols and selected phenolic acid in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. Food Res. Inter., 2000, **33**, 517-524.
- [11] Hamauzu Y., Inno T., Kume C., Irie M., Hiramatsu K.: Antioxidant and antiulcerative properties of phenolics from chinese quince, quince and apple fruits. J. Agric. Food Chem., 2006, **54**, 65-772.

- [12] Hannum S.M.: Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2004, **44**, 1-17.
- [13] Kłopotek Y., Otto K., Böhm V.: Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53** (14), 5640-5646.
- [14] Olsson M.E., Ekvall J., Gustavsson K-E., Nilsson J., Pillai D., Sjöholm I., Svensson U., Akesson B., Nyman G.L.: Antioxidants, low molecular weight carbohydrates, and total antioxidants capacity in strawberries (*Fragaria x ananassa*): effects of cultivar, ripening and storage. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 2490-2498.
- [15] Oszmiański J., Wojdyło A.: *Aronia melanocarpa* phenolic and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.*, 2005, **221**, 809-813.
- [16] Rimm E.B., Ascherio A., Giovannuci E.: Vegetable, fruit and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *J. Am. Med. Ass.*, 1996, **275**, 447-451.
- [17] Steward D., Deighton N., Davies H.V.: Antioxidants in soft fruit. *Plant Biochem. Cell Biol.*, 2003, 94-98.
- [18] Wang S.Y., Zheng W.: Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 4977-4982.
- [19] Williner M.R., Pirovani M.E., Güemes D.R.: Ellagic acid content in strawberry of different cultivars and ripening stages. *J. Sci. Food Agric.*, 2003, **83**, 842-845.


IN POLYPHENOLS COMPOUNDS CHANGES IN THE INDUSTRIAL PRODUCTION PROCESS OF CONCENTRATED STRAWBERRY JUICE

S u m m a r y

The aim of this study was to estimate changes in polyphenols contents in concentrated strawberry juice during production in the industrial scale.

The samples were collected before production, after juice pressing, after juice clarification, and after juice concentration, during two weeks production in "AGRICO" company in 2005. The polyphenols compounds content including procyanidins polymers were determined by HPLC method. The derivatives of p-coumaric acid, ellagic acid, gallic acid, quercetin, kaempferol, pelargonidin, cyanidin, and especially (+)-catechin and procyanidins were identified in the samples. Among anthocyanins pelargonidin and cyaniding derivatives were determined. Quite big differentiation of polyphenols compounds content in strawberries during two weeks of production process were showed. The total amount of those compounds varied from 1970.5mg/kg to 3390.3 mg/kg. Amount of procyanidins in raw materials ranged from 1417.5 mg/kg to 2751.8 mg/kg. In comparison to raw material after pressing the amount of this polyphenols compounds was five times smaller. Procyanidins are connected to insoluble polysaccharides of cellular's walls and it remains in the pulp. Other polyphenols compounds content differences in strawberry fruit and in juice were smaller. Further production steps such as clarification and concentration less influenced on polyphenols compounds losses. Clarification and concentration of strawberry juice result in smaller losses of polyphenol compounds in juices (17% and 5% respectively).

Strawberries' procyanidins are the most valuable compounds of its raw material, however they are being lost during production process. The main stage of strawberry juice production where the biggest amount of polyphenols compounds is lost is fruit pressing. Degradation of this compounds is smaller during clarification and concentration process.

Key words: strawberry (*Fragaria x ananassa*), concentrated strawberry juice, phenolic compounds 

EWA REMBIAŁKOWSKA, EWELINA HALLMANN,
LECH KAPROŃ, ANNA RUSACZONEK

OCENA WARTOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCEJ ORAZ ZAWARTOŚCI ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH W KREMOGENACH WYKONANYCH Z OWOCÓW STARYCH I NOWYCH ODMIAN JABŁONI

Streszczenie

Intensywny rozwój sadownictwa wielkotowarowego przyczynił się do istotnych zmian w doborze odmian uprawianych jabłoni. Stare odmiany jabłoni nie tylko mogą być cenne ze względu na liczne cechy hodowlane, ale również ich owoce cechują się cennymi walorami smakowymi i odżywczymi w porównaniu z nowymi, towarowymi odmianami jabłek. Przetwory wykonane z owoców starych odmian jabłoni mogą stanowić alternatywę w diecie, ponieważ istnieje pogląd, że owoce te mogą zawierać więcej związków o charakterze przeciwutleniającym niż owoce nowych odmian i wobec tego mogą istotnie przyczynić się do promocji zdrowia. Do doświadczenia wybrano trzy stare odmiany jabłek: Antonówka Śmietankowa (syn. Półtorafuntowa), Kronselka oraz Grafsztynek Inflandzki. Odmiany te pochodziły z małych przydomowych sadów. Nowe, towarowe odmiany jabłek były reprezentowane przez: Lobo, Idared oraz Jonagold.

Wyniki wskazują, że kremogeny wykonane z jabłek starych odmian charakteryzowały się wyższą zawartością witaminy C oraz polifenoli ogółem, w tym flawonoli oraz wykazały wyższą wartość przeciwutleniającą w porównaniu z kremogenami wykonanymi z odmian nowych. Proces pasteryzacji wpłynął niekorzystnie na zawartość związków bioaktywnych oraz aktywność przeciwutleniającą badanych przetworów owocowych.

Słowa kluczowe: stare odmiany jabłek, nowe odmiany jabłek, flawonoidy, polifenole, witamina C, aktywność przeciwutleniająca

Wprowadzenie

Rozwój sadownictwa wielkotowarowego przyczynił się do zmiany struktury i asortymentu odmian oferowanych na polskim rynku owoców. Wśród doboru odmian

*Dr hab. E. Rembiałkowska, prof SGGW, dr inż. E. Hallmann, mgr inż. L. Kaproń, mgr inż. A. Rusaczon-
nek, Zakład Żywności Ekologicznej, Katedra Żywności Funkcjonalnej i Towaroznawstwa, Wydz. Nauk
o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul Nowoursynowska
159C, 02-776 Warszawa*

na rynku dominują głównie Szampion, Jonagold i jego barwne sporty (Jonagored i Jonika, Decosta i Rubinstar). Inne odmiany cieszące się popularnością wśród konsumentów to Gala czy Ligol [3]. W wyniku wyżej opisanych zmian z doboru odmian zaczynają znikać stare odmiany jabłoni, takie jak: Malinowa Oberlandzka, Kosztela, Boiken czy Koksa Pomarańczowa.

Przetwory z jabłek są cennym urozmaiceniem codziennej diety. Kremogen (mus) jabłkowy jest dobrym źródłem związków polifenolowych (kwercetyny, florydzyiny, kwasu chlorogenowego), które są bardzo silnymi przeciwutleniaczami [13]. Związki fenolowe mają nawet 10 – 30 razy wyższą aktywność przeciwutleniającą niż wit. C i E [5]. Jabłka starych odmian mogą charakteryzować się wyższą zawartością związków mineralnych i organicznych w porównaniu z nowymi, towarowymi odmianami. Dlatego przetwory wykonane z jabłek tych odmian mogą również wykazywać wyższe właściwości przeciwutleniające w porównaniu z przetworami wykonanymi z jabłek nowych odmian. Jak podają Ścibisz i wsp. [14], aktywność przeciwutleniająca koncentratu z owoców borówki wysokiej była znacznie wyższa w porównaniu z surowym sokiem, zaś najwyższą wartość przeciwutleniającą stwierdzono w pulpie owocowej. Związki przeciwutleniające z grupy fenoli są bardzo istotne dla zdrowia człowieka. Kremogen jabłkowy zawiera liczne związki aktywne z grupy fenoli, flawonoli oraz procyjanidyn [4]. Mogą się one przyczynić do profilaktyki zdrowia i zmniejszenia ryzyka wystąpienia wielu chorób cywilizacyjnych. Jak podają Hertog i wsp. [2], ryzyko wystąpienia zawału serca było o 49% mniejsze u mężczyzn, którzy spożywali 110 g jabłek dziennie (średniej wielkości jabłko), w porównaniu z tą grupą, która konsumowała mniej (18 g) jabłek dziennie [2]. Interesująca wydaje się kwestia, w jaki sposób proces przetwarzania surowych owoców kształtuje jakość produktu finalnego, jakim jest kremogen, sok czy dżem jabłkowy. Jak podają Lu i Foo [5], polifenole z jabłek są obecne w kremogenie jabłkowym i mogą być wykorzystane przez organizm, chociaż ich ilość jest znacznie mniejsza w porównaniu z jabłkami świeżymi [5]. Do chwili obecnej nie prowadzono badań nad zawartością związków bioaktywnych w przetworach jabłkowych, wykonanych z owoców starych i nowych odmian, podczas gdy musy jabłkowe są potencjalnie bardzo cennym źródłem związków przeciwutleniających w diecie. Ponadto owoce starych odmian jabłoni są bogatsze w substancje bioaktywne niż owoce nowych odmian. Dlatego też uznano za celowe przeprowadzenie prezentowanych badań.

Materiał i metody badań

Do doświadczenia wybrano trzy stare odmiany jabłek: Antonówka Śmietankowa (syn. Półtorafuntowa), Kronselka oraz Grafsztynek Inflandzki. Odmiany te pochodziły z małych przydomowych sadów z terenu woj. mazowieckiego. Z nowych, rynkowych jabłek badaniom poddano odmiany: Lobo, Idared oraz Jonagold. Owoce pochodziły

z sadu towarowego zlokalizowanego również w woj. mazowieckim. Jabłka zebrano w fazie dojrzałości zbiorczej, którą określono na podstawie indeksu Streifa.

Kremogen z jabłek (mus) wykonano w Zakładzie Żywności Ekologicznej SGGW. Owoce przeznaczone do przerobu dokładnie myto i po rozdrobieniu rozparzano razem ze skórką. Kolejnym etapem było roztarcie produktu na jednolitą masę z użyciem sit. Otrzymany kremogen poddano pasteryzacji w temp. 85°C przez 30 min.

W tak przygotowanych kremogenach oznaczano zawartość: związków bioaktywnych: flawonoli metodą Christa – Müllera [12], polifenoli ogółem [11], witaminy C metodą Tillmansa [7], aktywności przeciwutleniającej [8] oraz suchej masy [6], w dwóch układach: na świeżo, zaraz po przygotowaniu oraz po procesie pasteryzacji. Otrzymane wyniki poddano dwuczynnikowej analizie wariancji z zastosowaniem testu Tukey'a, przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wyniki zawartości związków bioaktywnych w kremogenach jabłkowych podano w tab. 1.

Kremogeny jabłkowe przygotowane z owoców starych odmian charakteryzowały się istotnie wyższą zawartością flawonoli w porównaniu z musami wykonanymi z jabłek odmian nowych i było to odpowiednio 16,95 mg·100 g⁻¹ s.m. oraz 9,18 mg·100 g⁻¹ s.m. Rembiałkowska i wsp. [10] udowodnili, że kremogeny wytworzone z jabłek ekologicznych zawierały istotnie więcej polifenoli ogółem oraz charakteryzowały się wyższą aktywnością przeciwutleniającą w porównaniu z produktami otrzymanymi z jabłek konwencjonalnych. Owoce starych odmian użyte do badań pochodziły z małych przydomowych sadów, gdzie nie używa się nawozów mineralnych ani pestycydów [10]. Dlatego można przypuszczać, że kremogeny otrzymane z jabłek starych odmian mogą mieć zbliżone właściwości odżywcze i przeciwutleniające do otrzymanych z jabłek ekologicznych [9].

Przed procesem pasteryzacji najczęściej flawonoli oznaczono w kremogenie przygotowanym z odmiany Grafsztynek Inflandzki (30,57 mg·100 g⁻¹ s.m.), zaś najmniej w produkcie otrzymanym z odmiany Kronsella (tylko 7,15 mg·100 g⁻¹ s.m.). Po pasteryzacji kremogeny ze starych odmian wykazały nieco większy ubytek zawartości flawonoli (o 69,8%) w porównaniu z kremogenami otrzymanymi z odmian nowych (65,2%). Największy ubytek flawonoli stwierdzono w kremogenie otrzymanym z jabłek odmiany Grafsztynek Inflandzki (87,9% wartości wyjściowej), zaś wśród nowych odmian z jabłek odmiany Idared (73,7%).

Kremogeny (musy) jabłkowe przygotowane z owoców starych odmian charakteryzowały się dwukrotnie wyższą zawartością polifenoli ogółem 686,8 mg·100 g⁻¹ s.m. w porównaniu z produktami otrzymanymi z odmian nowych 332,7 mg·100 g⁻¹ s.m. (tab. 1). Największą zawartość polifenoli ogółem stwierdzono w kremogenie przygo-

towanym z odmiany Kronsella (750,7 mg·100 g⁻¹ s.m.), zaś wśród odmian nowych była to odmiana Idared 399,2 mg·100 g⁻¹ s.m. (tab. 1). Proces technologiczny może zmienić zawartość związków bioaktywnych w produkcie finalnym, jakim jest kremogen jabłkowy. Jak podaje Ścibisz i wsp. [14], zawartość związków fenolowych w pasteryzowanym soku z owoców borówki wysokiej zmniejszyła się o 25%, zaś w koncentracji aż o 30% w stosunku do soku świeżego. W prezentowanych badaniach proces pasteryzacji niekorzystnie wpłynął na zawartość polifenoli w produkcie finalnym, gdyż w kremogenach otrzymanych z owoców starych odmian zanotowano ubytek o 19,1%, zaś w kremogenach z jabłek nowych odmian ten spadek był nieco mniejszy - 15,8%. Największy ubytek zawartości polifenoli ogółem stwierdzono w produkcie przygotowanym z jabłek odmiany Kronsella (39,6%), a wśród nowych odmian w kremogenie z odmiany Jonagold (26,2%). Jak podaje Rembiałkowska i wsp. [10], pasteryzowane soki jabłkowe zawierały o 11,0% fenoli mniej niż sok niepasteryzowany [11]. Natomiast Gerard i wsp. [1], stwierdzili, że krótkotrwałe podgrzewanie pulpy jabłkowej przed procesem wyciskania soku przyczyniło się istotnie do zwiększenia zawartości flawonoidów oraz polifenoli ogółem w produkcie finalnym.

Zawartość witaminy C była istotnie wyższa w kremogenach z jabłek starych odmian (122,9 mg·100 g⁻¹ s.m.), w porównaniu z kremogenami z jabłek nowych odmian (59,92 mg·100 g⁻¹ s.m.). Najwięcej witaminy C stwierdzono w produkcie otrzymanym z jabłek odmiany Grafsztynek Inflanckiej - 186,4 mg·100 g⁻¹ s.m., zaś wśród nowych odmian był to kremogen z odmiany Idared - 66,9 mg·100 g⁻¹ s.m. (tab. 1). Proces pasteryzacji wpłynął niekorzystnie na zawartość kwasu L-askorbinowego w kremogenach jabłkowych. Produkty wykonane ze starych odmian jabłek znów wykazały się wyższym ubytkiem tego składnika w porównaniu z odmianami nowymi i było to odpowiednio 33,3 oraz 28,8%. Indywidualnie najwyższe straty zawartości witaminy C po pasteryzacji wśród produktów otrzymanych ze starych odmian stwierdzono w kremogenie z jabłek odmiany Kronsella - 45,8%, a wśród odmian nowych z odmiany Jonagold - 43,4%.

Kremogeny przygotowane z jabłek starych odmian charakteryzowały się wyższą aktywnością przeciwutleniającą (149,7 μM TE·100 g⁻¹ s.m.) w porównaniu z produktami otrzymanymi z odmian nowych (139,3 μM TE·100 g⁻¹ s.m.) (rys. 1 i 2). Największą aktywność oznaczono w kremogenie wykonanym z jabłek odmiany Antonówka Śmietankowa - 186,6 μM TE·100 g⁻¹ s.m., zaś wśród nowych odmian był to kremogen z odmiany Idared - 150,4 μM TE·100 g⁻¹ s.m. Proces pasteryzacji niekorzystnie wpłynął na aktywność przeciwutleniającą kremogenów jabłkowych. Stwierdzono znaczne obniżenie aktywności w kremogenach przygotowanych z nowych odmian jabłek, o 56,5%, zaś w kremogenie otrzymanym z jabłek odmian starych spadek ten wyniósł 15,4% w stosunku do wartości przed pasteryzacją. Najwyższe obniżenie wartości przeciwutleniającej stwierdzono w musie przygotowanym z jabłek odmiany Grafsztynek

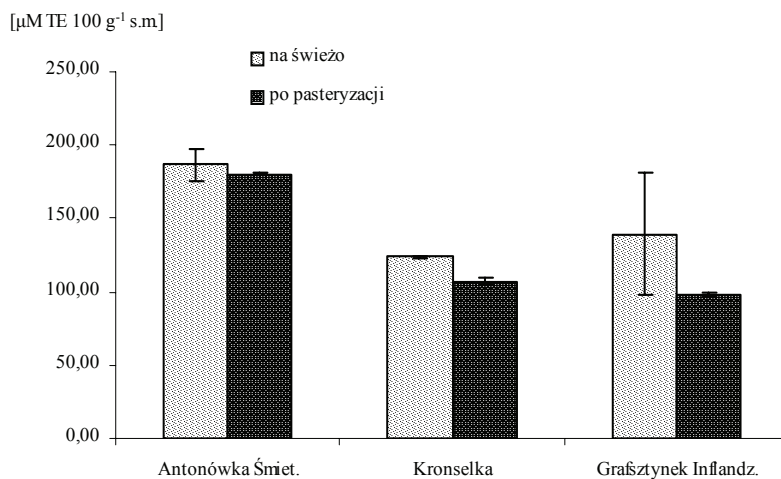
Inflandzki (29,6%), zaś wśród nowych odmian z jabłek odmiany Lobo (o 64,7% wartości przed pasteryzacją) (rys. 1 i 2).

Tabela 1

Zawartość związków bioaktywnych w kremogenach jabłkowych otrzymanych z jabłek starych i nowych odmian, determinowana procesem pasteryzacji.

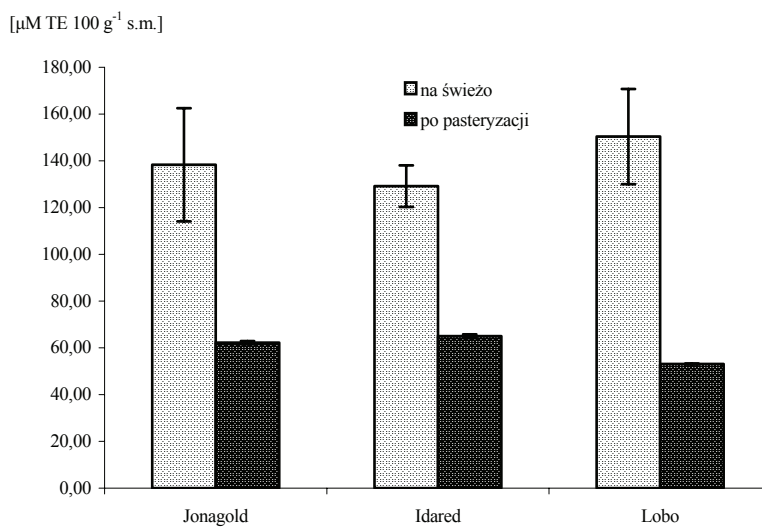
Influence of pasteurization processing on bioactive substances content in apple mousse from old and new cultivars.

Odmiany jabłek Apples cultivars		Flawonole Flavonols [mg x 100 g ⁻¹ s. m.]	Polifenole ogółem Total polyphenols [mg x 100 g ⁻¹ s.m.]	Witamina C Vitamin C [mg x 100 g ⁻¹ s.m.]
Przed pasteryzacją / Before pasteurization				
Stare odmiany Old cultivars	Antonówka Śmiet.	13,13	594,36	96,54
	Kronselka	7,15	750,71	85,77
	Grafsztynek Inflandz.	30,57	715,52	186,36
Wartość średnia / Mean value		16,95	686,86	122,89
Nowe odmiany New cultivars	Jonagold	6,71	244,88	53,09
	Idared	16,34	399,16	66,89
	Lobo	4,49	353,98	59,80
Wartość średnia / Mean value		9,18	332,68	59,92
Po pasteryzacji / After pasteurization				
Stare odmiany Old cultivars	Antonówka Śmiet.	6,81	520,62	86,31
	Kronselka	4,84	453,14	46,51
	Grafsztynek Inflandz.	3,70	678,33	105,46
Wartość średnia / Mean value		5,11	550,70	79,42
Nowe odmiany New cultivars	Jonagold	2,05	180,66	44,34
	Idared	4,30	339,99	37,87
	Lobo	3,25	331,70	43,91
Wartość średnia / Mean value		3,20	284,12	42,04
NIR _{/0,05/} przetwarzanie		4,85	66,01	15,83
NIR _{/0,05/} odmiana		12,79	173,97	41,73
NIR _{/0,05/} odm x rzetwarzanie		2,29	55,99	11,56



Rys. 1. Wpływ procesu pasteryzacji na wartość przeciwutleniającą kremogenów wykonanych z owoców starych odmian jabłoni.

Fig. 1. Influence of pasteurization process on antioxidant activity of old apple cultivars mousse.



Rys. 2. Wpływ procesu pasteryzacji na wartość przeciwutleniającą kremogenów wykonanych z owoców nowych odmian jabłoni.

Fig. 2. Influence of pasteurization process on antioxidant activity of new apple cultivars mousse.

Wnioski

1. Kremogen wytworzony z jablek starych odmian charakteryzował się wyższą zawartością związków biologicznie czynnych (polifenoli ogółem, w tym flawonoli oraz witaminy C).

2. Wśród starych odmian jedną z największych zawartości polifenoli ogółem, w tym flawonoli oraz witaminy C stwierdzono w kremogenie z owoców odmiany Graf-sztynek Inflanckiej, a wśród nowych jabłek z odmiany Idared.
3. Proces pasteryzacji przyczynił się do ubytku zawartości związków przeciwutleniających w kremogenach jabłkowych starych i nowych odmian jabłoni, jednak spadek ten był wyraźnie mniejszy w kremogenach przygotowanych z owoców nowych odmian.
4. Kremogeny przygotowane z jabłek starych odmian mogą stanowić cenne prozdrowotne uzupełnienie codziennej diety.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura

- [1] Gerard K.A., Roberts J.S.: Microwave heating of apple mash to improve juice yield and quality. *Lebensm. Wiss. U-Technol.* 2004, **37**, 551-557.
- [2] Hertog M.G.L., Feskens E.J.M., Hollman P.C.H., Katan M.B., Kromhout D.: Dietary antioxidants flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993, **342**, 1007-1011.
- [3] Kruczyńska D.: Zmiany w strukturze odmianowej jabłoni na świecie i w Polsce. *OWK*, 2001, **19**, 6-7.
- [4] Lu Y., Foo L., Y.: Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. *Food Chem.*, 1997, **59**, 187-194.
- [5] Lu Y., Foo L., Y.: Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chem.* 2000, **68**, 81-85.
- [6] PN-90 A-75101/03. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [7] PN-90 A-75101/11. Oznaczanie zawartości witaminy C.
- [8] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 1999, **26**, **9/10**, 1231-1237.
- [9] Rembiałkowska E., Hallmann E., Adameczyk M.: Porównanie wybranych cech wartości odżywczej jabłek z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej. *Bromat. i Chem. Toks. Suppl.* 2004, 201 - 207.
- [10] Rembiałkowska E., Wasiak-Zys G., Hallmann E., Lipowski J., Jasińska U., Owczarek L.: Porównanie wybranych cech wartości sensorycznej i właściwości antyoksydacyjnych soku i kremogenu jabłkowego z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej. *Mat. konf. „Wybrane zagadnienia ekologiczne we współczesnym świecie”*. Monografia, Poznań 2005, s. 264-274.
- [11] Rembiałkowska E., Hallmann E., Lipowski J., Jasińska U., Owczarek L.: Wpływ procesów technologicznych na zawartość fenoli ogółem oraz potencjał przeciwutleniający soku i kremogenu jabłkowego z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1 (46) Supl.**, 121-126.
- [12] Strzelecka H., Kamińska J., Kowalski J., Wawelska E.: *Chemiczne metody badań roślinnych surowców leczniczych*. PZW, Warszawa 1978, s. 55-56.

- [13] Schieber A., Keller P., Carle R.: Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high – performance liquid chromatography. *J Chrom. A* 2001, **910**, 265-273.
- [14] Ścibisz I., Mitek M., Serwinowska K.: Aktywność przeciwutleniająca soków i półkoncentratów otrzymanych z owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L). *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 2004, **3 (40) Supl.**, 196-203.

ESTIMATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND BIOACTIVE SUBSTANCES CONTENT IN APPLE MOUSSE PREPARED FROM THE OLD AND NEW APPLE CULTIVARS

S u m m a r y

The present intensive orchard development caused the essential changes in apple cultivars' selection. Old apple cultivars can remain the perfect source of genes for breeding process. They are more tasty and of high nutritive quality in comparison to the new ones. The preserves prepared of the old apples cultivars can be beneficial for human health because of their higher level of bioactive substances content. Therefore it was appropriate to conduct studies on antioxidant activity and bioactive substances content in apple preserves prepared of the old vs. new apples cultivars.

Three old apples cultivars: Antonówka Śmietankowa (Półtorafuntowa), Kronselka and Grafsztynek Inflandzki have been used in the experiment. These cultivars have been produced in small, local orchards in Mazovia region. The new apples cultivars were represented by Lobo, Idared and Jonagold cultivars from large orchard in Mazovia region too. Results obtained showed that the pomace prepared of the old apples cultivars contained significantly more total polyphenols, flavonoids and also vitamin C. Moreover they showed higher antioxidant capacity than preserves prepared of the new apple cultivars. The pasteurization process has contributed to the significant decrease of the bioactive substances content and antioxidant capacity of apple pomace.

Key words: old apples cultivars, new apple cultivars, flavonoids, polyphenols, vitamin C, antioxidant activity ☒

ANNA KORUS, ZOFIA LISIEWSKA, WALDEMAR KMIECIK

OCENA JAKOŚCI BRZOSKWIŃ W ŻELU KONSERWOWANYCH KWASEM SORBOWYM - W ZALEŻNOŚCI OD WARUNKÓW PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu okresu i warunków przechowywania na jakość brzoskwiń w żelu konserwowanych kwasem sorbowym. Materiałem badawczym były konserwy wyprodukowane w Przetwórnicy Owoców i Warzyw „Prospina” sp. z o.o. – brzoskwinie w żelu. Ocenie poddano produkty w odstępach 3-miesięcznych, składowane przez 12 miesięcy w temperaturze chłodniczej (2-4°C) i pokojowej (18-20°C). Oznaczono zawartość suchej masy, cukrów ogółem, kwasów ogółem, kwasu sorbowego i poziomu pH. Oceniono również jakość mikrobiologiczną i sensoryczną konserw. W 100 g brzoskwiń w żelu, badanych bezpośrednio po wytworzeniu, stwierdzono 27,07 g suchej masy, 18,70 g cukrów ogółem, 0,77 g kwasów ogółem, 0,068 g kwasu sorbowego, pH konserwy wynosiło 3,30. Okres i temperatura składowania produktu wpłynęły w największym stopniu na zmniejszenie zawartości kwasu sorbowego. Lepszym zachowaniem kwasu sorbowego charakteryzowały się produkty magazynowane w temperaturze chłodniczej. W przechowywanych produktach nie stwierdzono zmian mikrobiologicznych. Ocena sensoryczna brzoskwiń w żelu bezpośrednio po produkcji wynosiła 4,77 pkt. Po 12 miesiącach składowania produkt otrzymał noty 4,43 pkt i 4,78 pkt odpowiednio w temperaturze pokojowej i chłodniczej.

Słowa kluczowe: brzoskwinia w żelu, kwas sorbowy, warunki przechowywania

Wprowadzenie

Przemysł owocowo-warzywny produkuje z owoców świeżych lub z ich półprzetworów wiele produktów, które znajdują coraz szersze zastosowanie w przemyśle cukierniczym jako nadzienia do ciast oraz jako dodatek do deserów. Produkty takie, jak: dżemy, marmolady, owoce kandyzowane, prażone, obsuszane, w żelu i w syropie urozmaicają oraz ułatwiają przygotowanie posiłków w gospodarstwach domowych. Czynnikiem konserwującym tych wyrobów jest często wysokie stężenie cukru, ale w wielu przypadkach stosuje się utrwalanie termiczne z zastosowaniem pasteryzacji w opakowaniach hermetycznych. Użycie przy ich produkcji chemicznych środków

konserwujących jest dodatkowym czynnikiem współdziałającym z innymi czynnikami utrwalającymi żywność. Zaletą tego rodzaju konserw jest ich przedłużona trwałość zwłaszcza po otwarciu opakowania. Ponadto produkty takie są dostępne niezależnie od pory roku i są łatwe w przechowywaniu [25]. Zgodnie z obowiązującymi przepisami prawa żywnościowego okres przechowywania wyrobów spożywczych producent ustala sam na podstawie przeprowadzonych niezbędnych badań produktu [22]. Trwałość przechowalniczą konserw wyznacza data minimalnej trwałości. Okres ten może jednak być wydłużony na podstawie wyników przeprowadzonych badań przechowalniczych, dostępnych do wglądu jednostkom kontroli. W trakcie badań przechowalniczych powinny być sprawdzane parametry ulegające zmianom podczas przechowywania, w tym przede wszystkim parametry sensoryczne, mikrobiologiczne i chemiczne.

Celem pracy była ocena zmian jakości brzoskwiń w żelu konserwowanych kwasem sorbowym i przechowywanych 12 miesięcy w temperaturze otoczenia i temperaturze chłodniczej. Za kryterium oceny przyjęto wybrane wyróżniki fizykochemiczne, parametry mikrobiologiczne i cechy sensoryczne.

Materiał i metody badań

Materiałem doświadczalnym były brzoskwinie w żelu – wyprodukowane w Przetwórni Owoców i Warzyw „Prospina” Sp. z o.o. w Nowym Sączu. Brzoskwinie w żelu to produkt otrzymany przez wymieszanie pokrojonych w kostkę owoców z żelem i utrwalony metodą pasteryzacji w puszkach. Żel do produkcji przygotowany zgodnie z normą zakładową [24] ze skrobi z dodatkiem wody, cukru, kwasu cytrynowego oraz środka konserwującego (sorbinian potasu, w dawce 0,1%), środków aromatyzujących, barwników spożywczych dopuszczonych przez ustawodawstwo krajowe.

Proces technologiczny produkcji owoców w żelu obejmował następujące czynności: przygotowanie półproduktów (dobór jakościowy i ilościowy owoców oraz dodatków przewidzianych recepturą), przygotowanie żelu, połączenie owoców z żelem, mieszanie, rozlew do puszek (400 g), zamknięcie, pasteryzacja, etykietowanie, magazynowanie.

Materiał doświadczalny był przechowywany w temperaturze pokojowej (18-22°C) oraz chłodniczej (2-4°C).

Ocenie jakościowej poddano produkty bezpośrednio po wytworzeniu oraz po 3, 6, 9 i 12 miesiącach składowania. W celu wykazania wpływu okresu i temperatury składowania konserw na ich jakość, w badanych próbach określano zawartość wybranych wyróżników fizykochemicznych, parametry mikrobiologiczne i jakość sensoryczną.

Oznaczano:

- zawartość suchej masy metodą wagową wg AOAC (32.064) [14];
- ogólną zawartość cukrów wg AOAC (32.041) [14]. Roztwór do oznaczenia cukrów ogółem poddawano 5-minutowej inwersji w temp. 68-70°C wobec kwasu solnego;

- ogólną zawartość kwasów, w przeliczeniu na kwas cytrynowy, metodą miareczkową wg AOAC (32.043) [14];
- kwasowość czynną metodą potencjometryczną wg AOAC (32.010) [14];
- zawartość kwasu sorbowego metodą spektrofotometryczną [8].

Wszystkie wskaźniki analizowano w 4 powtórzeniach. Próbkę do badań pobierano z czterech opakowań wybranych losowo z całej partii konserw.

Badania mikrobiologiczne prowadzono bezpośrednio po otwarciu opakowań, w czterech powtórzeniach. Obejmowały one oznaczenie liczby bakterii tlenowych mezofilnych w 1g [7], drożdży i pleśni w 0,1g [9] oraz bakterii beztlenowych przetrwalnikujących w 0,1g [15].

Analizę sensoryczną wykonywał 5-osobowy zespół metodą oceny bezpośredniej przy zastosowaniu pięciopunktowej skali ocen [16]. Wytypowano następujące wyróżniki jakości sensorycznej, uznane za najistotniejsze dla konsumenta: wygląd zewnętrzny produktu, w tym wygląd ogólny, zachowanie kształtu i jednolitość wielkości cząstek owoców, barwa frakcji żelowej, barwa cząstek owoców, ponadto uwzględniono konsystencję, zapach i smak.

W celu umożliwienia właściwej interpretacji uzyskanych wyników wykonano obliczenia statystyczne stosując test F Snedecora i test t-Studenta. Następnie obliczono najmniejszą istotną różnicę (NRI) wyróżników składu chemicznego przy poziomie prawdopodobieństwa $p < 0,01$ i oceny sensorycznej przy $p < 0,05$. Wyniki analizowanych wyróżników chemicznych podano w przeliczeniu na 100 g produktu.

Wyniki i dyskusja

Produktem wykorzystywanym nie tylko przez cukierników są brzoskwinie w żelu, który ma właściwości termostabilne, co powoduje, że produkty z jego użyciem można zamrażać oraz piec bez zmiany struktury tego półproduktu. Zaletą tej konserwy jest także i to, że należy ona do grupy produktów niskosłodzonych.

Badania przeprowadzone bezpośrednio po produkcji konserw wykazały, że w 100 g było średnio 27,07 g suchej masy, 18,70 g cukrów ogółem, 0,77 g kwasów ogółem i 0,068 g kwasu sorbowego, a pH kształtowało się na poziomie 3,30 (tab. 1-2). Kwasowość ogólna w przeliczeniu na kwas cytrynowy była nie mniejsza niż 0,5 g/100 g produktu, a zawartość środka konserwującego (sorbinian potasu) nie większa niż 0,1 g/100 g produktu, co było zgodne z zakładowym dokumentem normalizującym przetwory owocowe takie, jak owoce w żelu [24]. W trakcie przechowywania konserw nastąpiły istotne zmiany zawartości analizowanych wyróżników, przy czym temperatura przechowywania nie miała wpływu na ich poziom. Po rocznym przechowywaniu produktu, w porównaniu z konserwami bezpośrednio po produkcji, udowodniono statystyczne zmniejszenie zawartości suchej masy, cukrów ogółem i kwasów ogółem, które było jednak niewielkie i nie przekroczyło 10%.

Tabela 1

Zawartość suchej masy i cukrów ogółem w brzoskwiniach w żelu (w świeżej masie).

Dry matter and total sugars content in peaches in gel (in fresh matter).

Analizowany wyróżnik Analysed component	Temperatura prze- chowywania Temperature of storage [°C]	Okres przechowywania [miesiące] Period of storage [months]												Wartość średnia Mean value	NRI* p<0,01 LSD p<0,01
		0		3		6		9		12		A			
		poziom level	A	poziom level	A	poziom level	A	poziom level	A	poziom level	A				
Sucha masa Dry matter [g/100 g]	18 - 20	27,07	27,27	101	100	26,96	100	26,47	98	25,22	93	26,60	a - n.s. b - 0,442 c - n.s.		
	2 - 4	27,07	27,47	101	98	26,45	98	26,71	99	25,26	93	26,59			
	wartość średnia mean value	27,07	27,37	101	99	26,71	99	26,59	98	25,24	93	-			
Cukry ogółem Total sugars [g/100 g]	18 - 20	18,70	17,33	93	93	17,35	93	17,64	94	17,29	92	17,66	a - 0,431 b - 0,482 c - n.s.		
	2 - 4	18,70	18,02	96	96	17,98	96	18,03	96	17,68	95	18,08			
	wartość średnia mean value	18,70	17,68	95	94	17,67	94	17,84	95	17,49	94	-			

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A - % w odniesieniu do konserwy bezpośrednio po produkcji / A - % regarding product directly after processing;

*NRI p < 0,01 / LSD p < 0,01; a - temperatura przechowywania / - temperature of storage; b - okres przechowywania / period of storage; c - (a×b) – współdziałanie / interaction;

n.s. – nieistotne statystycznie / not statistically significant.

Tabela 2

Poziom kwasowości ogólnej, kwasowości czynnej i zawartość kwasu sorbowego w brzoskwiniach w żelu (w świeżej masie).
Total acidity and active acidity level and sorbic acid content in peaches in gel (in fresh matter).

Analizowany wyróżnik Analysed component	Temperatura przechowywania Temperature of storage [°C]	Okres przechowywania [miesiące] Period of storage [months]												Wartość średnia Mean value	NRI* P=0,01 LSD p<0.01			
		0			3			6			9					12		
		poziom level	A	poziom level	A	poziom level	A	poziom level	A	poziom level	A	poziom level	A					
Kwasowość ogólna [g/100g] Total acidity [g/100 g]	18 - 20	0,77	0,73	0,73	95	0,76	99	0,70	91	0,69	90	0,73	a - n.s. b - 0,027 c - n.s.					
	2 - 4	0,77	0,75	0,77	97	0,69	100	0,69	90	0,68	88	0,73						
	wartość średnia mean value	0,77	0,74	0,77	96	0,77	100	0,70	91	0,69	90	-						
Kwasowość czynna (pH) Active acidity (pH)	18 - 20	3,30	3,31	3,48	100	3,48	105	3,46	105	3,50	106	3,41	a - n.s. b - 0,011 c - n.s.					
	2 - 4	3,30	3,30	3,48	100	3,48	105	3,46	105	3,50	106	3,41						
	wartość średnia mean value	3,30	3,31	3,48	100	3,48	105	3,46	105	3,50	106	-						
Kwas sorbowy Sorbic acid [g/100 g]	18 - 20	0,068	0,059	0,048	87	0,048	71	0,038	56	0,023	34	0,047	a - 0,0009 b - 0,0017 c - 0,0025					
	2 - 4	0,068	0,062	0,051	91	0,051	75	0,043	63	0,029	43	0,051						
	wartość średnia mean value	0,068	0,061	0,050	90	0,050	74	0,041	60	0,026	38	-						

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

O niewielkich ubytkach suchej masy, cukrów ogółem, kwasowości ogólnej i czynnej podczas przechowywania dżemów owocowych z kilku gatunków owoców, a więc produktów zbliżonych do analizowanej konserwy, podają również Kmiecik i wsp. [11]. Z kolei badania Jaworskiej i Kmiecika [10] wykazały, że roczny okres przechowywania przetworów owocowych takich, jak konfitury miał istotny wpływ jedynie na zawartość kwasów ogółem, których ilość obniżyła się o 17%, w porównaniu z produktem wyjściowym.

Dzięki stosowaniu konserwantów można uzyskać przedłużenie trwałości do kilku dni po otwarciu opakowania produktów spożywczych takich, jak np.: sosy warzywne, dżemy niskosłodzone, ogórki konserwowane w dużych opakowaniach; gdyż dodatek konserwanta opóźnia procesy mikrobiologicznego psucia się produktu przez drobnoustroje, szczególnie pleśnie. W ocenianych brzoskwiniach w żelu zastosowano chemiczny środek konserwujący – sorbinian sodu. Kwas sorbowy i jego sole hamują rozwój pleśni i drożdży, czyli mają działanie fungistyczne [3]. Konserwant ten znalazł bardzo szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, większe niż kwas benzoowy. Wynika to z faktu, że jest on bardziej efektywny od kwasu benzoowego w zakresie pH 4,0 – 6,5, a w organizmie człowieka jest metabolizowany tak, jak naturalne kwasy tłuszczowe [4, 13, 18]. Kwas sorbowy i jego sole jako środki o działaniu przeciwbakteryjnym są szeroko wykorzystywane między innymi do konserwowania produktów niskosłodzonych [6]. Może być ponadto stosowany do utrwalania: pulp i przecierów owocowych, marmolad, powideł, dżemów, galaretek, innych przetworów owocowych oraz owoców suszonych [17]. Sól kuchenna, cukier, kwas propionowy, nizyna i fosforany potęgują konserwujące działanie kwasu sorbowego i sorbinianów [6]. Badania naukowe potwierdzają, że nawet tak niskie dawki konserwanta, jak 0,035% czy 0,050% mają już pozytywny wpływ na trwałość i cechy sensoryczne produktów owocowo-warzywnych [5, 12].

Przeprowadzone analizy brzoskwiń w żelu dowiodły, że zawartość kwasu sorbowego w produktach po rocznym przechowywaniu zmniejszyła się z przeciętnego poziomu 0,068 g/100 g bezpośrednio po wyprodukowaniu do 0,026 g/100 g. Gliemmo i wsp. [6] podają, że poziom kwasu sorbowego zależy od pH środowiska, aktywności wody oraz warunków przechowywania. Brzoskwinie w żelu przechowywane w warunkach chłodniczych miały po 12 miesiącach składowania więcej konserwanta niż produkt magazynowany w temperaturze otoczenia średnio o 21%. Znaczne zmiany zawartości kwasu sorbowego podczas przechowywania w różnego rodzaju produktach owocowych wykazali również Bolin i wsp. [2] oraz Thakur i Arya [20]. Thakur i Arya [20] badali zmiany zawartości konserwanta w soku pomarańczowym i w pulpie z owoców mango i stwierdzili, że już po 90 dniach przechowywania w temperaturze pokojowej nastąpił znaczący spadek poziomu kwasu sorbowego, o 14% w soku pomarańczowym i o 34% w pulpie. Badania przeprowadzone przez Bolina i wsp. [2] dodatko-

wo udowodniły, że wyższa temperatura przechowywania powodowała większe straty substancji konserwującej. Ubytek kwasu sorbowego w suszonych śliwkach przechowywanych przez 10 miesięcy w temp. 21°C wyniósł 30%, a 50% w temp. 32°C. Na zmniejszenie zawartości konserwanta w magazynowanej żywności wpływa nie tylko okres i temperatura przechowywania, ale również pH wyrobu, obecność soli, jonów metali, aspartamu, glicerolu czy np. zawartość wody w suszonych owocach [1, 6, 21, 23]. Badania prowadzone przez Vidyasagara i Arya [23] udowodniły, że nawet rodzaj opakowania ma wpływ na zawartość substancji utrwalającej.

Równoległe z badaniami wyróżników składu chemicznego przeprowadzono badania mikrobiologiczne, które obejmowały parametry określone właściwą dla tego produktu normą jakościową wyrobu. Na żadnym etapie badań nie stwierdzono zmian mikrobiologicznych, które byłyby podstawą do skrócenia okresu składowania lub dyskwalifikacji produktu (tab. 3).

Tabela 3

Wyniki analiz mikrobiologicznych brzoskwiń w żelu.
Results of microbiological analyses of peaches in gel.

Parametr mikrobiologiczny Microbiological parameter	Okres i warunki przechowywania [miesiące] Period and conditions of storage [months]								
	0 miesięcy 0 months	3		6		9		12	
		18-20°C	2-4°C	18-20°C	2-4°C	18-20°C	2-4°C	18-20°C	2-4°C
Liczba bakterii tlenowych mezofilnych w 1 g Number of aerobic mesophilic bacteria in 1g	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Obecność drożdży i pleśni w 0,1 g Yeasts and moulds in 0.1 g	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
Bakterie beztlenowe przetrwalnikujące w 0,1 g Anaerobic sporeforming bacteria in 0.1 g	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb

nb - nieobecne / non-detectable.

Tabela 4

Jakość sensoryczna brzoskwiń w żelu [pkt].
Sensory quality of peaches in gel [scores].

Wyróżnik jakości Quality factor	Mnożnik ważkości Conversion factor	Okres i warunki przechowywania konserw Period and conditions of storage									
		0 miesięcy 0 months		3 miesiące / months 18-20°C		6 miesięcy / months 18-20°C		9 miesięcy / months 18-20°C		12 miesięcy / months 18-20°C	
		2-4°C		2-4°C		2-4°C		2-4°C		2-4°C	
1. Wygląd zewnętrzny produktu: / External appearance of the product:											
a) wygląd ogólny (syneresa) general appearance (syneresis)	1	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
b) zachowanie kształtu i jednolitość wielkości cząstek owoców shape and size uniformity	2	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3
c) barwa frakcji żelowej colour of gel phase	3	5,0	4,8	5,0	4,5	4,9	4,3	4,3	4,7	4,2	4,5
d) barwa owoców colour of fruits	3	5,0	5,0	5,0	4,7	4,9	4,6	4,6	4,8	4,4	4,7
2. Konsystencja Consistency	2	5,0	5,0	5,0	4,8	5,0	4,7	4,7	5,0	4,3	4,9
		4,7	4,9	4,9	4,9	4,9	4,4	4,4	4,9	4,2	4,9
3. Zapach / Smell	4	5,0	4,8	5,0	4,7	5,0	4,6	4,6	5,0	4,6	5,0
4. Smak / Taste	5	4,4	4,9	4,9	4,8	4,9	4,6	4,6	4,9	4,6	4,9
Ocena ogólna Total score	20	4,77	4,83	4,90	4,70	4,86	4,58	4,82	4,43	4,43	4,78
NRI $p < 0,05$ (ocena ogólna)											0,061
LSD $p < 0,05$ (total score)											

Siwek i wsp. [19] podkreślają, że ważnym elementem badań przechowalniczych określających termin przydatności do spożycia lub datę minimalnej trwałości produktów spożywczych jest ocena sensoryczna wyrobów, która powinna odgrywać równorzędną rolę z badaniami mikrobiologicznymi czy chemicznymi. Jak wykazały wyniki cytowanych autorów wykonywanych od wielu lat na zlecenia producentów, zmiany sensoryczne w stopniu dyskwalifikującym produkt w wielu przypadkach występują wcześniej niż zmiany mikrobiologiczne. Należy podkreślić, że przechowalnicza ocena sensoryczna nie może być traktowana i wykonywana „przy okazji” innych badań, np. mikrobiologicznych. Większość zmian w produkcie wykrywana jest wtedy, jeśli ocena prowadzona jest przy zachowaniu właściwych dla danych wyrobów procedur analizy sensorycznej. Dotyczy to w szczególności warunków wykonywania oceny, sposobu przygotowania próbek, kwalifikacji osób oceniających.

Brzoskwinie w żelu oceniane sensorycznie bezpośrednio po wytworzeniu otrzymały notę równą 4,77 pkt (tab. 4). Ze względu na poprawę smaku (bez posmaku skrobiowego) i konsystencję frakcji owoców, konserwa ta po 3 miesiącach przechowywania uzyskała wyższe noty 4,83 pkt (18-20°C) i 4,90 pkt (2-4°C). W trakcie dalszego składowania oceny ulegały niewielkiemu obniżaniu, przy czym zawsze wyższe noty uzyskiwała konserwa z temperatury chłodniczej. Po rocznym chłodniczym przechowywaniu brzoskwinie w żelu oceniono na poziomie 4,78 pkt, a konserwy przechowywane w temperaturze 18-20°C uzyskały średnią notę 4,43 pkt.

Na obniżenie oceny podczas przechowywania w temperaturze pokojowej miały wpływ niższe noty prawie wszystkich ocen cząstkowych. W badaniach Jaworskiej i Kmiecika [10] niższa temperatura składowania konfitur miała korzystny wpływ tylko na barwę produktu, co spowodowało, że oceny końcowe produktów składowanych w temperatury pokojowej i chłodniczej różniły się nieznacznie.

Wnioski

1. Po 12 miesiącach przechowywania brzoskwiń w żelu, niezależnie od temperatury składowania, stwierdzono niewielkie zmniejszenie zawartości większości analizowanych wyróżników.
2. Podczas 12-miesięcznego składowania konserw zawartość kwasu sorbowego zmniejszyła się, w odniesieniu do pierwotnego poziomu bezpośrednio po produkcji, o 59% w produktach przechowywanych w temperaturze chłodniczej i o 66% w konserwach przechowywanych w temperaturze pokojowej.
3. Czas i temperatura składowania nie miały wpływu na jakość mikrobiologiczną ocenianego produktu.
4. Dwunastomiesięczne przechowywanie konserw w temp. 2-4°C nie zmieniło ich jakości sensorycznej, natomiast w temp. 18-20°C wpłynęło na nieznaczne jej pogorszenie.

Literatura

- [1] Arya S. S.: Stability of sorbic acid in aqueous solutions. *J. Agric. Food Chem.*, 1980, **6**, 1246-1249.
- [2] Bolin H. R., King A. D., Stanfford A. E.: Sorbic acid loss from high moisture prunes. *J. Food Sci.*, 1980, **5**, 1434-1435.
- [3] Bolin H. R., Stanfford A. E., Flath R. A.: Increased specificity in sorbic acid determination in stored dried prunes. *J. Agric. Food Chem.*, 1984, **3**, 685-687.
- [4] Czapski J., Wieland A.: Dodatki do żywności. PWRiL, Poznań 1992.
- [5] Gates K., Costilow R. N.: Factors influencing softening of salt-sock pickles in air-purged fermentation. *J. Food Sci.*, 1981, **1**, 274-278.
- [6] Gliemmo M. F., Campos C. A., Greschenson L. N.: Interaction between potassium sorbate and aspartame in aqueous model sugar systems. *J. Food Sci.*, 2001, **3**, 428-431.
- [7] ISO-4833-78: 1978. Fruits, vegetables and vegetable-meat products. Methods of microbiological analyses. Detection and enumeration of aerobic, mesophilic and psychrophilic microorganisms.
- [8] ISO-5519: 1978. Fruit, vegetables and derived products. Determination of sorbic acid content.
- [9] ISO-7954-87: 1987. Fruits, vegetables and vegetable-meat products. Methods of microbiological analyses. Enumeration of yeasts and moulds.
- [10] Jaworska G., Kmiecik W.: Wykorzystanie aronii do produkcji konfitur. *Zesz. Nauk. AR Kraków, s. Technol. Żywn.*, 1995, **301**, 55-64.
- [11] Kmiecik W., Lisiewska Z., Jaworska G. Effect of aronia berry honey syrup used for sweetening jams on their quality. *Nahrung/Food* 2001, **4**, 273-279.
- [12] Kmiecik W., Lisiewska Z.: Wpływ dodatku sorbinianu potasu na jakość kiszonych owoców cukini. *Roczniki PZH* 1994, **4**, 301-309.
- [13] Nilsen P. V.: Preservative and temperature effect on growth of three variants of the heat-resistant mold, *Neosartaria fischeri*, as measured by an impedimetric method. *J. Food Sci.*, 1991, **6**, 1735-1740.
- [14] Official Methods of Analysis of AOAC. Ed. by S. Williams, Arlington 1984.
- [15] PN-90/A-75052/10. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie obecności i miana bakterii beztlenowych przetrwalnikujących mezofilnych i termofilnych.
- [16] PN-A-88032:1998. Wyroby cukiernicze. Badania organoleptyczne.
- [17] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 kwietnia 2004 roku w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu. *Dz. U.* 2004 r. Nr 94, poz. 933 z późn. zm.
- [18] Rutkowski A.: Dodatki w przetwórstwie owoców i warzyw. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1999, **6**, 12-17.
- [19] Siwek B., Markowska A., Gałęcka-Wiercioch E.: Ocena organoleptyczna w badaniach przechowalniczych. *Przem. Spoż.*, 2002, **4**, 33-34.
- [20] Thakur B. R., Arya S. S.: Effect of sorbic acid on irradiation-induced sensory and chemical changes in sweetened orange juice and mango pulp. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1993, **28**, 371-376.
- [21] Thakur B. R., Trehan I. R., Arya S. S.: Radiolytic degradation of sorbic acid in insulated systems. *J. Food Sci.*, 1990, **6**, 1699-1703.
- [22] Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. *Dz. U.* 2006 r. Nr 171, poz. 1225.
- [23] Vidyasagar K., Arya S. S.: Stability of sorbic acid in orange squash. *J. Agric. Food Chem.*, 1983, **6**, 1262-1264.

- [24] ZDN-PROSP-6. Zakładowy dokument normalizacyjny, przetwory owocowe, owoce w żelu. Przetwórnia owoców i warzyw „Prospona”.
- [25] Ziemia Z.: Podstawy cieplnego utrwalania żywności. WNT, Warszawa 1993.

QUALITY EVALUATION OF PEACHES IN GEL CONSERVED WITH SORBIC ACID DEPENDING ON STORAGE CONDITIONS

S u m m a r y

The aim of the paper was to establish the effect of time and conditions of storage on the quality of peach in gel conserved with sorbic acid. The investigated material consisted of peach in gel conserves produced by “Prospona” Fruit and Vegetable Processing Plant Ltd. The products stored for 12 months at cold storage temperature of 2-4°C and at room temperature of 18-20°C were evaluated at 3-month intervals. The content of dry matter, total sugars, total acids, sorbic acid and the pH level were measured in the investigated samples. The microbiological and sensory value of the product was also determined. In 100g of peach in gel conserve analysed directly after processing the content of dry matter was 27.07 g; of total sugars 18.70 g; of total acids 0.77 g; of sorbic acid 0.068 g; pH was 3.30. The period and temperature of storage had the greatest decreasing effect on the content of sorbic acid. The products kept in cold store conditions preserved more sorbic acid. No microbiological changes were found in the stored products. The sensory evaluation of peach in gel was 4.77 score directly after processing. After 12 months of storage the products got 4.43 and 4.78 scores for room and cold storage temperatures, respectively.

Key words: peach in gel, sorbic acid, conditions of storage ☒

MARCIN KIDOŃ, JANUSZ CZAPSKI

WPLYW OBRÓBKI TERMICZNEJ NA ZAWARTOŚĆ BARWNIKÓW BETALAINOWYCH I ZDOLNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ BURAKA ĆWIKŁOWEGO

Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu blanszowania i suszenia korzeni buraka ćwikłowego oraz ogrzewania suszu buraczanego na zawartość barwników betalainowych oraz zdolność przeciwutleniającą. Stwierdzono, że blanszowanie powodowało stratę barwników czerwonych na poziomie około 25%. Jednocześnie następował ok. 2-krotny wzrost zdolności przeciwutleniającej. Suszenie zwiększyło tę zdolność o 25%, chociaż spowodowało 18% spadek zawartości barwników czerwonych. Największe straty zawartości barwników czerwonych (o 80%) spowodowało ogrzewanie suszu buraczanego przez 3 i 5 godz. Pomimo tak dużej degradacji barwników zdolność przeciwutleniająca wzrosła o 75%.

Słowa kluczowe: burak ćwikłowy, barwniki betalainowe, zdolność przeciwutleniająca, blanszowanie, suszenie

Wstęp

Do tej pory nie odkryto „panaceum” chroniącego ludzki organizm przed chorobami układu sercowo-naczyniowego, nowotworami czy starzeniem. Badania naukowe dowodzą, że wiele procesów degeneracyjnych powodowanych jest przez wolne rodniki. Mimo, że pewnych zmian nie uda się zatrzymać, poprzez odpowiednią dietę można korzystnie wpływać na zdrowie człowieka. Zwiększenie spożycia owoców i warzyw istotnie obniża ryzyko zachorowania na raka oraz choroby sercowo-naczyniowe. Ten korzystny wpływ na nasz organizm przypisuje się zawartym w nich związkach o charakterze przeciwutleniaczy [1, 2, 12]. Niestety, wiele produktów, szczególnie warzyw, przed spożyciem należy poddać obróbce termicznej. Również procesy technologiczne, którym poddaje się surowce roślinne mogą istotnie wpływać na zawartość przeciwutleniaczy w produkcie oraz zmieniać ich potencjał antyoksydacyjny [4, 7]. Jednym z warzyw powszechnie spożywanych w Polsce jest burak ćwikłowy. Warzywo to ma

dużą zdolność przeciwutleniającą, która przypisywana jest związkom odpowiedzialnym za jego barwę – barwnikom betalainowym [5, 6, 9, 10, 12]. Barwniki te są rozpuszczalne w wodzie i wrażliwe na działanie wysokiej temperatury [3].

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu warunków blanszowania i suszenia na zawartość barwników betalainowych oraz zdolność przeciwutleniającą korzeni buraka ćwikłowego.

Materiały i metody badań

Surowcem użytym do badań były korzenie buraka ćwikłowego odmiany Czerwona Kula, pochodzące z uprawy prowadzonej w 2004 r. przez gospodarstwo Hodowla i Nasiennictwo „Spójnia” w Nochowie. Susz do analiz otrzymano we własnym zakresie.

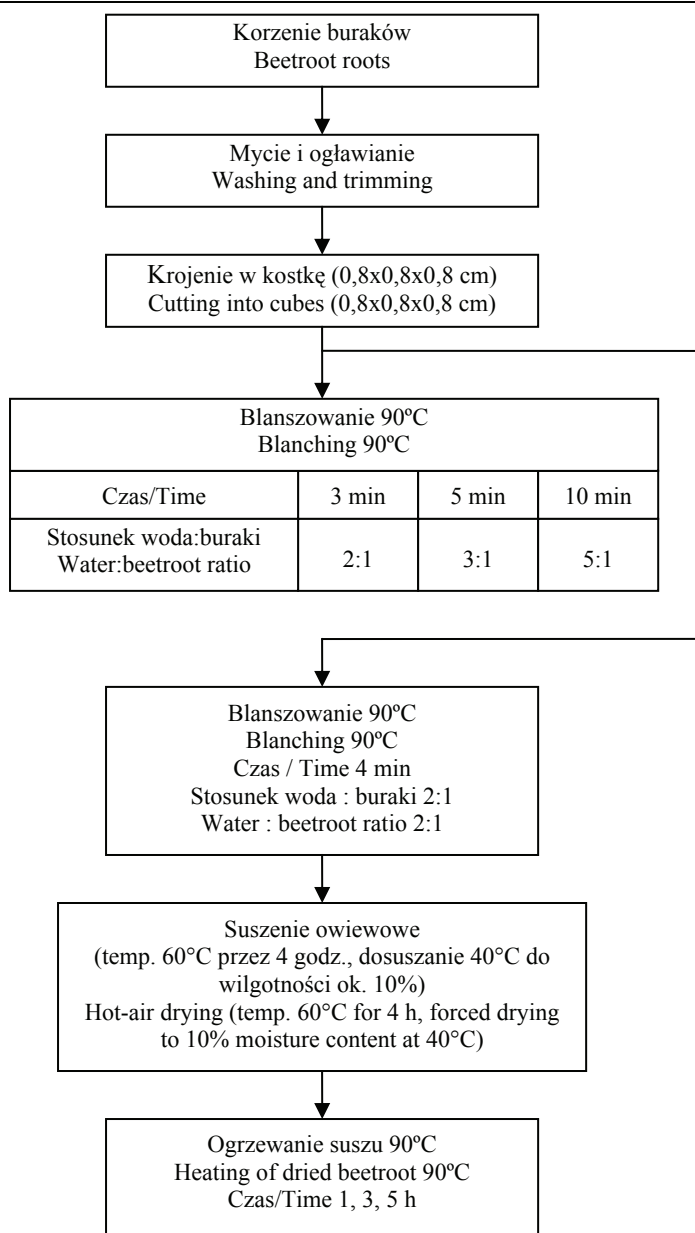
Ocenę wpływu warunków blanszowania przeprowadzono przy uwzględnieniu zróżnicowanego czasu oraz różnego stosunku masy wody do buraków. Suszenie prowadzono metodą owiewową w temp. 60°C przez pierwsze 4 godz. oraz dosuszanie do zawartości wody około 10% w temp. 40°C. W celu oceny wpływu temperatury na zdolność przeciwutleniającą susze ogrzewano w 90°C przez 1, 3 oraz 5 godz.

Schematy doświadczeń blanszowania, suszenia oraz ogrzewania suszu buraczanego przedstawiono na rys. 1.

Oznaczenia zawartości barwników betalainowych wykonywano w ekstraktach wodnych wg Nilssona [8]. Korzenie świeżego lub blanszowanego buraka ćwikłowego homogenizowano i ekstrahowano wodą przez 2 godz. bez dostępu światła w temp. 6°C. Ekstrakt wirowano i rozcieńczano 0,1 M buforem fosforanowym o pH 6,5, aby otrzymać absorbancję przy długości fali 538 nm w granicach 0,3 – 0,8. W przypadku suszu próbę w pierwszej kolejności poddawano rozdrobieniu do postaci proszku, następnie ekstrahowano wodą w stosunku 1:20. Zawartość barwników czerwonych wyrażano w mg betaniny, a barwników żółtych w mg wulgaksantyny na 1 g suchej substancji.

Oznaczenie zdolności przeciwutleniającej wykonywano w ekstraktach wodnych przygotowanych analogicznie, jak w przypadku oznaczeń zawartości barwników. Zastosowano metodę opracowaną przez Re i wsp. [11] z wykorzystaniem kationorodnika ABTS. Przygotowane rozcieńczenia ekstraktu posłużyły do wykreślenia zależności procentowej wielkości absorbancji kationorodnika od stężenia próby, która jest zależnością prostoliniową. Na podstawie współczynników prostej regresji próby badanej oraz krzywej standardowej roztworu Troloxu wyznaczono wartość TEAC poszczególnych prób w μM Troloxu na 1 g suchej substancji.

Oznaczenia zawartości suchej masy w świeżych warzywach i suszach wykonywano za pomocą wagosuszarki WPS 30S firmy Radwag.



Rys. 1. Schemat przeprowadzenia doświadczeń.

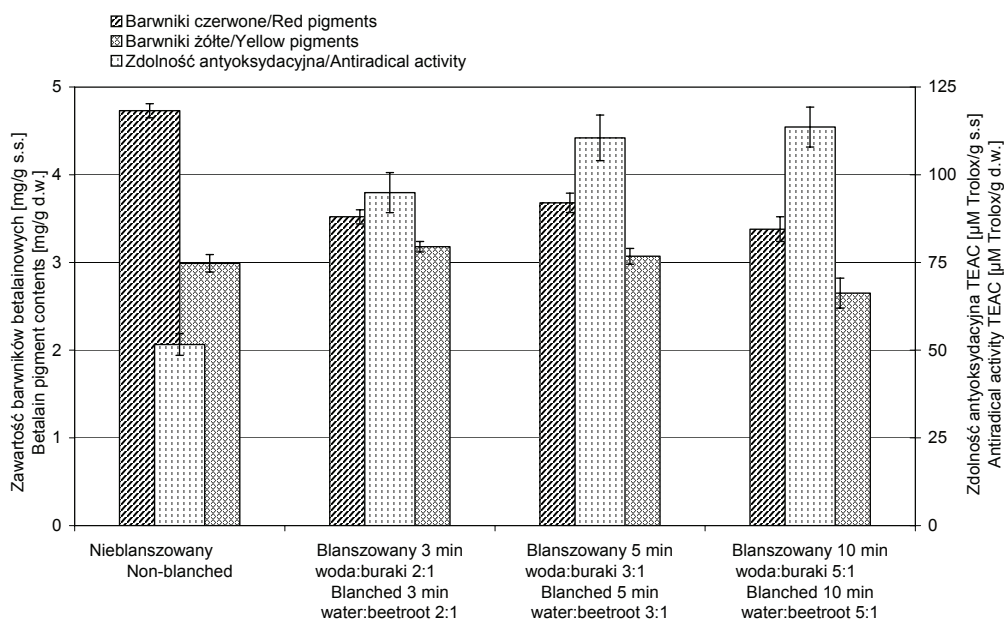
Fig. 1. A diagram of experimental design.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. W celu oceny różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. W celu oceny niepewności pomiaru TEAC wykreślono krzywe me-

tołą najmniejszych kwadratów. Niepewność pomiaru przedstawiono jako $\Delta = SD * t_{0,05, n}$. Obliczeń dokonano za pomocą arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel.

Wyniki i dyskusja

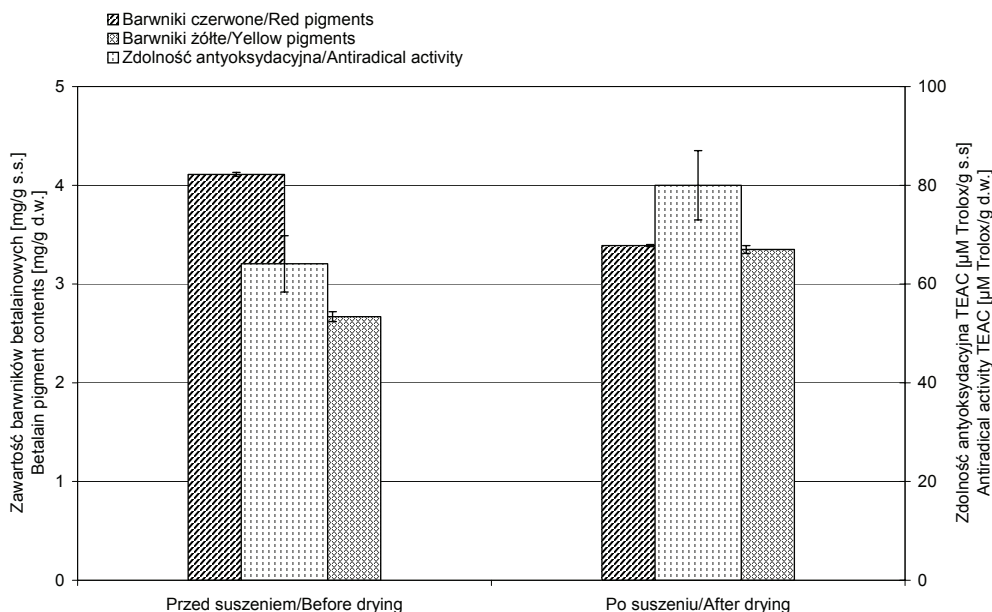
Zabieg blanszowania miał istotny wpływ na zawartość barwników betalainowych oraz zdolność przeciwutleniającą w przeliczeniu na 1 g suchej substancji. Już blanszowanie trwające 3 min i stosunek wody do buraków 2:1 powodował zmniejszenie zawartości barwników czerwonych z 4,73 do 3,52 mg/g s.s. Dalsze wydłużanie blanszowania do 5 i 10 min oraz zwiększanie stosunku wody do buraków nie powodowało dużego zwiększenia ubytku barwników czerwonych. Zawartość barwników żółtych pozostawała na zbliżonym poziomie bez względu na warunki blanszowania i wynosiła od 2,65 do 3,18 mg/g s.s. Zdolność przeciwutleniająca buraków poddanych blanszowaniu zwiększyła się. Zdolność przeciwutleniająca buraków przed blanszowaniem wynosiła 52 μM Troloxu/g s.s., a po blanszowaniu od 95 (po 3 min) do 114 (po 10 min) μM Troloxu/g s.s.



Rys. 2. Zmiany zawartości barwników betalainowych oraz zdolności przeciwutleniającej podczas blanszowania korzeni buraka ćwikłowego.

Fig. 2. Changes in betalain pigment contents and antioxidant activity during blanching of red beet roots.

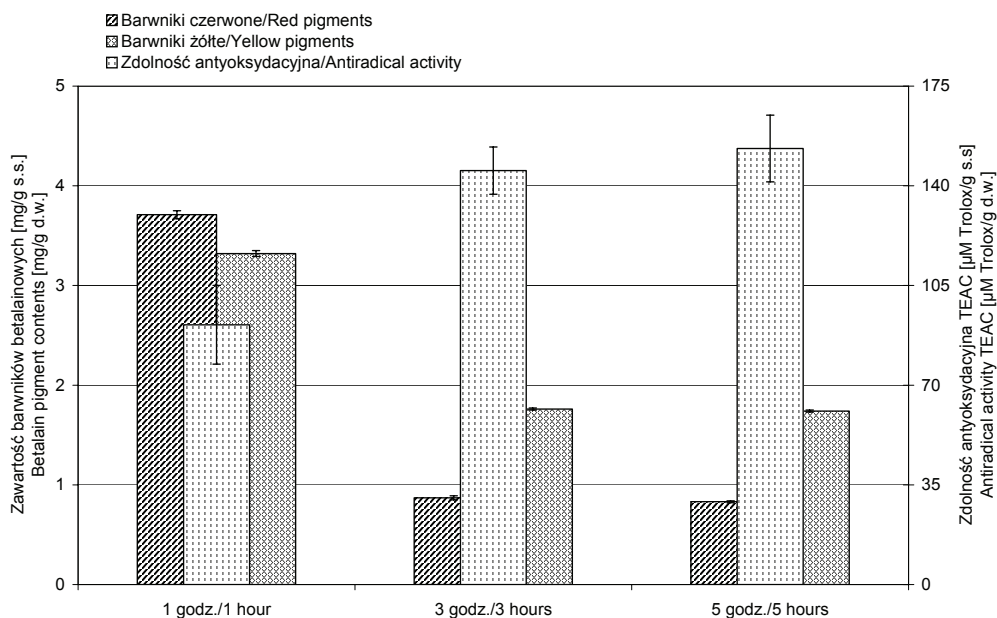
Suszenie, podobnie jak blanszowanie, zmniejszało zawartość barwników czerwonych. Straty zawartości tych barwników podczas suszenia wynosiły ok. 18%. Natomiast zawartość barwników żółtych podczas suszenia zwiększyła się o 25%. Suszenie istotnie wpłynęło na zdolność przeciwutleniającą. Jej wartość w suszu wyniosła 80 μM Troloxu/g s.s., co oznacza wzrost o 25% w porównaniu z próbą przed suszeniem.



Rys. 3. Zmiany zawartości barwników betalainowych oraz zdolności przeciwutleniającej po suszeniu korzeni buraka ćwikłowego.

Fig. 3. Changes in betalain pigment contents and antioxidant activity during drying of red beet roots.

Godzinne ogrzewanie w temp. 90°C nie miało wpływu na zmiany badanych parametrów suszu buraczanego. Dopiero trzygodzinna ekspozycja na wysoką temperaturę spowodowała bardzo dużą, o około 75%, degradację czerwonych barwników betalainowych. Duże straty obserwowano także w przypadku barwników żółtych. Po 3 godz. ogrzewania ich zawartość wyniosła 1,76 mg/g s.s., co oznacza straty na poziomie 47%. Barwniki czerwone ulegały silniejszej degradacji, przez co ich zawartość po trzygodzinnym ogrzewaniu była ok. 2 razy mniejsza niż barwników żółtych. Pomimo znacznych strat barwników ogrzewanie przez 3 godz. spowodowało wzrost zdolności przeciwutleniającej o 80%. Dalsze wydłużenie ogrzewania suszu nie wpłynęło istotnie na zmiany badanych parametrów.



Rys. 4. Zmiany zawartości barwników betalainowych oraz zdolności przeciwutleniającej podczas ogrzewania suszu z buraków ćwikłowych.

Fig. 4. Changes in betalain pigment contents and antioxidant activity during heating of dried red beets.

Badania innych autorów wskazują, że za zdolność przeciwutleniającą buraków ćwikłowych odpowiedzialne są czerwone barwniki betalainowe [5, 6, 9, 10]. Potwierdzają to również badania świeżych buraków. Barwniki betalainowe są rozpuszczalne w wodzie oraz wrażliwe na wysoką temperaturę, dlatego podczas blanszowania lub suszenia łatwo ulegają wymyciu oraz degradacji [3]. Powiązana zatem z ich zawartością zdolność przeciwutleniająca powinna również ulegać zmniejszeniu. Wyniki uzyskane w tej pracy dowodzą jednak, że ta zdolność wzrasta.

Poddawanie suszu buraczanego ogrzewaniu poza środowiskiem wodnym również powoduje silny rozkład barwników betalainowych – w większym stopniu czerwonych niż żółtych. Pod wpływem wysokiej temperatury barwniki czerwone mogą przechodzić w żółte lub też mogą powstawać inne produkty degradacji cieplnej (np. związki reakcji Maillarda) [7]. Możliwe jest zatem, że tworzące się pod wpływem ogrzewania związki o barwie żółtej mają zdolność przeciwutleniającą. Poza tym ogrzewanie może ułatwiać ekstrakcję z tkanki buraka innych związków, poza barwnikami, które również wykazują zdolność przeciwutleniającą, a które bez obróbki cieplnej są w wodzie nierozpuszczalne.

Wnioski

1. Stwierdzono, że już w procesie blanszowania korzeni buraka ćwikłowego zawartość barwników czerwonych zmniejszała się i po 3 min osiągnęła poziom 74% ich ilości w surowcu nieblanszowanym. Dalsze wydłużanie procesu oraz zwiększanie stosunku wody do buraków w badanym zakresie nie miało dużego wpływu na straty barwników w czasie blanszowania. Pomimo wymywania znacznych ilości substancji rozpuszczalnych w wodzie, zdolność przeciwutleniająca ekstraktu wzrastała z 52 do 95 po 3 min, 111 po 5 min i 114 μM Troloxu na g s.s po 10 min blanszowania.
2. Proces suszenia spowodował straty barwników czerwonych. Straty te w suszu wyniosły 18%. Jednocześnie zdolność przeciwutleniająca suszu wzrosła o 25% w stosunku do wartości tego parametru w korzeniach buraka przed suszeniem. Silne ogrzanie suszu w temp. 90°C przez 3 godz. spowodowało straty barwników na poziomie 75%, podczas gdy zdolność przeciwutleniająca wzrosła o około 80% w porównaniu z potencjałem przeciwutleniającym suszu nieogrzewanego.
3. Blanszowanie, suszenie i ogrzewanie korzeni buraka ćwikłowego, mimo że powodowało wymycie i rozkład barwników betalainowych, wyraźnie zwiększało potencjał przeciwutleniający tego surowca.

Mgr inż. Marcin Kidoń jest stypendystą w ramach Działania 2.6 Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura

- [1] Bartosz G.: Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2003.
- [2] Borowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2003, **5**, 11-12; **6**, 2-30.
- [3] Czapski J.: Heat stability of betacyanins in red beet juice and betanin solutions. Zeitschrift für Lebensmittel – Untersuchung und – Forschung, 1990, **191**, 275-278.
- [4] Horubała A.: Pojemność przeciwutleniająca i jej zmiany w procesach przetwarzania owoców i warzyw. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1999, **3**, 30-32.
- [5] Kanner J., Harel S., Granit R.: Betalains – A new class of dietary cationized antioxidants. J. Agric. Food Chem., 2001, **49**, 5178-5185.
- [6] Mikołajczyk K., Czapski J.: Zdolność antyoksydacyjna i zawartość barwników betalainowych w różnych odmianach buraka ćwikłowego. Bromat. Chem. Toksykol., 2006, **39**, 437-441.
- [7] Nicoli M. C., Anese M., Parpinel M.: Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. Trends Food Sc. Technol., 1999, **10**, 94-100.
- [8] Nilsson T.: Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.). Lantbrukshögskolans Annaler, 1970, **36**, 179-197.

- [9] Pedreño M. A., Escribano J.: Correlation between antiradical activity and stability of betanine from *Beta vulgaris* L. roots under different pH, temperature and light conditions. *J. Sci. Food Agric.*, 2001, **81**, 627-631.
- [10] Pedreño M. A., Escribano J.: Studying the oxidation and the antiradical activity of betalain from beetroot. *J. Biol. Educ.*, 2000, **1**, 49-51.
- [11] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, **26**, **9/10**, 1231-1237.
- [12] Stintzing F. C., Carle R.: Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food and human nutrition. *Trends in Food Sc. Tech.*, 2004, **15**, 19-38.

THE EFFECT OF THERMAL PROCESSING ON BETALAIN PIGMENTS CONTENTS AND ANTIRADICAL ACTIVITY OF RED BEET

Summary

The aim of this study was to determine the effect of blanching and hot-air drying of red beet roots, as well as heating of dried beetroot on betalain contents and antiradical activity. It was found that blanching diminished betalain contents by almost 25%. However, a double increase was found for antiradical activity. Drying improved antiradical activity by about 25%, whereas losses of red pigment reached 18%. The highest losses of red pigment (by almost 80%) were caused by heating of dried beetroot for 3 and 5 h. Even at such a considerable pigment content decrease antiradical activity increased by about 75%.

Key words: red beet, betalain pigments, antiradical activity, blanching, drying ☒

URSZULA GAWLIK-DZIKI, DARIUSZ KOWALCZYK

WPLYW WARUNKÓW EKSTRAKCJI NA AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ EKSTRAKTÓW Z KIEŁKÓW RZODKIEWKI

Streszczenie

Z kielków rzodkiewki odmiany Lucynka wyekstrahowano związki fenolowe, stosując 50% aceton i 50% metanol. Nie stwierdzono wpływu rozpuszczalnika zastosowanego do ekstrakcji na zawartość związków fenolowych ogółem. Skuteczniejszym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji flawonoidów okazał się 50% metanol, natomiast stosując 50% aceton wyekstrahowano więcej fenolokwasów. Ekstrakty w kielków rzodkiewki wykazywały znaczącą aktywność przeciwrodnikową (54,33% w przypadku ekstraktu acetonowego i 56,08% w przypadku ekstraktu metanolowego), jednak była ona znacznie niższa od aktywności syntetycznych przeciwutleniaczy. Badane próby skutecznie neutralizowały H_2O_2 , przy czym wyższą aktywnością (59,48%) charakteryzował się ekstrakt metanolowy niż acetonowy (53,84%). Ekstrakt acetonowy wykazywał wyższą zdolność do chelatowania jonów Fe(II) niż ekstrakt metanolowy (odpowiednio 45,33 i 32,24%). W obu przypadkach aktywność badanych prób była zdecydowanie wyższa niż aktywność przeciwutleniaczy syntetycznych.

Słowa kluczowe: kielki rzodkiewki, związki fenolowe, aktywność przeciwutleniająca

Wprowadzenie

Związek między dietą a zdrowiem człowieka dostrzegany jest od bardzo dawna, jednak świadome wykorzystywanie składników żywności w prewencji i leczeniu schorzeń datuje się dopiero od I połowy XX wieku, to jest od czasu odkrycia witamin i niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu składników mineralnych. W odpowiedzi na nowe potrzeby żywieniowe konsumentów powstają grupy produktów spożywczych o najwyższej jakości żywieniowej, świeżych, naturalnych, nisko przetworzonych, wygodnych, ekologicznych i wolnych od dodatków chemicznych. Wszystkie te kryteria spełniają kielki. Szczególnie popularne wśród konsumentów są kielki fasoli mung, brukułu, rzodkiewki, rzeżuchy, soczewicy. Badania marketingowe

wykazały, że konsumenci preferują na ogół kiełki rzodkiewki – aż 76% badanych spożywało ten rodzaj kiełków. Kiełki rzodkiewki dzięki dużej zawartości witaminy C podnoszą odporność organizmu, wpływają korzystnie na stan skóry, pobudzają apetyt, działają przeciwgrzybicznie [10].

Żywność pochodzenia roślinnego stanowi bogate źródło naturalnych związków biologicznie aktywnych, których właściwości profilaktyczne i chemioprewencyjne są związane z aktywnością przeciwutleniającą. Jest ona obecnie najważniejszą cechą fenoli występujących w żywności. Związki fenolowe stanowią główną grupę roślinnych substancji odgrywających istotną rolę w wiązaniu wolnych rodników. Cennym ich źródłem są warzywa kapustne z rodziny krzyżowych. Liczne dane literaturowe potwierdzają fakt, że poziom związków fenolowych uzależniony jest od gatunku rośliny, fazy jej rozwoju i metody hodowli.

W literaturze przedmiotu nieliczne są informacje o skuteczności stosowania zmiennych układów rozpuszczalników do ekstrakcji polifenoli. Covan [3] podaje, że etanol jest najczęściej stosowanym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji tanin i flawonoli, natomiast użycie metanolu pozwala na wyizolowanie antocyjanin, tanin, flawonów i innych związków polifenolowych, aceton zaś stosowany jest do ekstrakcji flawonoli.

Celem pracy było porównanie skuteczności dwóch różnych układów ekstrakcyjnych do izolowania związków fenolowych z kiełków rzodkiewki oraz określenie ich zdolności przeciwutleniającej i zdolności do chelatowania metali.

Material i metody badań

Materiałem do badań były kiełki rzodkiewki (*Raphanus sativus* L.) odmiany Lucynka wyhodowane z nasion dostępnych w obrocie handlowym. Sześciodniowe kiełki uzyskano kiełkując nasiona w temperaturze pokojowej ($22 \pm 2^\circ\text{C}$).

Do ekstrakcji związków o charakterze przeciwutleniającym zastosowano roztwory wodne: 50% metanol oraz 50% aceton. W ekstraktach oznaczano zawartość związków fenolowych ogółem [14], zawartość flawonoidów [1] oraz fenolokwasów [4]. Określano zdolność do neutralizacji wolnych rodników DPPH [2], usuwania H_2O_2 [8] oraz zdolność do chelatowania jonów Fe(II) [6]. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Porównując skład ekstraktów z kiełków rzodkiewki stwierdzono, że ekstrakt acetonowy zawierał więcej fenolokwasów, a ekstrakt metanolowy flawonoidów przy zbliżonej zawartości związków fenolowych ogółem (tab. 1).

T a b e l a 1

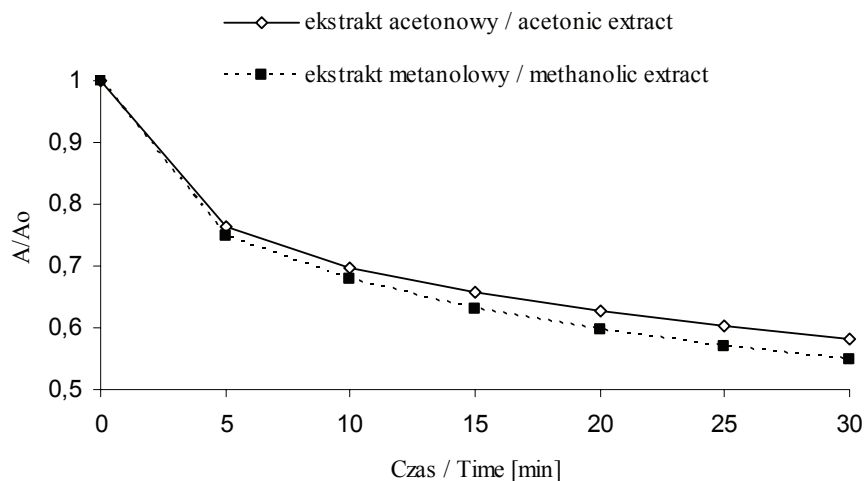
Zawartość związków fenolowych ogółem, flawonoidów i fenolokwasów w ekstraktach z kiełków rzodkiewki.

Total phenolics, flavonoids and phenolic acids content in the extracts from radish sprouts.

Próba Sample	Zawartość związków fenolowych ogółem Total phenolics content [mg/ml]	Zawartość flawonoidów Flavonoids content [μg/ml]	Zawartość fenolokwasów Phenolic acids content [μg/ml]
Ekstrakt acetonowy Acetonic extract	0,13	37,93	20,65
Ekstrakt metanolowy Methanolic extract	0,14	40,76	18,16

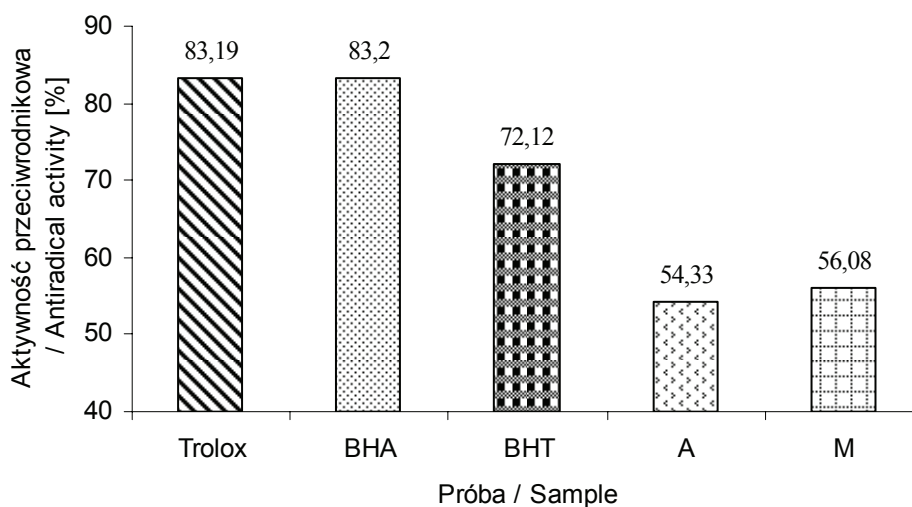
Utlenianie związków organicznych przebiega głównie z udziałem rodników alkilowych R° i nadtlenkowych RO_2° . Można je opóźnić poprzez przerwanie reakcji łańcuchowych, stosując akceptor wolnych rodników. Jeżeli głównym inicjatorem reakcji jest utworzony wodoronadtlenek $ROOH$, to proces utleniania można opóźnić przez wprowadzenie związków chemicznych zdolnych do rozkładu wodoronadtlenku bez tworzenia rodników. Wielofunkcyjne inhibitory reakcji utleniania mogą wykazywać wielokierunkowe działanie, uczestnicząc jednocześnie w różnych reakcjach hamowania. Podobnie może działać mieszanina inhibitorów [15]. Neutralizacja reaktywnych form tlenu i azotu, szczególnie wolnych rodników, jest jednym z głównych mechanizmów ochrony przeciwutleniającej, wykazywanych przez roślinne prozdrowotne związki fenolowe. W pracy porównano aktywność przeciwrodnikową badanych ekstraktów z aktywnością syntetycznych przeciwutleniaczy: Troloxu, BHT i BHA. Aktywność przeciwrodnikowa badanych ekstraktów była zbliżona i wzrastała wraz z upływem czasu inkubacji (rys. 1).

Skuteczność przeciwutleniająca zależy nie tylko od struktury związków czynnych, ale również od innych czynników, takich jak: stężenie, temperatura, światło, typ substratu i właściwości fizyczne układu oraz oddziaływania prooksydacyjne lub synergistyczne związków czynnych [13]. Być może indukowane przez obecność wody i temperaturę chemiczne reakcje mogą również zmieniać aktywność układu kompleksowego, jakim jest ekstrakt zawierający liczne związki o odmiennych właściwościach chemicznych i fizycznych. Porównując aktywność przeciwrodnikową ekstraktów z kiełków rzodkiewki i 3 mM roztworów syntetycznych przeciwutleniaczy stwierdzono, że badane próby wykazały niższą zdolność do neutralizacji wolnych rodników (rys. 2).



Rys. 1. Wpływ czasu inkubacji na aktywność przeciwrodnikową ekstraktów z kiełków rzodkiewki.

Fig. 1. Influence of incubation time on antiradical activity of extracts from radish sprouts.

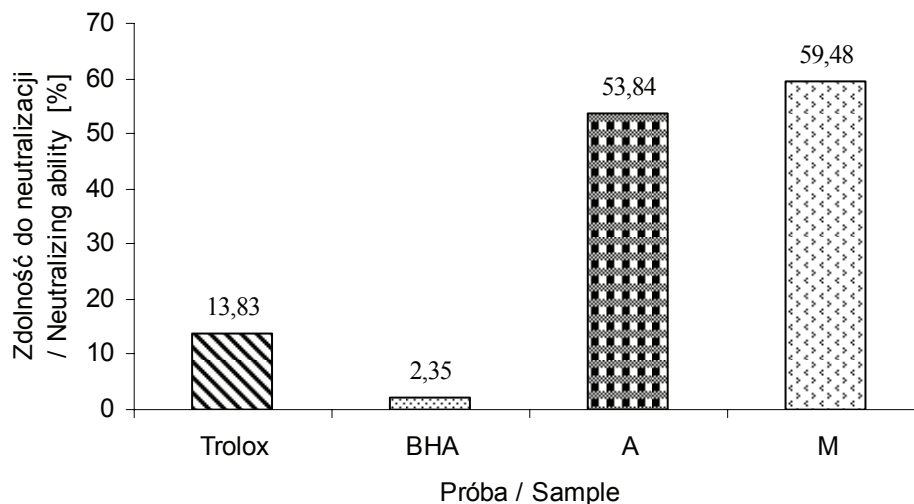


Rys. 2. Porównanie aktywności przeciwrodnikowej syntetycznych przeciwutleniaczy i ekstraktów z kiełków rzodkiewki (A – ekstrakt acetonowy, M – ekstrakt metanolowy).

Fig. 2. Comparison of the antiradical activity of synthetic antioxidants and radish sprouts extracts (A – acetonic extract, M – methanolic extract).

Ważnym aspektem ochrony przeciwutleniającej jest usuwanie H_2O_2 . Nadtlenek wodoru może być toksyczny dla komórek poprzez stymulowanie powstawania rodników hydroksylowych [7]. Badania zdolności do neutralizacji H_2O_2 przez związki fenolowe wyizolowane z kiełków rzodkiewki i roztwory syntetycznych przeciwutleniaczy

wykazały, że badane próby charakteryzowały się wysoką aktywnością, przy czym nieznacznie wyższą skuteczność wykazał ekstrakt metanolowy (rys. 3). Reakcja z BHT nie była możliwa w warunkach metody.



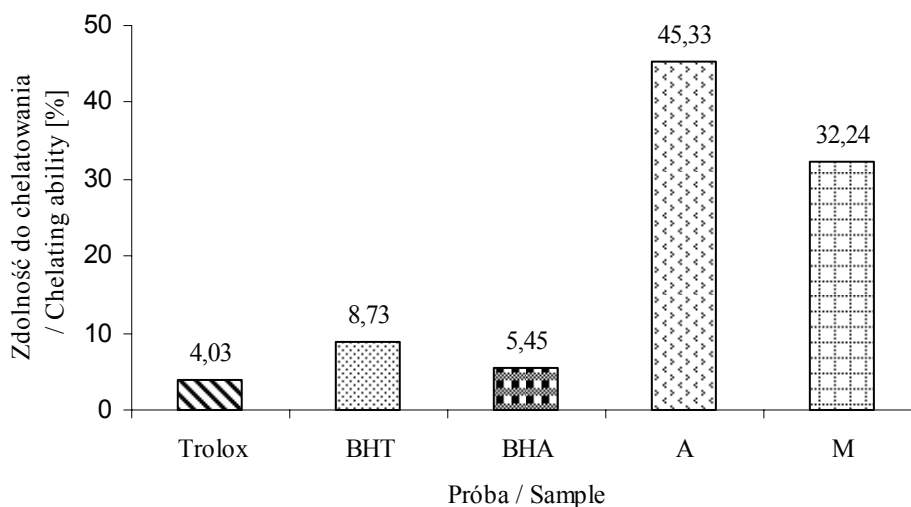
Rys. 3. Zdolność do neutralizacji H_2O_2 przez ekstrakty z kiełków rzodkiewki i roztwory syntetycznych przeciwutleniaczy (A-ekstrakt acetonowy, M – ekstrakt metanolowy).

Fig. 3. Ability to H_2O_2 scavenge by radish sprouts extracts and synthetic antioxidants solutions (A – acetic extract, M – methanolic extract).

Obecność jonów metali przejściowych odgrywa znaczącą rolę w katalizie procesów oksydacyjnych prowadzących do powstawania rodników hydroksylowych i peroksydowych podczas reakcji Fentona. Procesy te można opóźnić poprzez chelatowanie i deaktywację jonów żelaza. Ekstrakty z kiełków rzodkiewki charakteryzowały się zdecydowanie lepszymi właściwościami chelatującymi niż roztwory syntetycznych przeciwutleniaczy, przy czym wyższą zdolność do chelatowania jonów Fe (II) wykazywał ekstrakt acetonowy (rys. 4).

Poszukiwanie niedrogich, odnawialnych i zasobnych źródeł przeciwutleniaczy budzi zainteresowanie badaczy na całym świecie. Prowadzone są intensywne badania nad optymalizacją procesów ekstrakcji, poznaniem mechanizmów działania *in vivo* i asymilacji naturalnych związków przeciwutleniających. Ekstrakty z warzyw wykazują właściwości przeciwutleniające w pewnych przypadkach porównywalne z aktywnością przeciwutleniaczy syntetycznych. Według Moure [8], zastosowanie naturalnych przeciwutleniaczy jako dodatków do żywności może być korzystne mimo niższej aktywności w porównaniu z przeciwutleniaczami syntetycznymi. Istnieje wiele wiarygodnych danych o synergistycznym działaniu rozmaitych klas związków fenolowych. Rodriguez de Sotillo i wsp. [11] wykazali, że oksydację oleju słonecznikowego silniej hamował ekstrakt ze skórek ziemniaków niż roztwory syntetycznych, pojedynczych

związków. Synergizm pomiędzy różnymi klasami związków fenolowych czerwonego wina został opisany przez Ghiselli i wsp. [5]. Korzyści płynące z użycia mieszaniny związków o właściwościach przeciwutleniających zostały podsumowane przez Sherwina [12]. Stwierdził on, że stosowanie mieszanin pozwala na wzajemne uzupełnianie się różnorodnych mechanizmów działania poszczególnych przeciwutleniaczy, zminimalizowanie problemów metodycznych wynikających z różnej rozpuszczalności lub barwy wykazywanej przez pojedyncze związki, co pozwala także zwiększyć precyzję badań i uzyskiwać bardziej wiarygodne wyniki.



Rys. 4. Porównanie zdolności do chelatowania syntetycznych przeciwutleniaczy i ekstraktów z kiełków rzodkiewki (A – ekstrakt acetonowy, M – ekstrakt metanolowy).

Fig. 4. Comparison of the ability to chelating of synthetic antioxidants and radish sprouts extracts (A – acetonic extract, M – methanolic extract).

Wnioski

1. Nie stwierdzono wpływu rozpuszczalnika zastosowanego do ekstrakcji na zawartość związków fenolowych ogółem. Skuteczniejszym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji flawonoidów okazał się 50% metanol, natomiast 50% aceton w większym stopniu ekstrahował fenolokwasy.
2. Ekstrakty z kiełków rzodkiewki wykazywały znaczącą zdolność do neutralizacji wolnych rodników, jednak była ona istotnie niższa od aktywności syntetycznych przeciwutleniaczy. Nieznacznie wyższą aktywnością charakteryzował się ekstrakt metanolowy.
3. Ekstrakty z kiełków rzodkiewki skutecznie neutralizowały H_2O_2 , przy czym wyższą aktywnością charakteryzował się ekstrakt metanolowy. Aktywność badanych prób była znacznie wyższa niż aktywność syntetycznych przeciwutleniaczy.

4. Ekstrakt acetonowy wykazywał wyższą zdolność do chelatowania jonów Fe(II) niż ekstrakt metanolowy. Aktywność obydwu prób była zdecydowanie wyższa niż aktywność przeciwutleniaczy syntetycznych.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.


Literatura

- [1] Bahoron T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J-C., Pinkas M.: Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 1996, 46(II), **11**, 1086-1089.
- [2] Brand-Williams W., Cuvelier E., Berset C.M.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 1995, **28**, 25-30.
- [3] Covan. M.: Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Micr. Rev.*, 1999, 12, **4**, 564-582
- [4] Farmakopea Polska, t. V, P. T. Farm., Warszawa 1999.
- [5] Ghiselli A., Nardini M., Baldi A.: Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from Italian red wine. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 361-367.
- [6] Guo J-T., Lee H-L., Chiang S-H., Lin H-I., Chang C-Y.: Antioxidant properties of the extracts from different parts of broccoli in Taiwan. *J. Food Drug Anal.*, 2001, **9/2**, 96-101.
- [7] Halliwell B.: Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. *Am. J. Med.*, 1991, **91**, 14-22.
- [8] Moure A., Cruz J.M., Franco D.: Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem*, 2001, **72**, 145-171
- [9] Oktay, M., Gulcin I., Kufrevioglu I.: Determination of In vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Lebens.-Wiss. U.-Technol.*, 2003, **36**, 263-271.
- [10] Piesiewicz H., Mielcarz M.: Kielki w żywieniu człowieka. *Przegl. Piek. Cuk.* 2001, **3**, 10-14.
- [11] Rodriguez de Sotillo Rodriguez de Sotillo D., Hadley M., Holm E. T.: Potato peel waste, stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. *J. Food Sci.*, 1994, **59**, 1031-1033.
- [12] Sherwin E.R. Antioxidants. In A. L. Braner, P. M. Davidson and S. Salminen. *Food antioxidants*. New York: Marcel Dekker Inc. 1990.
- [13] Singh G., Marimuthu P., de Heluani C.S., Catalan C.: Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *J. Sci Food Agric.*, 2005, **85**, 2297-2306.
- [14] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Etnol. Vitic.* 1965, **16**, 144-158.
- [15] Szymusiak H., Badania efektywności wybranych przeciwutleniaczy występujących w produktach spożywczych. Praca habilitacyjna, Wyd. AE w Poznaniu, Poznań 2002.

**INFLUENCE OF EXTRACTION CONDITIONS ON ANTIOXIDANT ACTIVITY
OF EXTRACTS FROM RADISH SPROUTS**

S u m m a r y

Phenolic compounds were extracted from radish (*Raphanus sativus* L. cv. Lucynka) sprouts using 50% acetone and 50% methanol. Used solvents didn't have an influence on total phenolic compounds content. 50% MeOH was better solvent for flavonoids extraction. However when 50% acetone was used most of the phenolic acids were extracted. Radish sprouts extracts showed significant antiradical activity (54,33% for acetone extract and 56,08% for methanol extract), but this activity was significantly lower than those of synthetic antioxidants. Analyzed samples showed the ability to neutralize H₂O₂. Higher activity was obtained for methanolic extract (59,48%) then for acetone extract (53,84%). Acetone extract showed higher metal-chelating ability than methanol extract (45,33% and 32,24% respectively). In both cases activity of analyzed samples were higher than activity of synthetic antioxidants.

Key words: radish sprouts, phenolic compounds, antioxidant activity 

KATARZYNA CZACZYK, AGNIESZKA MARCINIAK, WOJCIECH BIAŁAS,
ANNA MUELLER, KAMIŁA MYSZKA

WPLYW CZYNNIKÓW ŚRODOWISKOWYCH NA BIOSYNTEZĘ LIPOPEPTYDÓW PRZEZ *BACILLUS* SPP.

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było ustalenie czy bakterie z rodzaju *Bacillus* są zdolne do syntezy lipopeptydów (surfaktina, iturina) i w jaki sposób warunki środowiskowe wpływają na produkcję tych związków. W badaniach użyto dziewięciu szczepów bakterii z rodzaju *Bacillus*. Badając wpływ poszczególnych czynników środowiskowych, warunki hodowli modyfikowano poprzez zmienną dostępność źródła azotu i węgla, pH, temperaturę oraz czas. Wydajność biosyntezy lipopeptydów oznaczano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Plan doświadczeń i analizę wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu komputerowego Design of Experiments.

W pierwszym etapie eksperymentów określono wydajność biosyntezy surfaktyny i ituriny w warunkach optymalnych. Wykazano, że badane szczepy *Bacillus* spp. charakteryzowały się zróżnicowanymi zdolnościami do biosyntezy wymienionych związków. Największą wydajność produkcji surfaktyny wykazał szczep *Bacillus cereus* (70,85 mg/l). Biosynteza ituriny kształtowała się na bardzo niskim poziomie (0,01 – 0,35 mg/l). W drugim etapie badań określono wpływ czynników środowiskowych na wydajność produkcji lipopeptydów. Obiektem badań były cztery szczepy bakterii z rodzaju *Bacillus*, najefektywniejsze pod względem produkcji lipopeptydów, dla których przeprowadzono hodowle w warunkach ustalonych na podstawie wybranego modelu planowania doświadczeń. Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono, że największy wpływ na biosyntezę surfaktyny przez badane szczepy miała dostępność źródła azotu, pH oraz interakcje pomiędzy pH podłoża hodowlanego i zawartością glukozy.

Słowa kluczowe: *Bacillus* spp., lipopeptydy, surfaktina, iturina

Wstęp

Drobnoustroje są zdolne do biosyntezy związków, które nie odgrywają istotnej roli w budowie ich struktur komórkowych, dostarczaniu energii czy prawidłowym funkcjonowaniu organizmu. Określane są one mianem metabolitów wtórnych (drugorzędowych), a ich obecność nie jest niezbędna do wzrostu i rozmnażania się mikroor-

Dr hab. K. Czaczyk, mgr inż. A. Marciniak, mgr inż. W. Białas, mgr A. Mueller, mgr inż. K. Myszka, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań

ganizmów [2]. Uważa się, że ich tworzenie poprawia możliwości przystosowawcze drobnoustrojów do danych warunków środowiska i jest alternatywnym mechanizmem obronnym komórki. Do metabolitów wtórnych wytwarzanych przez drobnoustroje należą m.in. związki powierzchniowo czynne (biosurfaktanty). Substancje te, adsorbując się na powierzchni komórki mogą istotnie wpływać na hydrofobowość powierzchni komórek ich producentów. Zdolności do wytwarzania biosurfaktantów mają m.in. bakterie z rodzaju *Bacillus* [1, 9]. Niektóre szczepy *Bacillus* spp. wytwarzają lipopeptydy (m.in. subtilizinę, surfaktinę, iturinę i fengycinę) o właściwościach powierzchniowo czynnych. Związki te zbudowane są z cyklicznego łańcucha peptydowego, w skład którego wchodzi różne aminokwasy powiązane z łańcuchem kwasu tłuszczowego [6]. Substancje te charakteryzują się amfifilową strukturą, tzn. mają regiony o naturze hydrofilowej (aminokwasy tworzące cykliczny peptyd) i regiony o naturze hydrofobowej (łańcuch węglowodorowy). Orientacja przestrzenna tych regionów zależy od hydrofilowego lub hydrofobowego charakteru powierzchni komórki bakteryjnej. Gdy powierzchnia komórki ma charakter hydrofilowy, cząsteczki lipopeptydów układają się w ten sposób, że cykliczny peptyd jako część polarna adsorbuje się na powierzchni, natomiast węglowodorowy łańcuch wystawiony jest do otaczającego środowiska. Odwrotnie jest w przypadku hydrofobowych właściwości powierzchni komórki, wówczas cykliczny peptyd jest wystawiony do otaczającego środowiska, podczas gdy węglowodorowy łańcuch adsorbuje się na powierzchni. Skutkiem tego, po adsorpcji lipopeptydów, hydrofilowe szczepy stają się bardziej hydrofobowe, a szczepy hydrofobowe stają się bardziej hydrofilowe [1].

Celem przeprowadzonych badań było ustalenie czy bakterie z rodzaju *Bacillus* są zdolne do syntezy lipopeptydów (surfaktyny, ituriny) i w jaki sposób warunki środowiskowe wpływają na produkcję tych związków.

Material i metody badań

Drobnoustroje

W badaniach użyto 9 szczepów bakterii z rodzaju *Bacillus*. *B. megaterium*, *B. subtilis* oraz *B. cereus* otrzymano z Instytutu Leków w Warszawie (obecnie Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego). Pozostałe szczepy pochodziły z kolekcji własnej Katedry Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu. *B. cagulans* 6, *B. circulans* 7 i *B. circulans* 8 zostały wyizolowane ze słomy łubinowej [13], *B. brevis*, *B. alcalophilus* i *B. firmus* pochodziły ze ściągów przemysłu spożywczego [14]. Przynależność gatunkową tych bakterii potwierdzono za pomocą testów API 50 CHB (BioMerieux).

Warunki hodowli

Doświadczenia prowadzono na podłożu stosowanym do namnażania i identyfikacji bakterii z rodzaju *Bacillus* [17], w warunkach dynamicznych (100 obr./min). Badając wpływ poszczególnych czynników środowiskowych warunki hodowli modyfikowano poprzez zmienną dostępność źródła azotu (pepton kazeinowy: 0, 10 i 20 g/l), zmienną dostępność źródła węgla (glukoza: 0, 5 i 10 g/l), zróżnicowane pH (5, 7, 9), temperaturę (30, 37 i 45°C) i czas (48 – 72 h). Jako optymalne warunki hodowli przyjęto podstawowy skład podłoża (10 g/l peptonu kazeinowego i 5 g/l glukozy), pH równe 7 i temperaturę 37°C.

Biosynteza związków powierzchniowo czynnych

Po zakończonej hodowli 50 ml płynnej hodowli *Bacillus* spp. odwirowywano przez 25 min (7000 g) w temp. 4°C w celu usunięcia komórek. Supernatant наносono na szczyt kolumny do ekstrakcji w fazie stałej (SEP-PAK, Bond Elut C₁₈, Agilent Technologies). Następnie kolumnę przemywano sukcesywnie przy użyciu 20 ml wody dejonizowanej oraz 40 ml 50% roztworu metanolu. Związki powierzchniowo czynne wmywano z kolumny za pomocą 20 ml metanolu. Eluat odparowywano w wyparce próżniowej i surowy ekstrakt zawieszano w 1ml fazy chromatograficznej przeznaczonej do oznaczania określonych związków.

Związki z grupy surfaktin oznaczano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej przy użyciu chromatografu cieczowego MERCK-HITACHI (zestaw obejmował: automatyczny podajnik prób MERCK-HITACHI L-7250, pompę MERCK-HITACHI L-7100, detektor DAD MERCK-HITACHI L-7455). Oznaczenia prowadzono przy długości fali 205 nm w temp. 30°C. Do oznaczeń zastosowano kolumnę ODS-Hypersil (200 mm x 4,6 mm, 5 µm, Hewlett-Packard). Przy oznaczaniu surfaktyny jako eluent stosowano acetonitryl/3,8 mM kwas trifluorooctowy (80:20), a ituriny – acetonitryl/10 mM octan amonu (3:4), przy przepływie 1 ml/min. Próby наносono na szczyt kolumny w ilości 50 µl. Identyfikacji jakościowej i ilościowej dokonano metodą standardu zewnętrznego (standard surfaktyna – SIGMA) z wykorzystaniem powierzchni pików [12].

Doświadczenia nad wpływem czynników środowiskowych na biosyntezę związków powierzchniowo czynnych przez *Bacillus* spp. prowadzono stosując program komputerowy Design of Experiments 6.02. firmy Stat-Easy z Minneapolis (USA). Do analizy statystycznej wykorzystano wartości kodowe zamiast wartości rzeczywistych badanych zmiennych, co znacznie ułatwiło interpretację otrzymanych wyników (tab. 1).

Tabela 1

Poziomy zmienności badanych czynników.
Variation levels of investigated factors.

Czynnik Factor	Wartości kodowe / Coded values		
	-1	0	1
	Wartości rzeczywiste / Actual values		
Temperatura / Temperature [°C]	30	37	45
Glukoza / Glucose [g/l]	0	5	10
Pepton / Peptone [g/l]	0	10	20
pH / pH	5	7	9
Czas / Time [h]	6	27	48

Wyniki i dyskusja

W pierwszym etapie eksperymentów określono wydajność biosyntezy surfaktyny i ituryny A w warunkach optymalnych. Wyniki tych doświadczeń przedstawiono w tab. 2. Badane szczepy *Bacillus* spp. charakteryzowały się zróżnicowanymi zdolnościami do biosyntezy tych związków. Największą wydajność produkcji surfaktyny wykazał szczep *B. cereus* (70,85 mg/l). Pod względem ilości syntetyzowanej surfaktyny wyróżniały się także szczepy *B. firmus* (43,28 mg/l), *B. circulans* 7 (34,22 mg/l) i *B. coagulans* 6 (21,23 mg/l). Wydajność biosyntezy ituryny A przez badane szczepy drobnoustrojów kształtowała się na bardzo niskim poziomie (od 0,01 do 0,35 mg/l), a największą produkcję obserwowano w przypadku *B. megaterium*.

Tabela 2

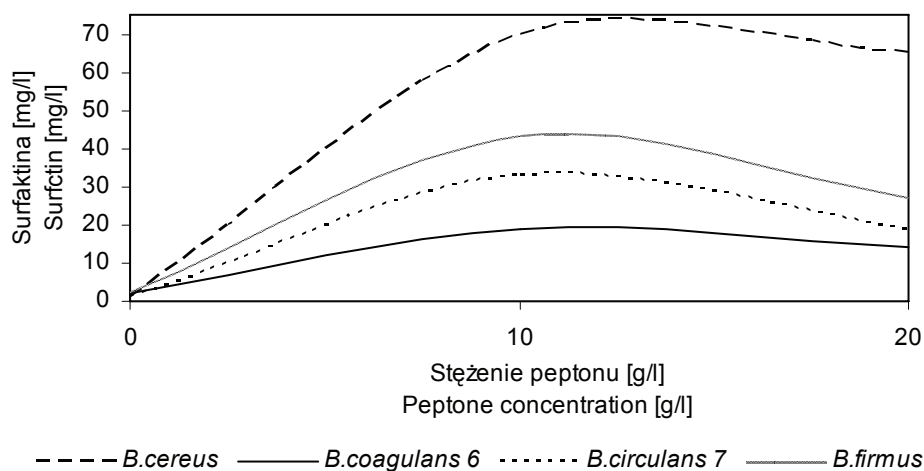
Biosynteza surfaktyny i ituryny A przez badane szczepy *Bacillus* spp.
Surfactin and iturin A biosynthesis by examined species of *Bacillus* spp.

Szczep Species	Surfaktyna [mg/l] Surfactin [mg/l]	Iturina A [mg/l] Iturin A [mg/L]
<i>B. megaterium</i>	7,795 ±1,212	0,351±0,020
<i>B. subtilis</i>	0,616 ±0,025	0,099±0,012
<i>B. cereus</i>	70,845±5,200	0,247±0,014
<i>B. coagulans</i> 6	21,231±1,811	0,138±0,009
<i>B. circulans</i> 7	34,216±2,112	0,128±0,008
<i>B. circulans</i> 8	0,306±0,012	0,014±0,002
<i>B. brevis</i>	0,126±0,010	0,222±0,019
<i>B. alcalophilus</i>	1,509±0,089	0,095±0,010
<i>B. firmus</i>	43,284±3,234	0,222±0,016

± - odchylenie standardowe/ ± - standard deviation.

W drugim etapie badań określono jaki wpływ na wydajność biosyntezy surfaktyny i ituriny A ma dostępność składników odżywczych i pH środowiska hodowlanego. Obiektem badań były 4 szczepy bakterii z rodzaju *Bacillus* (*B. cereus*, *B. firmus*, *B. circulans* 7 i *B. coagulans* 6), najefektywniejsze pod względem produkcji lipopetydów, na których przeprowadzono hodowle w warunkach ustalonych na podstawie wybranego modelu planowania doświadczeń. Zastosowanie metody powierzchni odpowiedzi dało możliwość określenia wpływu poszczególnych czynników środowiskowych warunkujących zmiany badanej cechy, jak i wzajemnych korelacji pomiędzy nimi.

Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono, że największy wpływ na biosyntezę surfaktyny przez *B. cereus* miała dostępność źródła azotu ($p = 0,0067$) oraz interakcja pomiędzy pH podłoża hodowlanego i zawartością glukozy ($p = 0,0143$). Wraz ze wzrostem stężenia peptonu w podłożu od 0 do 15 g/l obserwowano zwiększenie produkcji badanego związku, a następnie nieznaczny jego spadek (rys. 1). Podobne tendencje obserwowano w przypadku pozostałych trzech badanych szczepów *Bacillus* spp., dla których wraz ze zwiększeniem stężenia peptonu od 0 do 12 g/l następował wzrost wydajności biosyntezy tego związku, a następnie nieznaczne jego zmniejszenie (rys. 1).

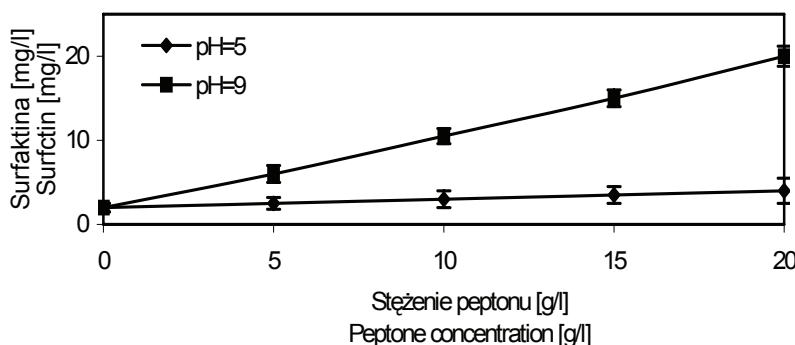


Rys. 1. Przekrój przez powierzchnię odpowiedzi dla *Bacillus* spp. (biosynteza surfaktyny).

Fig. 1. Perturbation plot for *Bacillus* spp. (surfactin biosynthesis).

Istotny wpływ na biosyntezę surfaktyny przez badane drobnoustroje miało także pH podłoża hodowlanego. W przypadku szczepów *B. coagulans* 6, *B. circulans* 7 i *B. firmus* wraz ze wzrostem stężenia peptonu w środowisku hodowlanym zwiększała się produkcja surfaktyny, przy czym w podłożu o pH = 5 wzrost ten był niewielki, a w pH = 9 obserwowano znaczący przyrost zawartości tego związku (rys. 2). Biosynteza surfaktyny warunkowana była również interakcjami pomiędzy pH podłoża hodowlanego

a zawartością glukozy ($p < 0,0001$). Dla żadnego z badanych szczepów nie stwierdzono istotnej statystycznie korelacji pomiędzy biosyntezą ituriny A, a składem podłoża hodowlanego.

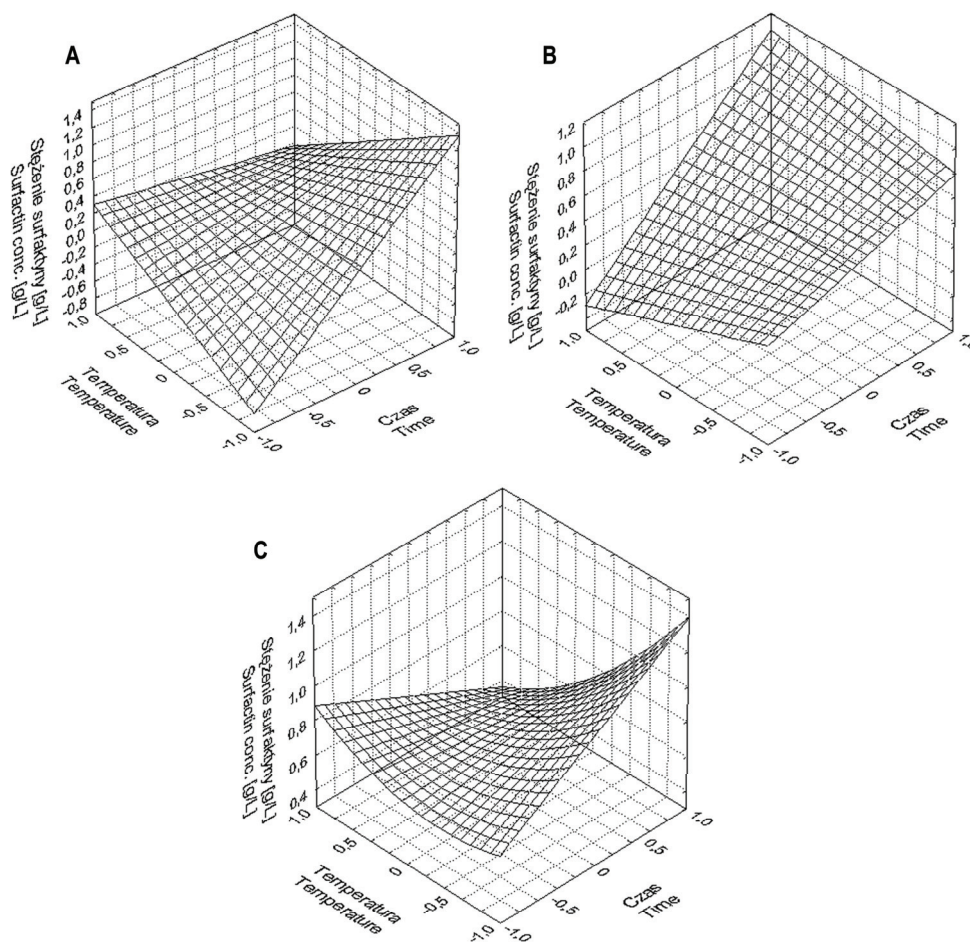


Rys. 2. Wpływ zawartości peptonu oraz pH podłoża na biosyntezę surfaktiny przez *B. coagulans* 6.

Fig. 2. The effect of peptone content and basis' pH on surfactin biosynthesis by *B. coagulans* 6.

W kolejnym etapie badań określono wpływ czynników środowiskowych (temperatura i czas) na wydajność biosyntezy surfaktiny i ituriny A przez badane szczepy *Bacillus* spp. Doświadczenia przeprowadzone z wykorzystaniem szczepu *B. cerues* nie wykazały statystycznie istotnych zależności pomiędzy produkcją tych związków a warunkami prowadzenia hodowli. W przypadku pozostałych badanych szczepów (*B. coagulans* 6, *B. circulans* 7 i *B. firmus*) wraz z wydłużaniem okresu prowadzenia hodowli obserwowano zwiększenie biosyntezy surfaktiny (rys. 3). Spośród badanych wartości temperatury najkorzystniejsza do uzyskania wysokiej wydajności surfaktiny była temp. 30°C. Wpływ na biosyntezę lipopeptydów miały także interakcje pomiędzy czasem a temperaturą prowadzenia hodowli. Dla żadnego z badanych szczepów nie stwierdzono istotnej statystycznie korelacji pomiędzy warunkami prowadzenia hodowli a biosyntezą ituriny A.

We wszystkich wariantach doświadczeń czynnikiem, który miał największy wpływ na wydajność biosyntezy surfaktiny było stężenie peptonu w podłożu hodowlanym. Jego optymalny dodatek wynosił 10-15 g/l. Wzrost dostępności azotu w środowisku hodowlanym wykorzystywany jest przez drobnoustroje na produkcję aminokwasów i białek powierzchniowych, które odpowiedzialne są za hydrofobowość powierzchni komórki [3, 11] i teoretycznie zależność ta wykazuje dodatnią korelację prostoliniową. Rezultaty uzyskane w tej pracy wskazują, że przy optymalnej dostępności źródła azotu w podłożu hodowlanym następuje intensyfikacja biosyntezy związków powierzchniowo czynnych i jest to czynnik, który może powodować obniżenie hydrofobowości powierzchni komórek *Bacillus* spp. w tych warunkach.



Rys. 3. Współzależność wydajności biosyntezy surfaktyny, temperatury i czasu prowadzenia hodowli *Bacillus* spp.: A – *B. coagulans* 6, B – *B. circulans* 7, C – *B. firmus* (czas i temperaturę prowadzenia hodowli wyrażono w wartościach kodowych).

Fig. 3. Relationship between surfactin biosynthesis, temperature and time of culture for *Bacillus* spp.: A – *B. coagulans* 6, B – *B. circulans* 7, C – *B. firmus* (time and temperature, respectively, were expressed by coded values).

Przedstawione wyniki, dotyczące wpływu odczynu środowiska hodowlanego na wzrost biosyntezy surfaktyny wskazują, że najkorzystniejsze do uzyskania wysokiej wydajności tego związku było pH = 9. Znaczący wpływ na biosyntezę związków powierzchniowo czynnych mają nie tylko poszczególne czynniki, ale również wzajemne interakcje pomiędzy nimi. Istotne statystycznie powiązania obserwowano pomiędzy odczynem środowiska hodowlanego a dostępnością źródła węgla i azotu w podłożu oraz między temperaturą a czasem prowadzenia hodowli. Produkcja związków po-

wierzchniowo czynnych przez drobnoustroje stanowiła przedmiot badań wielu autorów [1, 5, 7, 8, 10]. Wśród bakterii z rodzaju *Bacillus*, zdolnych do syntezy biosurfaktantów wymienia się *Bacillus megaterium*, *Bacillus circulans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* i *Bacillus pumilus* [1, 4, 6, 9, 10, 15].

Prowadzone w ostatnich latach badania nad zwiększeniem wydajności lipopeptydów, otrzymywanych na drodze mikrobiologicznej, obejmowały także modyfikacje składu podłoża. Wyniki wskazują, że istotną rolę w tym procesie odgrywa dostępność źródła azotu, wykorzystywanego przez bakterie jako materiał do biosyntezy lipopeptydów. Wykazano także, że biosyntezie surfaktyny przez *Bacillus* spp. sprzyja pH powyżej 5 i temp. 30°C [1, 16]. Potwierdzają to także wyniki uzyskane w niniejszej pracy, gdzie zaobserwowano, że podłożem odpowiednim do produkcji lipopeptydów było podłoże o wysokim stężeniu peptonu. W większości wariantów doświadczeń optymalną temperaturą do biosyntezy tych substancji była temp. 30°C. Wykazano także zwiększenie wydajności surfaktyny przez badane szczepy *Bacillus* spp. wraz ze wzrostem pH.

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki świadczą o tym, że skład podłoża i sposób prowadzenia hodowli mogą w istotny sposób wpływać na wydajność związków powierzchniowo czynnych, jakkolwiek ich tworzenie jest zawsze wypadkową warunków środowiskowych i cech gatunkowych. Uzyskane wyniki dają możliwość wyjaśnienia zależności między zmianami hydrofobowości powierzchni komórek *Bacillus* spp. w różnych warunkach środowiskowych, a adhezją tych drobnoustrojów do powierzchni abiotycznych.

Wnioski

1. Skład podłoża i warunki hodowli w istotny sposób wpływały na biosyntezę związków powierzchniowo czynnych przez bakterie z rodzaju *Bacillus* spp., jakkolwiek ich tworzenie jest zawsze wypadkową warunków środowiskowych i cech gatunkowych
2. Badane szczepy *Bacillus* spp. charakteryzowały się zróżnicowanymi zdolnościami do biosyntezy surfaktyny i ituriny A. Największą wydajność surfaktyny wykazywał szczep *B. cereus* (70,85 mg/l). Wydajność biosyntezy ituriny A kształtowała się na bardzo niskim poziomie (od 0,01 do 0,35 mg/l).
3. Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono, że największy wpływ na produkcję lipopeptydów miała obecność źródła azotu w podłożu hodowlanym, pH środowiska oraz interakcje pomiędzy zawartością glukozy a pH.
4. Obserwowano zwiększenie biosyntezy surfaktyny wraz z wydłużeniem okresu prowadzenia hodowli. Najbardziej korzystną temperaturą do uzyskania wysokiej wydajności biosyntezy surfaktyny było 30°C.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura

- [1] Ahimou F., Jacques P., Deleu M.: Surfactin and iturin A effects on *Bacillus subtilis* surface hydrophobicity. *Enzym. Microb. Technol.*, 2000, **27**, 749-754.
- [2] Bennett J. W., Bentley R.: What's in a name? – Microbial secondary metabolism. *Adv. Appl. Microbiol.*, 1989, **34**, 1-28.
- [3] Castellanos T., Ascenico F., Bashan Y.: Starvation-induced changes in the cell surface of *Azospirillum lipoferum*. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2000, **33**, 1-9.
- [4] Cooper D. G., Goldenberg B. G.: Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1987, **53**, 224-229.
- [5] Domańska A., Kisiełewska E.: Charakterystyka powierzchniowo czynnych metabolitów drobnoustrojów. *Post. Mikrobiol.*, 1996, **35** (4), 427-447.
- [6] Duitman E., Hamoen L., Rembold M., Venema G., Seitz H., Saenger W., Bernhard F., Reinhardt R., Schmidt M., Ullrich C., Stein T., Leenders F., Vater J.: The mycosubtilin synthetase of *Bacillus subtilis* ATCC 6633: a multifunctional hybrid between a peptide synthetase, an amino transferase, and a fatty acid synthase. *Poc. Natl. Acad. Sci.*, 1999, **96**(23), 13294-13299.
- [7] Lin S.C., Chen Y.C., Lin Y.M.: General approach for the development of high-performance liquid chromatography methods for biosurfactant analysis and purification. *J. Chrom. A*, 1998, **825**, 149-159.
- [8] Mazurkiewicz J.: Związki powierzchniowo czynne wytwarzane przez mikroorganizmy. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1996, **3** (8), 60-69.
- [9] Mazurkiewicz J., Kisiełewska E.: Poszukiwanie szczepów bakterii z rodzaju *Bacillus* produkujących związki powierzchniowo czynne. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1996, **1**(6), 51-60.
- [10] Razafindralambo H.: Contribution to the study of surface-active properties of *Bacillus subtilis* lipopeptides. 1996, <http://www.bib.fsagx.ac.be/library/base/eng/these/1996/raz.html>.
- [11] Sanin S.L., Sanin F.D., Bryers J.D.: Effect of starvation on the adhesive properties of xenobiotic degrading bacteria. *Proc. Biochem.*, 2003, **38**, 909-914.
- [12] Thomashow L.S., Bonsall R.F., Weller D.M.: Detection of antibiotics produced by soil and rhizosphere microbes *in situ*: examples of HPLC systems for antibiotics produced *in situ*. 2002, <http://www.wsu.edu/~mavrodi/Documents/Table2.pdf>
- [13] Trojanowska K., Gulewicz K., Stachowiak B.: Identification of bacterial strain isolated from lupine composts and their fungistatic activity. *Proc. Conference Lupine in Modern Agriculture*, Olsztyn-Kortowo 1997, pp. 257-263.
- [14] Trojanowska K., Sadowska K., Nowak J., Lasik M.: Charakterystyka mikroflory termofilnej występującej w ściekach przemysłu spożywczego. *Mat. XXXIII Sesji Nauk. KTChŻ PAN*, Lublin 2002, s.279.
- [15] Tsuge K., Ano T., Shoda M.: Isolation of a gene essential for biosynthesis of the lipopeptide antibiotics plipastatin B1 and surfactin in *Bacillus subtilis* YB8. *Arch. Microbiol.*, 1996, **165** (4), 243-251.
- [16] Wei Y.H., Chu I.M.: Enhancement of surfactin production in iron-enriched media by *Bacillus subtilis* ATCC 21332. *Enzyme Microb. Technol.*, 1998, **22**, 724-728.
- [17] Williams O.B.: Tryptone medium for the detection of flat sour spores. *Food Res*, 1936, **3**, 217-221.

THE EFFECT OF ENVIRONMENTAL FACTORS INFLUENCING LIPOPEPTIDE BIOSURFACTANTS BIOSYNTHESIS BY BACILLUS SPP.

S u m m a r y

The purpose of these investigations was to determine the effect of environmental factors (nutrient concentrations, temperature, pH and time of culture) on surfactin and iturin biosynthesis by *Bacillus* spp. The studies were carried out with nine *Bacillus* spp. strains (also isolated from natural environments). To compare the effect of each factor on surface-active compounds production, the experiments were designed as a factorial search with the three levels for each variable and response surface method was used. The ability to lipopeptide biosurfactants production by examined *Bacillus* spp. strains was investigated using HPLC technique. Experiment design and results analysis were done by DoE programme.

In the first step of experiments production of surfactin and iturin in optimal conditions was investigated. It has been shown that the yield of biosynthesis of lipopeptide biosurfactants by examined *Bacillus* spp. strains varied according to species of bacteria. The highest production of surfactin was observed for *Bacillus cereus* (70,85 mg/l). Iturin biosynthesis was very poor in these conditions (from 0,01 to 0,35 mg/l). In the second step of investigations an influence of environmental factors on lipopeptide biosurfactants was investigated. The target of this tests were of four different *Bacillus* spp. strains, the most effective towards to lipopeptide production for whom culturing was done in designed conditions according to DoE model. Conducted experiments indicate that availability of nitrogen source, pH, interactions between pH in culture medium and content of glucose, influenced the surfactin production in all used strains. Statistically significant correlations were also noted between examined factors.

Key words: *Bacillus* spp., lipopeptide, surfactin, iturin ☒

DANUTA WITKOWSKA, ANITA RYWIŃSKA, MICHAŁ PIEGZA

WYTWARZANIE FITAZ, CELULAZ I KSYLANAZ PRZEZ WYBRANE SZCZEPY GRZYBÓW STRZĘPKOWYCH

Streszczenie

W pracy przebadano dwanaście szczepów grzybów strzępkowych z rodzaju *Aspergillus*, *Trichoderma* i *Rhizopus* pod względem zdolności do biosyntezy fitaz oraz enzymów towarzyszących tj. celulaz i ksylanaz, w hodowlach wstrząsanych oraz SSF, w obecności zmielonej fasoli, skrobi kukurydzianej, rzepaku oraz mąki sojowej jako źródeł węgla.

Jedenaście szczepów było zdolnych do biosyntezy fitaz, wykazano jednak znaczne zróżnicowanie poziomu aktywności w zależności od źródła węgla w pożywce. Najefektywniejszym źródłem węgla do syntezy tych enzymów była zmielona fasola oraz skrobia kukurydziana. Największymi uzdolnieniami do biosyntezy fitaz charakteryzowały się szczepy *Aspergillus niger* 551 (34,56 nKat g⁻¹) oraz *Aspergillus cervinus* (31,85 nKat g⁻¹).

W hodowlach prowadzonych w systemie SSF na zmielonej fasoli z udziałem obu szczepów uzyskano zwiększenie aktywności właściwej fitaz w porównaniu z hodowlą wglębną.

Enzymy towarzyszące, tj. celulazy i ksylanazy, w tych warunkach hodowlanych wytwarzane były na niskim poziomie.

Słowa kluczowe: grzyby strzępkowe, fitazy, celulazy, ksylanazy, źródło węgla

Wstęp

W ostatnich latach, również w związku z pojawieniem się choroby Creutzfeldta-Jakoba, coraz częściej stosuje się pasze pozbawione białka zwierzęcego [20]. Tym samym znacznie wzrosło zainteresowanie drobnoustrojami, nie tylko jako producentami cennego białka mikrobiologicznego (SCP), ale również enzymów. Preparaty enzymatyczne różnego pochodzenia są szeroko stosowane w żywieniu zwierząt, szczególnie drobiu i trzody chlewnej, w celu pełniejszego wykorzystania składników pochodzenia roślinnego [3], w tym kwasu fitynowego i jego soli oraz polisacharydów nieskrobiowych. Szczególnie mikroorganizmy mają ogromny potencjał produkcyjny,

Prof. dr hab. D. Witkowska, dr inż. A. Rywińska, dr inż. M. Piegza, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. C.K. Norwida 25/27, 50-375 Wrocław

a modyfikacja warunków hodowlanych pozwala na sterowanie produktami ich biosyntezy. Płyn pochowolany może zawierać wiele enzymów takich, jak: fitazy, celulazy hemicelulazy, pektynazy, amylazy, inne białka oraz kwasy organiczne [2]. Taki produkt fermentacji będzie stanowić cenny suplement w żywieniu zwierząt, a kompleksowe działanie jego składników może znacznie zwiększać strawność i biodostępność roślinnych składników pasz [12]. Prace opisujące wielokierunkowe działania różnych zestawów enzymatycznych, w tym mikrobiologicznych, zawierających fitazy, ksylanazy, celulazy, kwaśną fosfatazę, pektynazy, α -amylazy, są wciąż aktualne. Dlatego uzasadnione jest rozszerzenie obszaru badań, w tym o poszukiwanie nowych szczepów i warunków hodowlanych, dotyczących biosyntezy fitaz, celulaz i ksylanaz.

Celem przedstawionej pracy była ocena zdolności grzybów strzępkowych do biosyntezy fitaz oraz ksylanaz i celulaz, w środowisku zawierającym zmieloną fasolę, skrobię kukurydzianą, rzepak oraz mąkę sojową jako źródło węgla.

Materiały i metody badań

Mikroorganizmy

Przedmiotem badań było dwanaście szczepów grzybów strzępkowych: *Aspergillus* sp. WIT., *Aspergillus niger* KB, *Aspergillus cervinus*, *Aspergillus niger* 551, *Aspergillus niger* 270, *Aspergillus niger* XP, *Aspergillus* sp. 1, *Aspergillus* sp. 2, *Aspergillus niger* SBP, *Trichoderma koningi*, *Rhizopus nigricans*, *Trichoderma harzianum* T-33, które przechowywano na skosach PDA w temp. 4°C i przeszczepiano raz w roku. Szczepy pochodziły z kolekcji własnej Katedry Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, jedynie *A. niger* XP pochodzi z Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu.

Podłoża

Zastosowano podłoże mineralne Saundersa (S) [21]. Jako źródło węgla stosowano: zmieloną fasolę, zmielone ziarno rzepaku, skrobię kukurydzianą oraz mąkę sojową. W hodowlach wstrząsanych podłoże zawierało 2% źródła węgla. Hodowle „solid state” zawierały 10 g odpowiedniego substratu, które sterylizowano dwukrotnie z dodatkiem 10 ml wody destylowanej, w temp. 121°C przez 20 min.

Warunki prowadzenia hodowli

Hodowle wstrząsane prowadzono w 250 ml kolbach Erlenmayera zawierających 50 ml podłoża S na wstrząsarce rotacyjnej typu Elpan przy 170 rpm, przez 8 dni, w temp. 30°C. Próby do analiz (~5 ml) wirowano przez 10 min przy 6434 g w wirówce typu MPW-30. Supernatant po przesączeniu służył do dalszych analiz.

Hodowle typu „solid state fermentation” (SSF) prowadzono również w kolbach Erlenmayera (10 g źródła węgla i 10 ml podłoża S), przez 10 dni, w temp. 24°C, okresowo wstrząsając.

Po 3, 5, 8, 10 dobach zawartość kolb z przerosniętym grzybnią podłożem ekstrahowano 0,05 M buforem octanowym (50 ml) przez wstrząsanie przy 160 rpm w ciągu 60 min. Tak otrzymaną zawiesinę poddawano wirowaniu w wirówce MPW-52 (10000 g przez 10 min), a następnie sączone. Uzyskany w ten sposób płyn pohodowlany poddawano dalszej analizie.

Inokulum każdorazowo stanowiła zawiesina zarodników (1 ml) uzyskana poprzez zmycie ze skosu 1% roztworem Tween 80. Gęstość zawiesiny wynosiła $2,5 \times 10^8$ zarodników w 1 ml.

Metody analityczne

Aktywność fitaz oznaczano wobec 1% roztworu soli sodowej kwasu fitynowego (0,1 g soli sodowej kwasu fitynowego + 5 ml wody destylowanej + 5 ml 0,05 M buforu octanowego o pH 5,0). Reakcję enzymatyczną prowadzono w enzymatycznie czystych próbkach przez 30 min w temp. 37°C. Mieszanina reakcyjna zawierała: w próbach właściwych 600 µl substratu, 200 µl roztworu badanego enzymu oraz 200 µl 25 mmol CaCl₂. Reakcję przerywano przez dodanie 1ml 5% roztworu kwasu trójchlo-rooctowego (TCA). W próbach kontrolnych roztwór enzymu wprowadzano po dodaniu TCA. Po zakończeniu reakcji enzymatycznej w próbach oznaczano zawartość uwolnionych fosforanów metodą Fiske-Subbarowa [7] wobec standardu zawierającego 80 µg ml⁻¹ fosforanu. Aktywności fitaz wyrażano jako ilość nmoli uwolnionych fosforanów w czasie 1 s w przeliczeniu na 1 g źródła węgla (nKat·g⁻¹) w podłożu oraz jako aktywność właściwą, w przeliczeniu na mg białek (nKat·mg⁻¹).

Aktywność celulaz (nKat·ml⁻¹) oznaczano wobec substratu – 1% roztworu karboksymetylocelulozy (30 min, temp. 50°C, pH 4,8) i wyrażano ilością cukrów redukujących (w przeliczeniu na glukozę), uwalnianych z substratu w ciągu 1 s przez 1 ml płynu pohodowlanego.

Aktywność ksylanaz (nKat·ml⁻¹) oznaczano wobec substratu – 1% roztworu ksy-lanu brzożowego (30 min, temp. 50°C, pH 4,8) i wyrażano ilością cukrów redukujących (w przeliczeniu na ksylozę), uwalnianych z substratu w ciągu 1 s przez 1 ml płynu pohodowlanego, nKat·ml⁻¹.

Zawartość cukrów redukujących oznaczano metodą z kwasem 3,5-dinitro-salicylowym (DNS) wg Millera [16].

Zawartość białka oznaczano kolorymetrycznie metodą Lowry'ego wobec krzywej wzorcowej, sporządzonej z krystalicznej albuminy z surowicy wołowej [14].

Wyniki i dyskusja

W pracy podjęto próbę oceny zdolności 12 szczepów grzybów strzępkowych (w tym 9 z rodzaju *Aspergillus*, 2 z rodzaju *Trichoderma* i 1 z rodzaju *Rhizopus*) do biosyntezy fitaz, w zależności od rodzaju źródła węgla w podłożu i sposobu hodowli (SSF oraz hodowla wstrząsana). Najefektywniejszym źródłem węgla, w kierunku syntezy fitaz, była zmielona fasola. Najwyższą aktywność, z zastosowaniem omawianego źródła węgla, uzyskano w przypadku dwóch, spośród dwunastu badanych szczepów tj. *Aspergillus niger* 551 oraz *Aspergillus cervinus*, odpowiednio 34,56 i 31,85 nKat·g⁻¹ (tab. 1). Według Friasa i wsp. [8] nasiona roślin strączkowych charakteryzują się dużą zawartością fitaz endogennych, stąd niektóre czynniki zawarte w tych nasionach mogą sprzyjać indukcji biosyntezy fitaz mikrobiologicznych.

W pracy wykazano, że te same szczepy wyróżniały się wysoką aktywnością fitaz, w przeliczeniu na 1 g substratu, również w podłożu ze skrobią kukurydzianą. Natomiast najwyższą aktywność właściwą w tym podłożu, 0,567 nKat·mg⁻¹, uzyskał szczep *A. niger* KB (tab.1). Dodatek skrobi w ilości 1% stosowali w swoich badaniach Purva i Banerjee [19]. Wyizolowany z odpadów rolniczych szczep *Aspergillus niger* var teigham w warunkach, które nie były optymalizowane, produkował fitazy o aktywności wynoszącej aż 83,33 nKat·ml⁻¹. Autorzy porównywali w swoich badaniach produkcję tych enzymów w podłożach zawierających cukry proste, glicerol oraz skrobię. Zdecydowanie najwyższą aktywność uzyskali w podłożu ze skrobią oraz skrobią łącznie z glukozą, ok. 110 nKat·ml⁻¹, podczas gdy w obecności cukrów prostych aktywność nie przekraczała 20 nKat·ml⁻¹, co świadczy o mocnej represji syntezy tych enzymów w obecności cukrów prostych. Skrobia jest często stosowanym źródłem węgla w procesie biosyntezy fitaz [9, 18, 19], najczęściej jednak w wyższym stężeniu od 4 do 8% [1, 4, 5, 10]. W badaniach Casey i Walsh [5], w podłożu zawierającym 8% skrobi szczep *Rhizopus oligosporus* ATCC 22959 uzyskał aktywność właściwą 1,08 nKat·mg⁻¹. Natomiast w przypadku *Aspergillus niger* ATCC9142 autorzy otrzymali znacznie wyższą aktywność, na poziomie 3,6 nKat·mg⁻¹ Casey i Walsh [4].

W przypadku hodowli z dodatkiem mąki sojowej, aktywność fitaz większości badanych szczepów była znacznie niższa, wyróżniały się jedynie szczepy *A. sp.* 2 oraz *T. koningi* (tab. 1). Prowadzi to do wniosku, że mąka sojowa nie jest dobrym źródłem węgla dla badanych szczepów w procesie syntezy omawianych enzymów w hodowlach wgłębnych. Substrat ten był jednak z powodzeniem wykorzystywany przez innych badaczy w hodowlach prowadzonych w systemie „solid state fermentation” [2, 6].

W niniejszej pracy, w hodowli wstrząsanej, w podłożu zawierającym w swoim składzie zmielone ziarno rzepaku, jako źródło węgla, najefektywniejszymi producentami fitaz okazały się szczepy *A. niger* 551 (11,04 nKat·g⁻¹) oraz *A. sp* WIT (10,21 nKat·g⁻¹) (tab. 1). Otrzymane wyniki można porównać jedynie z rezultatami uzyskanymi przez Bogar i wsp. [2], którzy jako źródło węgla w systemie SSF wykorzystali

mąkę z rzepaku odmiany Canola, otrzymane przez nich aktywności wynosiły od 5,73 do 6,31 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$.

Tabela 1

Produkcja fitaz przez różne szczepy grzybów strzępkowych po 8 dobie hodowli wgłębnej, w zależności od źródła węgla w pożywce [$\text{nKat}\cdot\text{ml}^{-1}$].

Phytase production by different strains of filamentous fungi after 8 days of submerged fermentation depending on carbon source in medium [$\text{nKat}\cdot\text{ml}^{-1}$].

Szczep Strain	Fasola Bean		Skrobia kukurydziana Corn starch		Rzepak Rape		Mąka sojowa Soybean meal	
<i>A. sp</i> WIT	1,90	0,037	0,41	0,013	10,21	0,324	5,60	0,067
<i>A. niger</i> KB	0,631	0,037	1,70	0,567	0,88	0,025	1,11	0,020
<i>A. cervinus</i>	31,85	0,411	18,2	0,248	2,69	0,031	3,97	0,027
<i>A. niger</i> 551	34,56	0,576	24,30	0,476	11,04	0,356	0,93	0,011
<i>A. niger</i> 270	5,00	0,175	1,49	0,067	3,7	0,106	1,35	0,039
<i>A. niger</i> XP	3,92	0,140	6,49	0,360	2,24	0,046	1,40	0,019
<i>A. sp.</i> 1	1,12	0,039	4,87	0,101	6,8	0,162	0,86	0,009
<i>A. sp.</i> 2	0,88	0,022	2,50	0,050	0,82	0,026	10,06	0,149
<i>A. niger</i> SBP	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. koningi</i>	4,91	0,192	3,04	0,083	7,43	0,008	9,91	0,134
<i>T. harzianum</i>	0,86	0,032	0,88	0,019	4,47	0,175	1,79	0,02
<i>R. nigricans</i>	7,37	0,368	9,56	0,342	5,35	0,535	1,93	0,038

Ponieważ w niniejszej pracy zmielona fasola była najlepszym źródłem węgla, szczególnie dla dwóch szczepów wykazujących najwyższą aktywność, przeprowadzono 10-dniowe hodowle w systemie SSF na tym substracie, chociaż w dostępnej literaturze brak jest danych na temat stosowania w takim procesie zmielonej fasoli (tab. 2).

Otrzymane wyniki nie są tak wysokie, jak podają inni autorzy, w przypadku zastosowania substratów takich, jak: otręby pszenne, mąka sojowa, mąka kukurydziana, zmielony rzepak (Canola meal) czy zmielone orzechy w przeliczeniu na 1 g substratu [2, 6, 15], jednak w przypadku obu analizowanych szczepów, czyli zarówno *A. niger* 551, jak i *A. cervinus*, w procesie SSF uzyskano znacznie wyższe wartości aktywności właściwej, odpowiednio 1,012 oraz 0,535 $\text{nKat}\cdot\text{mg}^{-1}$ (tab. 2), w porównaniu ze standardową hodowlą wstrząsaną (tab. 1).

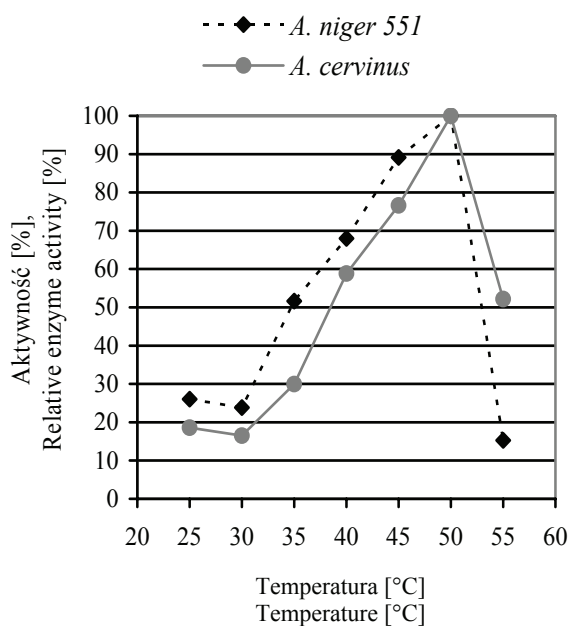
Na skalę przemysłową mikrobiologiczne fitazy produkowane są w hodowlach wgłębnych. Koszt produkcji tych enzymów jest nadal wysoki, co bardzo ogranicza możliwość ich stosowania w diecie zwierząt hodowlanych. Większość badań dotyczących produkcji fitaz w systemie SSF dotyczy doboru szczepu oraz warunków hodowlanych, takich jak: rodzaj substratu, wilgotność podłoża, temperatura, a nawet rodzaj

i wiek inokulum [2, 6, 11, 15]. Tymczasem system SSF może stać się obiecującą metodą w procesie wytwarzania – charakteryzującą się niskim kosztem przy wysokiej wydajności – enzymów czy też produktów wzbogacanych, takich jak biologiczne środki farmaceutyczne [17].

Tabela 2

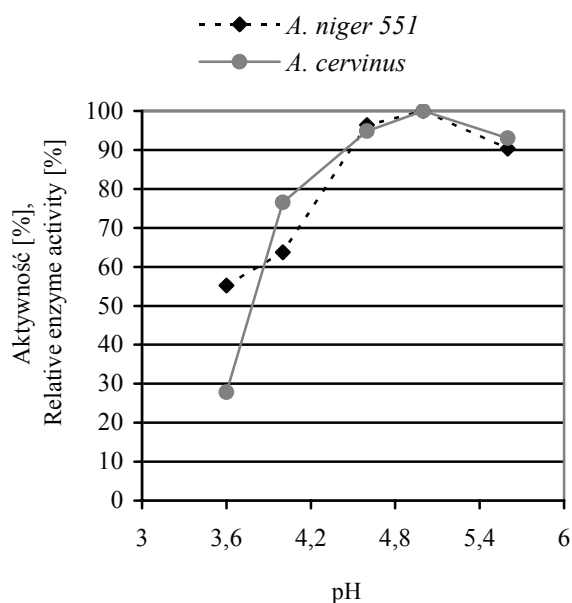
Produkcja fitaz przez szczep *A. cervinus* oraz *A. niger* 551 podczas hodowli „solid state” na fasoli.
Phytase production by *A. cervinus* and *A. niger* 551 strain during solid state fermentation on bean.

Szczep Strain	Aktywność fitaz / Phytase activity [nKat·ml ⁻¹]				
	Czas [doba] / Time [days]				
	3	5	8	10	
<i>A. cervinus</i>	4,5	6,07	8,52	10,02	0,535
<i>A. niger</i> 551	3,45	6,71	7,44	11,07	1,012

Rys. 1. Wpływ temperatury na aktywność fitaz szczepów *A. niger* 551 i *A. cervinus*.Fig. 1. Effect of temperature on the *A. niger* 551 and *A. cervinus* strains phytase activity.

Na przykładzie fitaz obu najefektywniejszych szczepów zbadano optymalne warunki działania tych enzymów. Oceniano wpływ temperatury w zakresie od 25 do 55°C (rys. 1) oraz pH w zakresie od 3,6 do 5,6 (rys. 2) na aktywność enzymatyczną. Fitazy syntetyzowane zarówno przez szczep *A. niger* 551, jak i *A. cervinus* wykazały najwyższą aktywność w temp. 50°C (rys. 1). Aktywność enzymatyczna szczepu *A. niger* 551

w temp. 45°C była niższa o około 10%, natomiast aktywność szczepu *A. cervinus* wynosiła w tych samych warunkach odpowiednio 76,6% maksymalnej aktywności. Podobnie Liu [13], jak i Shimizu [22] podają temp. 50°C jako optymalną dla fitaz produkowanych przez *A. ficuum* i *A. oryzae*.



Rys. 2. Wpływ pH na aktywność fitaz szczepów *A. niger 551* i *A. cervinus*.

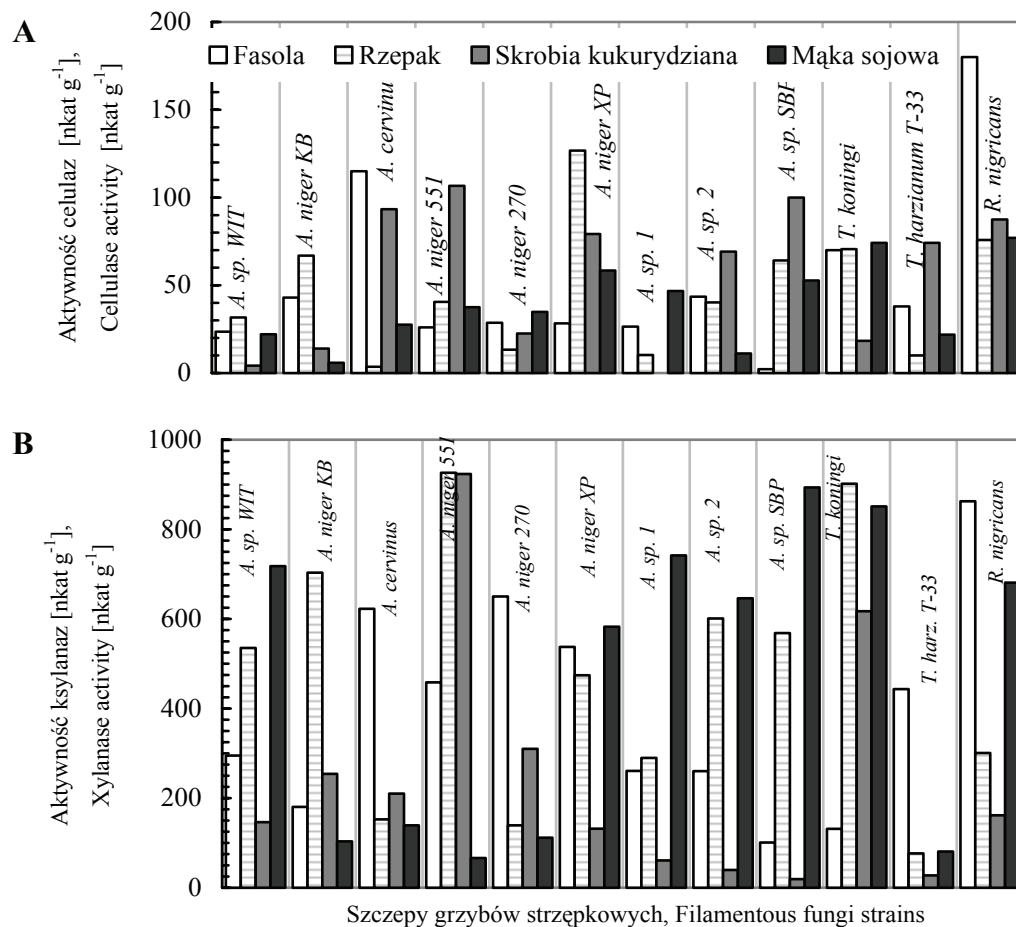
Fig. 2. Effect of pH on the *A. niger 551* and *A. cervinus* strains phytase activity.

W przypadku innych szczepów z rodzaju *Aspergillus* autorzy podają nieco wyższe wartości temperatury optymalnej, od 53 do nawet 70°C [13]. W niniejszej pracy wzrost temperatury powodował jednak znaczną redukcję aktywności, szczep *A. niger 551* w temp. 55°C zachował zaledwie 15,25%, a *A. cervinus* 52,15% maksymalnej aktywności.

Optymalne, do działania fitaz obu analizowanych szczepów, było pH równe 5,0 (rys. 2). Doświadczenia innych autorów wskazują, że fitazy produkowane przez grzyby z rodzaju *Aspergillus* wykazują maksymalną aktywność w przedziale pH od 4,0 do 5,5 [3, 6, 13, 15].

Enzymy są powszechnie stosowane w żywieniu zwierząt, szczególnie drobiu i trzody chlewnej, w celu lepszego wykorzystania składników roślinnych zawartych w paszach. Ksyłan, celuloza oraz β -glukan, określane jako polisacharydy nieskrobiowe (NSP), nie mogą być w pełni utylizowane przez monogastryczne zwierzęta. Dodatek preparatów enzymatycznych zawierających ksyłanazy, celulazy oraz β -glukanazy do paszy redukuje antyżywieniowy efekt NSP. Komercyjnie dostępne enzymy hydrolizu-

jące NSP są produkowane głównie metodą mikrobiologiczną przez szczepy grzybów z rodzaju *Trichoderma* oraz *Aspergillus*, a także bakterie z rodzaju *Bacillus* [12]. Najczęściej jednak płyn pochodzący zawiera mieszaninę enzymów hydrolitycznych. Jej właściwości biochemiczne są w dużym stopniu uzależnione od czasu oraz warunków hodowlanych, co jednocześnie może determinować określony jej skład.



Rys. 3. Produkcja celulaz (A) i ksylanaz (B) przez różne szczepy grzybów strzępkowych po 8. dobie hodowli węglanej w zależności od źródła węgla w pożywce.

Fig. 3. Cellulase (A) and xylanase (B) production by different strains of fungi after 8 day of submerged fermentation in dependence on carbon source in medium.

W celu szerszego rozpoznania zdolności enzymatycznej badanych szczepów, po 8. dobie hodowli wstrząsanej oznaczono aktywność enzymów towarzyszących tj. celulaz i ksylanaz, chociaż zastosowane źródła węgla w pożywce były dobre pod względem produkcji fitaz (rys. 3). Wykazano zróżnicowanie (5–180 nKat·g⁻¹) poziomu ak-

tywności celulaz w zależności od rodzaju źródła węgla w pożywce. I tak, np. szczepy *R. nigricans* i *A. cervinus* były najefektywniejsze w produkcji celulaz na podłożu ze zmieloną fasolą, a *A. niger* KB i *A. niger* XP na podłożu ze zmielonym rzepakiem. W innym przypadku (*A. niger* 551, *A. sp.* 2, *A. niger* SBP, czy *T. harzianum*) najbardziej sprzyjające było podłoże ze skrobią kukurydzianą (rys. 3A). W produkcji ksylanaz większość badanych szczepów preferowała mąkę sojową lub rzepak jako źródło węgla (rys. 3B). Szczep *A. niger* 551 ($926,3 \text{ nKat}\cdot\text{ml}^{-1}$) wyróżniał się, obok *T. koningi* i *A. sp* SBP jako producent ksylanaz (rys. 3B).

W obszernej literaturze dotyczącej biosyntezy ksylanaz i celulaz przez grzyby strzępkowe wartości aktywności są bardzo zróżnicowane, a najczęściej stosowane źródła węgla to odpady ligninocelulozowe lub celulozowe. W przedstawionej pracy oznaczenia aktywności celulaz i ksylanaz stanowiły element uzupełniający w produkcji fitaz.

Uzyskane wyniki pozwalają sądzić, że z udziałem obu wyselekcjonowanych szczepów (*A. niger* 551, *A. cervinus*), dopracowaniu warunków hodowlanych i zastosowaniu optymalnych warunków reakcji enzymatycznej, będzie można uzyskać wysokie wartości aktywności fitaz w systemie SSF, co pozwoli na opracowanie taniej technologii produkcji tych enzymów.

Wnioski

1. Najefektywniejszym źródłem węgla w kierunku syntezy fitaz była zmielona fasola - najwyższą aktywność uzyskano w przypadku dwóch, spośród dwunastu badanych szczepów, tj. *Aspergillus niger* 551 oraz *Aspergillus cervinus*, odpowiednio $34,56 \text{ nKat}\cdot\text{g}^{-1}$ i $31,85 \text{ nKat}\cdot\text{g}^{-1}$.
2. W procesie SSF uzyskano znaczne zwiększenie wartości aktywności właściwej fitaz, odpowiednio $1,012 \text{ nKat}\cdot\text{mg}^{-1}$ - *A. niger* 551 oraz $0,535 \text{ nKat}\cdot\text{mg}^{-1}$ - *A. cervinus*, w porównaniu ze standardową hodowlą wstrząsaną.
3. Poziom aktywności enzymów towarzyszących, takich jak celulazy, był bardzo zróżnicowany ($5 - 180 \text{ nKat}\cdot\text{g}^{-1}$) w zależności od rodzaju szczepu i źródła węgla w pożywce, natomiast w produkcji ksylanaz większość badanych szczepów preferowała mąkę sojową lub rzepak jako źródło węgla.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura

- [1] Ahmad T., Rasool Sh., Sarwar M., Hag A., Hasan Z.: Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. *Animal Feed Sci. Technol.*, 2000, **83**, 103-114.

- [2] Bogar B., Szakacs G., Linden J.C., Pandey A., Tengerdy R.P.: Optimization of phytase production by solid substrate fermentation. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2003, **30**, 183-189.
- [3] Brugger R., Simoes Nunes C., Hug D., Vogel K., Guggenbuhl P., Mascarello F., Augem S., Wyss M., van Loom A. P. G. M., Pasamontes L.: Characteristics of fungal phytases from *Aspergillus fumigatus* and *Sartorya fumigata*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2004, **63**, 383-389.
- [4] Casey A., Walsh G.: Purification and characterization of extracellular phytase from *Aspergillus niger* ATCC 9142. *Bioresource Technology*, 2003, **83**, 183-188.
- [5] Casey A., Walsh G.: Identification and characterization of a phytase of potential commercial interest. *J. Biotechnol.*, 2004, **110**, 313-322.
- [6] Chantasartrasamee K., Na Ayuthaya D.I., Intarareugsorn S., Dharmsthiti S.: Phytase activity from *Aspergillus oryzae* AK9 cultivated on solid state soybean meal medium. *Proc. Biochem.*, 2005, **40**, 2285-2289.
- [7] Fiske C.H., Subbarow Y.: The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 1925, **66**, 375.
- [8] Frias J., Doblado R., Antezana Jaime R.: Concepción Vidal-Valverde Inositol phosphate degradation by the action of phytase enzyme in legume seeds. *Food Chemistry*, 2003, **81**, 233-239.
- [9] Gargova S., Roshkova Z., Vancheva G.: Screening of fungi for phytase production. *Biotech. Lett.*, 1997, **11**, 221-224.
- [10] Gargova S., Sariyska M.: Effect of culture conditions on the biosynthesis of *Aspergillus niger* phytase and acid phosphatase. *Enzyme Microb. Technol.*, 2003, **32**, 231-235.
- [11] Kim D-S., Godber S., Kim H-R.: Culture conditions for a new phytase-producing fungus. *Biotechnology Letters*, 1999, **21**, 1077-1081.
- [12] König J., Grasser R., Pikor H., Vogel K.: Determination of xylanase, β -glucanase and cellulase activity. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, **374**, 80-87.
- [13] Liu B.L., Jong C.H., Tzeng Y.M.: Effect of immobilization on pH and thermal stability of *Aspergillus ficuum* phytase. *Enzyme and Microbial Technology*, 1999, vol. **25**, 6, 517-521.
- [14] Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L.: Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 1951, **193**, 265-275.
- [15] Mandviwala T.N., Khire J.M.: Production of high activity thermostable phytase from thermotolerant *Aspergillus niger* in solid state fermentation. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2000, **24**, 237-243.
- [16] Miller G.L.: Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.*, 1959, **31**, 426-428.
- [17] Pandey A., Szakacs G., Soccol C.R., Rodriguez-Leon J.A., Soccol V.T.: Production, purification and properties of microbial phytases. *Bioresource Technology*, 2001, **77**, 203-214.
- [18] Papagianni M., Nokes S.E., Filer K.: Production of phytase by *Aspergillus niger* in submerged and solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 1999, **35**, 397-402.
- [19] Purva V., Banerjee U.C.: Studies on the production of phytase by a newly isolated strain of *Aspergillus niger* var teigham obtained from rotten wood-logs. *Proc. Biochem.*, 2002, **38**, 211-217.
- [20] Rutkowski A., Frączak M., Wiąz M.: Zastosowanie preparatu enzymatycznego Avizyme 1500 w dietach kukurydziano-sojowych i kukurydziano-rzepakowych pozbawionych białka zwierzęcego w żywieniu kurcząt rzeźnych. *Annals of Warsaw, Agricultural University, Animal Science*, 2001, 260-266.
- [21] Saunders P.R. Siu R.G.H. Genett R.N., A.: cellulolytic enzyme preparation from *Myrothecium verucaria*. *J. Biol. Chem.*, 1948, **174**, 697-708.
- [22] Shimizu M.: Purification and characterization of phytase and acid phosphatase produced by *Aspergillus oryzae* K1. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1993, **57**, 1364-1365.

PRODUCTION OF PHYTASES, CELLULASES AND XYLANASES BY SELECTED FILAMENTOUS FUNGI**S u m m a r y**

Capability of twelve moulds strain represented three different species: *Aspergillus*, *Trichoderma* and *Rhizopus* to biosynthesis of phytase and cellulase and xylanase as society enzymes in shaking cultures and SSF in present of milled been, corn starch, rape-seed and soy-flour, as a carbon source.

Eleven strains was able to phytase biosynthesis, by there was a very intensive differences in enzyme activity, common with carbon source in medium. Milled been was the most effective to produce this enzymes, but also corn starch. The highest activity we observed for *Aspergillus niger* 551 (34,56 nKat·g⁻¹) and *Aspergillus cervinus* (31,85 nKat·g⁻¹). In SSF cultures on milled been the biosynthesis of phytase was much more effective that previously culture.

Society enzymes, such as cellulase and xylanase in proposal media were biosynthesing on very low level.

Key words: filamentous fungi, phytase, cellulase, xylanase, carbon source ☒

PIOTR JANAS, ZDZISŁAW TARGOŃSKI

**WPLYW ŹRÓDŁA WĘGLA I AZOTU NA PRODUKCJĘ KSANTANU
I ENZYMÓW ZEWNĄTRZKOMÓRKOWYCH PRZEZ
PENICYLINOOPORNEGO MUTANTA
*XANTHOMONAS CAMPESTRIS***

Streszczenie

Zbadano wpływ źródła węgla i azotu na produkcję ksantanu i enzymów zewnątrzkomórkowych przez penicylinoopornego mutantu *Xanthomonas campestris*. Dobrymi źródłami węgla do produkcji ksantanu były maltodekstryny, sacharoza, glukoza, celobioza, inulina i maltoza. Najwyższe stężenia ksantanu uzyskano po hodowlach w obecności 3% dodatku maltodekstryn i sacharozy. W hodowlach tych oznaczono też wysokie aktywności enzymów zewnątrzkomórkowych (inulinazy, inwertazy, α -amylazy). Najlepszymi źródłami azotu do produkcji ksantanu przez *X. campestris* PPJ4 były: siarczan(VI) amonu i mocznik.

Słowa kluczowe: *Xanthomonas campestris*, ksantan, źródło węgla, źródło azotu, enzymy zewnątrzkomórkowe

Wstęp

Dzięki swoim właściwościom liczne polisacharydy występujące w przyrodzie znalazły szerokie zastosowanie w działalności człowieka. Związki te pozyskiwane są na dużą skalę z surowców roślinnych. Obecnie dużym zainteresowaniem cieszą się też polisacharydy pochodzenia mikrobiologicznego, takie jak ksantan, dekstran czy pululan. Atrakcyjność tych substancji wynika z faktu, że ich wytwarzanie i dostępność nie zależą od warunków zewnętrznych, jak pogoda czy położenie geograficzne.

Badania przeprowadzone w latach 60. XX w. w USA wykazały, że bakterie *Xanthomonas campestris* wyizolowane z kapusty wytwarzają zewnątrzkomórkowy polisacharyd o wyjątkowych właściwościach reologicznych – ksantan, który dzisiaj jest najważniejszym polisacharydem pochodzenia mikrobiologicznego otrzymywanym na skalę przemysłową [15]. Szacuje się, że roczna światowa produkcja gumy ksantanowej

Dr P. Janas, prof. dr hab. Z. Targoński, Katedra Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Akademia Rolnicza, ul. Skromna 8, 20-950 Lublin

wynosi około 25000 ton, a popyt na ten polisacharyd na świecie wzrasta o 5–10% rocznie.

Na skalę przemysłową ksantan produkowany jest na drodze tlenowej fermentacji substratu węglowodanowego, który najczęściej stanowią: glukoza, sacharoza, melasa, skrobia oraz jej kwasowe i enzymatyczne hydrolizaty. Podstawowym szczepem produkcyjnym jest obecnie *Xanthomonas campestris* NRRL B1459, który w warunkach przemysłowych wytwarza około 12 g/dm³ ksantanu. Prowadzone są też liczne badania mające na celu zwiększenie ilości wytwarzanego przez bakterie ksantanu, poprawę jego jakości oraz obniżenie kosztów produkcji. Cele te realizowane są poprzez otrzymywanie i izolację nowych wysokoprodukcyjnych szczepów bakterii, jak też optymalizację warunków hodowli np. poprzez zastosowanie nowych alternatywnych źródeł węgla. Już w 1977 r. Kidby i wsp. [5] stwierdzili że wysoko produkcyjne dzikie szczepy *Xanthomonas campestris* cechuje wrażliwość na niektóre antybiotyki. Natomiast pierwsze mutanty odporne na bacytracynę oraz rifampicynę i charakteryzujące się zwiększonymi zdolnościami do produkcji ksantanu otrzymano w latach 80. [7]. U wysoko produkcyjnych mutantów *X. campestris* stwierdzono ponadto zależność między opornością na antybiotyki a zmianami zawartości białek błony komórkowej [10].

Celem przeprowadzonych badań był dobór optymalnego źródła węgla i azotu do produkcji ksantanu i enzymów zewnątrzkomórkowych przez penicylioopornego mutantu *Xanthomonas campestris* PPJ4, otrzymanego po mutagenizacji promieniami UV szczepu *X. campestris* NRRL B-1459

Material i metody badań

Mikroorganizm

Do doświadczeń użyto penicylioopornego mutantu *Xanthomonas campestris* PPJ4 wyizolowanego po mutagenizacji promieniowaniem UV szczepu *Xanthomonas campestris* NRRL B1459 i selekcji na podłożu z dodatkiem penicyliny. Bakterie przechowywano na skosach z podłożem YM o składzie [g/dm³]: glukoza 20, ekstrakt drożdżowy 3, pepton mięśny 5, ekstrakt maltozowy 3, agar 20. Odczyn podłoża doprowadzano do wartości pH 7 przy użyciu 25% roztworu NaOH. Po inkubacji w temp. 30°C przez 72 godz. i wzroście bakterii skosy przechowywano w temp. 4°C. Bakterie przeszczepiano co miesiąc na nowe skosy.

Warunki hodowli

Hodowle bakterii prowadzono w kolbach Erlenmeyera o pojemności 500 cm³ wypełnionych 100 cm³ podłoża, wg Roseiro i wsp.[12], o składzie [g/dm³]: źródło węgla (30), źródło azotu (3,4), H₃BO₃ (0,0072), FeCl₃×6H₂O (0,0042), K₂PO₄ (7,2), CaCO₃ (0,029), MgSO₄×7H₂O (0,24), ZnSO₄×7H₂O (0,006), kwas cytrynowy

(2,0), ekstrakt drożdżowy (0,75), pepton mięsny (0,34). W poszczególnych hodowlach zmieniano jednocześnie tylko źródło węgla lub azotu. W pierwszej części doświadczenia w charakterze źródła azotu stosowano $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ($3,4 \text{ g/dm}^3$), natomiast zmieniano rodzaj źródła węgla, które stanowiły: glukoza, sacharoza, maltoza, celobioza, laktoza, karboksymetyloceluloza, fruktoza, maltodekstryny, sorboza, inulina, kwas laktobionowy, ksyloza, ksylan, chityna oraz zmielone bulwy topinamburu (30 g/dm^3).

W drugiej części doświadczenia stałym składnikiem podłoża była glukoza (30 g/dm^3), natomiast zmieniano rodzaj źródła azotu, które stanowiły: siarczan amonowy, fosforan dwuamonowy, fosforan jednoamonowy, chlorek amonu, fluorek amonu, azotan amonu, mocznik, namok kukurydziany ($3,4 \text{ g/dm}^3$).

Wyjściowe pH podłoża ustalano na poziomie pH 7 za pomocą 20% roztworu wodorotlenku sodowego. Kolby z podłożem sterylizowano w autoklawie w temp. 110°C w ciągu 30 min. Po ochłodzeniu kolb z podłożem szczepiono je otrzymanym wcześniej inokulum. Inokulum przygotowywano przez przeniesienie sterylną eżą ze skosów z podłożem YM komórek mutanta *X. campestris* PPJ4 do kolb zawierających podłoże o składzie identycznym z podłożem hodowlanym z dodatkiem 3% glukozy jako źródła węgla. Prowadzono hodowlę mutanta przez 72 godz. na wytrząsarce rotacyjnej (150 obr./min) w temp. 30°C ; 8 cm^3 zawiesiny komórkowej *X. campestris* PPJ4 przenoszono do kolb z podłożem hodowlanym. Kolby umieszczano w temp 30°C na wytrząsarce rotacyjnej, ustawiając obroty na 150 obr./min . Hodowlę prowadzono przez 72 godz. Po tym czasie pobierano próby do analiz.

Precypitacja i oznaczanie stężenia ksantanu

Odwirowane ciecze pohodowlane poddawano precypitacji czystym alkoholem etylowym w stosunku 1:2, w obecności 1% KCl. Roztwory były mieszane przez 2 godz. przy użyciu mieszadła mechanicznego. Następnie pozostawiano je na 12 godz. w temp. pokojowej. Wytrącony ksantan sączono przez wcześniej zważoną tkaninę filtracyjną Mirocloth (Calbiochem – Szwajcaria). Oddzielony na tkaninie filtracyjnej ksantan suszono w temp. 80°C przez 4 godz.

Oznaczanie suchej masy komórek

Ciecze pohodowlane wirowano przy $20000 \times g$ przez 30 min. Odwirowaną biomasę przenoszono ilościowo na wcześniej zważone sączki filtracyjne i przemywano niewielką ilością wody destylowanej. Sączki z biomasą suszono w temp. 110°C do uzyskania stałej masy.

Oznaczanie aktywności enzymatycznych

W celu oznaczania aktywności α -amylazy sporządzano 1% roztwór skrobi w $22,5 \text{ mM}$ buforze fosforanowym o pH 7,2. Do $0,8 \text{ cm}^3$ roztworu skrobi dodawano $0,2 \text{ cm}^3$ płynu pohodowlanego i inkubowano przez 1 godz. w temp. 37°C . Ilość uwolnionych

cukrów redukujących oznaczano metodą kolorymetryczną przy użyciu odczynnika zawierającego kwas 3,5-dwunitrosalicylowy (DNS) po pomiarze absorpcji próby wobec odczynnikowej próby kontrolnej. Za jednostkę aktywności α -amylazy przyjęto taką ilość enzymu, która uwalnia 1 μmol cukrów redukujących w ciągu 1 min w warunkach reakcji.

Do oznaczania aktywności inwertazy sporządzano 3,4% roztwór sacharozy w 0,1 M buforze Mc Ilwaine'a o pH 6. Do 0,5 cm^3 roztworu sacharozy dodawano 0,5 cm^3 płynu pohodowlanego i inkubowano przez 30 min. w temp 55°C. Ilość uwolnionych cukrów redukujących oznaczano metodą kolorymetryczną przy użyciu odczynnika zawierającego kwas 3,5-dwunitrosalicylowy (DNS) po pomiarze absorpcji próby wobec odczynnikowej próby kontrolnej. Za jednostkę aktywności inwertazy przyjęto taką ilość enzymu, która uwalnia 1 μmol cukrów redukujących w ciągu 1 min w warunkach reakcji.

W celu oznaczenia aktywności inulinazy sporządzano 2% roztwór inuliny w 0,1 M buforze fosforanowym o pH 7. Do 0,8 cm^3 roztworu inuliny dodawano 0,2 cm^3 płynu pohodowlanego i inkubowano przez 1 godz. w temp 45°C. Ilość uwolnionych cukrów redukujących oznaczano metodą kolorymetryczną przy użyciu odczynnika zawierającego kwas 3,5-dwunitrosalicylowy (DNS) po pomiarze absorpcji próby wobec kontroli odczynnikowej. Za jednostkę aktywności inulinazy przyjęto taką ilość enzymu, która uwalnia 1 μmol cukrów redukujących w ciągu 1 min w warunkach reakcji.

Do oznaczania aktywności β -galaktozydazy sporządzano 0,01 M roztwór β -o-nitrofenylogalaktozydu (β -nifegalu). Do 0,5 cm^3 roztworu β -nifegalu dodawano 3,5 cm^3 0,1 M buforu Z (bufor fosforanowy z 1% dodatkiem KCl) o pH 7 i 1 cm^3 filtratu pohodowlanego i inkubowano przez 30 min w temp. 30°C. Reakcję przerywano przez dodatek do mieszaniny reagującej 1 cm^3 1 M roztworu węgla sodu. Następnie dodawano 10 cm^3 wody destylowanej. Pomiaru ekstynkcji dokonywano przy długości fali 420 nm wobec próby odczynnikowej. Za jednostkę aktywności enzymu przyjęto zmianę ekstynkcji mieszaniny reagującej w ciągu 1 min w 1 cm^3 filtratu pohodowlanego.

Wyniki i dyskusja

Najwyższe stężenie ksantanu oznaczono w filtratach po hodowlach na podłożach zawierających jako źródło węgla: maltodekstryny (25,48 g/dm^3), sacharozę (23,73 g/dm^3), glukozę (21,32 g/dm^3), celobiozę (20,00 g/dm^3), maltozę (15,33 g/dm^3), inulinę (16,66 g/dm^3) oraz topinambur (9,6 g/dm^3) (tab. 1).

Stwierdzono, że źródłem węgla najbardziej stymulująco wpływającym na efektywny wzrost komórek bakterii był kwas laktobionowy (4,208 g/dm^3) i sacharoza (1,6 g/cm^3). Wykorzystując ten pierwszy substrat otrzymano jednak niskie stężenia ksantanu (4,73 g/dm^3). W przypadku sacharozy wysoki plon biomasy był skorelowany z ilością otrzymanego ksantanu.

Tabela 1

Stężenia ksantanu oraz plony biomasy otrzymane po hodowli *Xanthomonas campestris* PPJ4 na podłożach zawierających różne źródła węgla.

Concentration of xanthan gum and biomass obtained after cultivation of *Xanthomonas campestris* PPJ 4 on the medium containing different source of carbon.

Źródło węgla Source of carbon	Stężenie ksantanu [g/dm ³] Concentration of xanthan gum [g/dm ³]	Plon biomasy [g/dm ³] Biomass [g/dm ³]
Glukoza Glucose	21,32	0,667
Sacharoza Sucrose	23,73	1,6
Maltoza Maltose	15,33	0,85
Celobioza Celbiose	20,00	0,65
Laktoza Lactose	7,80	0,04
Fruktoza Fructose	9,00	0,24
Maltodekstryny Maltodextrin	25,48	0,12
Sorboza Sorbose	5,00	0,04
Inulina Inulin	16,66	0,16
Kwas laktobionowy Lactobionic acid	4,73	4,208
Ksyloza Xylose	8,26	0,459
Chityna Chitin	3,93	1,467
Topinambur Yerusalem artichoke	9,75	0,07

Stosunkowo dużą koncentracją biomasy (0,85 g/dm³) charakteryzował się płyn z hodowli, w której źródłem węgla była maltoza. Najniższy plon biomasy (0,04 g/dm³) oznaczono po hodowli na podłożu zawierającym laktozę jako źródło węgla. Najwyższą aktywnością inulinazy (tab. 2) charakteryzowały się filtry otrzymane po hodowli z wykorzystaniem ksylozy (0,6318 μmol/cm³×min), sorbozy (0,3729 μmol/dm³×min), topinamburu (0,2060 μmol/cm³×min), maltodekstryn (0,1275 μmol/cm³×min) oraz

fruktozy ($0,1263 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$) jako źródeł węgla. Stwierdzono natomiast niską aktywność inulinazy ($0,0555 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$) w filtracie otrzymanym po hodowli w obecności inuliny.

Najwyższe aktywności inwertazy oznaczono w filtratach otrzymanych po hodowlach w obecności maltodekstryn ($0,391 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$), celobiozy ($0,2243 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$) oraz sacharozy ($0,2032 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$). W filtratach otrzymanych po pozostałych hodowlach aktywności tego enzymu były niskie (tab. 2).

Najwyższą aktywność α -amylazy stwierdzono w filtratach po hodowlach na maltodekstrynach ($2,4087 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$), ksylozie ($1,7263 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$), celobiozie ($1,1585 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$) oraz fruktozie ($1,0211 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$). Najniższą aktywnością α -amylazy charakteryzowały się filtry z hodowli prowadzonych z wykorzystaniem glukozy ($0,0841 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$) i kwasu laktobionowego ($0,088 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$) jako źródeł węgla. W pozostałych filtratach pochodzących aktywność α -amylazy była zbliżona i wahała się w granicach od $0,1781 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$ w przypadku sorbozy do $0,2891 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$ - laktozy (tab. 2).

Najwyższą aktywnością β -galaktozydazy charakteryzowały się filtry z hodowli w obecności maltodekstryn ($0,01687 \text{ U}/\text{cm}^3$), inuliny ($0,01413 \text{ U}/\text{cm}^3$) i sacharozy ($0,01347 \text{ U}/\text{cm}^3$). Najniższą aktywność tego enzymu stwierdzono w filtracie otrzymanym z hodowli prowadzonej na kwasie laktobionowym ($0,00077 \text{ U}/\text{cm}^3$). Niską aktywność β -galaktozydazy ($0,001567 \text{ U}/\text{cm}^3$) oznaczono też w filtracie z hodowli w obecności laktozy jako źródła węgla (tab. 2).

Kolejnym etapem pracy było zbadanie wpływu źródła azotu na produkcję ksantanu i enzymów przez *Xanthomonas campestris* PPJ4. W doświadczeniu tym hodowle prowadzono przy zastosowaniu różnych źródeł azotu i w obecności jednego źródła węgla, którym była glukoza (tab. 3 i 4).

W porównaniu ze stężeniem ksantanu ($21,32 \text{ g}/\text{dm}^3$) otrzymanym po hodowli z zastosowaniem $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ żadne inne źródło azotu nie spowodowało wzrostu produkcji ksantanu przez szczep *Xanthomonas campestris* PPJ4. Zbliżone stężenie ksantanu ($21,47 \text{ g}/\text{dm}^3$) oznaczono tylko po hodowli z zastosowaniem mocznika jako źródła azotu. Najniższe stężenie ksantanu ($10,33 \text{ g}/\text{dm}^3$) stwierdzono w filtratach po hodowli z zastosowaniem NH_4F (tab. 3).

Najwyższy plon biomasy ($0,667 \text{ g}/\text{dm}^3$) oznaczono po hodowli w obecności $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ jako źródła azotu. Po zastosowaniu NH_4NO_3 i $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ uzyskano o $0,2 \text{ g}/\text{dm}^3$ niższe plony biomasy (tab. 3).

Jak przedstawiono w tab. 4., najwyższą aktywność inulinazy i inwertazy (odpowiednio, $0,5762$ i $0,4609 \mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$) stwierdzono w filtratach po hodowli z wykorzystaniem NH_4F jako źródła azotu. Nie stwierdzono aktywności tych enzymów w filtratach po hodowli prowadzonej na podłożu zawierającym $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_3$.

Tabela 2

Produkcja enzymów zewnątrzkomórkowych przez *Xanthomonas campestris* PPJ4, determinowana różnymi źródłami węgla.

Effect of different carbon sources on the production of extracellular enzymes by *Xanthomonas campestris* PPJ4.

Źródło węgla Source of carbon	Aktywność enzymatyczna Enzymatic activitie			
	Inulinaza [$\mu\text{mol}/\text{cm}^3\text{min}$] inulinase [$\mu\text{mol}/\text{cm}^3\text{min}$]	Inwertaza [$\mu\text{mol}/\text{cm}^3\text{min}$] Invertase [$\mu\text{mol}/\text{cm}^3\text{min}$]	α -amylaza [$\mu\text{mol}/\text{cm}^3\text{min}$] α -amylase [$\mu\text{mol}/\text{cm}^3\text{min}$]	β -galaktozydaza [U/ cm^3] β -galactosidase [U/ cm^3]
	Glukoza Glucose	0,0127	0,0102	0,0841
Sacharoza Sucrose	0,1065	0,2032	0,2604	0,013470
Maltoza Maltose	0,0233	0,0000	0,2082	0,007070
Celobioza Celobiose	0,0000	0,2243	1,1589	0,003133
Laktoza Lactose	0,0338	0,0000	0,2891	0,001567
Fruktoza Fructose	0,1263	0,0000	0,2110	0,004233
Maltodekstryny Maltodextrin	0,1275	0,3910	2,4870	0,016870
Sorboza Sorbose	0,3729	0,0000	0,1781	0,004367
Inulina Inulin	0,0555	0,0357	0,2539	0,014130
Kwas laktobionowy Lactobionic acid	0,0000	0,0000	0,0880	0,000770
Ksyloza Xylose	0,6318	0,0000	1,7263	0,005
Chityna Chitin	0,0420	0,0000	0,2154	0,0011
Topinambur Yerusalem artichoke	0,2060	0,0931	0,1840	0,0018

Tabela 3

Stężenia ksantanu oraz plony biomasy otrzymane po hodowli *Xanthomonas campestris* PPJ4 na podłożach zawierających różne źródła azotu.

Concentration of xanthan gum and biomass obtained after cultivation of *Xanthomonas campestris* PPJ 4 on the medium containing different source of nitrogen.

Źródło azotu Source of nitrogen	Stężenie ksantanu [g/dm ³] Concentration of xanthan gum [g/dm ³]	Plon biomasy [g/dm ³] Biomass [g/dm ³]
(NH ₄) ₂ SO ₄	21,32	0,667
(NH ₄) ₂ HPO ₄	16,52	0,334
NH ₄ H ₂ PO ₄	18,30	0,467
NH ₄ Cl	16,13	0,134
NH ₄ F	10,33	0,08
Namok kukurydziany Corn steep liquor	15,47	0,334
NH ₄ NO ₃	13,46	0,467
Mocznik Urea	21,47	0,2

Najwyższą aktywnością α -amylazy charakteryzowały się filtry otrzymane po hodowli z zastosowaniem NH₄NO₃ (0,8429 $\mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$) i mocznika (0,741 $\mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$). Najniższą aktywność tego enzymu (0,004 $\mu\text{mol}/\text{cm}^3 \times \text{min}$) oznaczono w filtracie pochodzącym z hodowli z wykorzystaniem NH₄H₂PO₃ jako źródła azotu.

Najwyższą aktywność β -galaktozydazy (0,011267 U/cm³) oznaczono w filtracie uzyskanym po hodowli prowadzonej na podłożu zawierającym (NH₄)₂HPO₃, a najniższą (0,002733 U/cm³) w filtracie po hodowli z zastosowaniem NH₄F jako źródła azotu (tab. 4).

W przeprowadzonych w pracy badaniach podjęto próbę określenia optymalnych warunków hodowli do produkcji ksantanu przez penicylioopornego mutantu *Xanthomonas campestris* PPJ4. Leela i Sharma [6] stwierdzili, że najlepszym źródłem węgla do produkcji ksantanu przez szczepy *Xanthomonas campestris* są: glukoza, sacharoza, maltoza i skrobia. Najwyższe stężenie (14,744 g/dm³) ksantanu wytwarzanego przez *Xanthomonas campestris* GK6 otrzymali oni, stosując glukozę i nieco niższe stężenie (13,234 g/dm³) w przypadku sacharozy jako źródła węgla. Shou i Demain [13] donoszą jednak, że sacharoza jest lepszym substratem do produkcji ksantanu niż glukoza, co potwierdzają również wyniki otrzymane w tej pracy.

Ważnym czynnikiem wpływającym na syntezę polisacharydów przez drobno-ustroje jest stężenie źródła węgla w podłożu produkcyjnym. Najwyższe wydajności produkcji ksantanu przez bakterie *Xanthomonas campestris* uzyskano stosując stężenia

glukozy w zakresie 1-5% [5]. Rogovin i wsp. [11] informują, że stosując 1% dodatek glukozy do podłoża hodowlanego otrzymano prawie całkowitą jej konwersję (90%) do polisacharydu. Abd El-Salam i wsp. [1], stosując melasę z buraków cukrowych jako substrat do produkcji ksantanu, uzyskali najwyższe stężenie polisacharydu ($41,3 \text{ g/dm}^3$) przy 25% stężeniu substratu, natomiast najwyższą wydajność procesu (92%) uzyskali przy jego 2% stężeniu.

Tabela 4

Produkcja enzymów zewnątrzkomórkowych przez *Xanthomonas campestris* PPJ4, determinowana różnymi źródłami azotu.

Effect of different nitrogen sources on the production of extracellular enzymes by *Xanthomonas campestris* PPJ4.

Źródło azotu Source of nitrogen	Aktywność enzymatyczna Enzymatic activities			
	inulinaza [$\mu\text{mol/cm}^3\text{min}$]	invertaza [$\mu\text{mol/cm}^3\text{min}$]	α -amylaza [$\mu\text{mol/cm}^3\text{min}$]	β -galaktozydaza [U/ cm^3]
	inulinase [$\mu\text{mol/cm}^3\text{min}$]	invertase [$\mu\text{mol/cm}^3\text{min}$]	α -amylase [$\mu\text{mol/cm}^3\text{min}$]	β -galactosidase [U/ cm^3]
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,0127	0,0102	0,0841	0,003267
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0,1673	0,1339	0,0932	0,011267
NH ₄ H ₂ PO ₄	0,0000	0,000	0,004	0,003467
NH ₄ Cl	0,1697	0,1357	0,2291	0,008267
NH ₄ F	0,5726	0,4609	0,4798	0,002733
Namok kukurydziany Corn steep liquor	0,3208	0,2566	0,1540	0,004600
NH ₄ NO ₃	0,1076	0,0861	0,8429	0,002933
Mocznik Urea	0,2142	0,1714	0,7410	0,005267

Wymienione wcześniej źródła węgla są powszechnie stosowane do produkcji ksantanu. Obecnie trwają też badania nad wykorzystaniem innych, tańszych źródeł węgla np. korzeni cykorii, zawierających inulinę czy serwatki, zawierającej laktozę. Park i wsp. [8] wykazali, że szczep *Xanthomonas* sp. jest w stanie wytwarzać w odpowiednich warunkach zewnątrzkomórkową inulinazę o wysokiej aktywności (20 U/ml). Wynik ten osiągnęli, przeprowadzając hodowlę *Xanthomonas* sp. na podłożu zawierającym odpowiednio przygotowane korzenie cykorii jako źródło węgla w ilości 5 g/dm^3 . W badaniach tych nie oznaczano jednak ilości wytwarzanego ksantanu, ale wysoka aktywność inulinazy sugeruje możliwość wykorzystania niektórych substratów zawierających inulinę do produkcji gumy ksantanowej przez szczepy z rodzaju *Xanthomonas*. Niski poziom aktywności β -galaktozydazy wydzielanej do podłoża podczas ho-

dowli *Xanthomonas campestris* uniemożliwia wykorzystanie laktozy oraz serwatki jako substratów do produkcji ksantanu przez bakterie. Frank i Somkui [2] oczyszczili β -galaktozydazę produkowaną przez *Xanthomonas campestris*. Enzym ten wykazywał najwyższą aktywność w temp. 32 – 37°C i pH 5,5 – 5,8 oraz charakteryzował się niskim powinowactwem w stosunku do substratu – laktozy. Od początku lat 80. XX w. podejmowane były próby izolacji szczepów *Xanthomonas campestris* o uzdolnieniach do rozkładu laktozy. Zastosowano również techniki inżynierii genetycznej do konstrukcji transformantów *Xanthomonas campestris* zawierających geny kodujące β -galaktozydazę z *E. coli*. Fu i Tseng [3] otrzymali transformanta *Xanthomonas campestris* przy użyciu plazmidu ekspresyjnego zawierającego gen kodujący β -galaktozydazę z *E. coli* pod kontrolą promotora fagowego. Otrzymany transformant produkował ksantan w podobnych stężeniach podczas hodowli na serwatce oraz na podłożach zawierających laktozę i glukozę, jako źródło węgla. Tang i wsp. [14] udowodnili, że synteza ksantanu i niektórych enzymów np. α -amylazy jest skorelowana. Hu i wsp. [4] otrzymali α -amylazę produkowaną przez *Xanthomonas campestris* pv *campestris*. Białko to było wydzielane przez bakterie podczas hodowli na podłożu z glukozą lub maltozą jako źródłem węgla. Badacze ci wyizolowali z biblioteki faga λ gen kodujący α -amylazę z tej bakterii zlokalizowany na fragmencie DNA o długości 27 kb. Na podstawie sekwencji nukleotydowej określono sekwencję białka α -amylazy zbudowaną z 475 aminokwasów zawierającą sekwencję sygnałową zbudowaną z 35 aminokwasów. Stwierdzono bardzo słabą sekrecję α -amylazy z *Xanthomonas campestris* w *E. coli* pod kontrolą jej własnego promotora. Enzym ekspresyjny w *E. coli* gromadził się w przestrzeni periplazmatycznej.

Quader i Baig [9], badając szczep *Xanthomonas campestris* NRRL 1459 wykazali, że najbardziej efektywnym źródłem azotu do produkcji ksantanu jest $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Jednakże Abd El-Salam i wsp. [1] wykazali niską przydatność tej soli jako źródła azotu do produkcji ksantanu przez szczep *Xanthomonas campestris* E-NRC-3. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzili oni, że najbardziej efektywnymi źródłami azotu do produkcji polisacharydu są: NH_4Cl , NH_4NO_3 oraz mocznik i namok kukurydziany. Otrzymali oni wyższe stężenie ksantanu, stosując podczas hodowli bakterii $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ w porównaniu z $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ jako źródem azotu. Zależność taką zaobserwowano w doświadczeniu prowadzonym w tej pracy.

Wnioski

1. Penicyliinooporny mutant *Xanthomonas campestris* PPJ4 charakteryzował się wysoką produkcją ksantanu w czasie hodowli w obecności szerokiego spektrum źródeł węgla. Dobrymi źródłami węgla do produkcji ksantanu przez mutantą PPJ4 były: maltodekstryny, sacharoza, glukoza, celobioza, inulina i maltoza. Dobrym substratem do produkcji polimeru okazały się też rozdrobnione bulwy topinamburu.

- Najwyższe stężenia ksantanu oznaczono po hodowlach w obecności 3% dodatku maltodekstryn i sacharozy.
2. Stwierdzono wysokie aktywności enzymów zewnątrzkomórkowych (inulinazy, inwertazy, α -amylazy) wydzielanych do podłoża przez mutanta *Xanthomonas campestris* PPJ4 podczas hodowli w obecności tych źródeł węgla.
 3. Najlepszym źródłem azotu do produkcji ksantanu przez *Xanthomonas campestris* PPJ4 były: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ i mocznik.
 4. Badany mutant produkował niewielkie ilości ksantanu w hodowlach na podłożu zawierającym laktozę jako źródło węgla. Powodem tego była niska aktywność enzymu – β -galaktozydazy wydzielanego przez ten szczep bakterii.

Literatura

- [1] Abd El – Salam M. H., Fadel M. A., Murad H. A.: Bioconversion of sugarcane molasses into xanthan gum. J. Biotechnol., 1994, **33**, 103-106.
- [2] Frank J.F., Somkuti G.A.: General properties of β -galactosidase of *Xanthomonas campestris*. Appl. Environ. Microbiol., 1979, **38**, 554-558.
- [3] Fu J. F., Tseng Y. H.: Construction of lactose – utilizing *Xanthomonas campestris* and production of xanthan gum from whey. Appl. Environ. Microbiol., 1990, **56**, 919-923.
- [4] Hu N.T., Hung H.N., Huang A.M., Tsai H.F., Yang B.Y., Chow T.Y. and Tseng Y.H.: Molecular cloning, characterization and nucleotide sequence of the gene for secreted α -amylase from *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, J. Gen. Microbiol., 1992, **138**, 1647-1655.
- [5] Kidby D., Herman A., Cadmus M., Maintenance procedures for the curtailment of genetic instabilities in *Xanthomonas campestris* NRRL E-1459, Appl. Environ. Microbiol., 1977, **33**, 840-845.
- [6] Leela J.K., Sharma G.: Studies on xanthan production from *Xanthomonas campestris*. Biopr. Eng., 2000, **23**, 687-689.
- [7] Marquett M., Mikołajczyk M., Thorne, Pollock T.J.: Improved strains for production of xanthan gum by fermentation of *Xanthomonas campestris*. J. Ind. Microbiol. 1989, **4**, 53-64.
- [8] Park J.P., Yun J.W.: Utilization of chicory roots for microbial endoinulinase production. Lett. in Appl. Microbiol., 2001, **33**, 183-187.
- [9] Quader M.A., Baig S.: Effect of nitrogen source on the production of extracellular polysaccharide by *Xanthomonas campestris* NRRL B 1459. Science Int., 1989, **14**, 262-264.
- [10] Rodriguez H., Aguilar L., Lao M.: Variations in xanthan production by antibiotic-resistant mutants of *Xanthomonas campestris*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1997, **48**, 626-629.
- [11] Rogowin S.P., Anderson R.F., Cadmus M.C.: Production of polysaccharide with *Xanthomonas campestris*. J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng., 1961, **111**, 51-63.
- [12] Roseiro J.C., Esgalhado M.E., Amaral Collaco M.T., Emery A.N.: Medium development for xanthan production. Proc. Biochem., 1991, **27**, 167-175.
- [13] Souw P., Demain A.L.: Nutritional studies on xanthan production by *Xanthomonas campestris*. Appl. Env. Microbiol., 1979, **37**, 1186-1192.
- [14] Tang J.L., Gough C.L., Daniels T.L.: Cloning of genes involved in negative regulation of production of extracellular enzymes and polysaccharide of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Mol. Gen. Genet., 1990, **222**, 157-160.
- [15] Udeh K.O., Janas P., Grobelski M.: Microbial synthesis of xanthan gum and application. Biotechnology, 2002, **57**, 113-129.

THE INFLUENCE OF CARBON AND NITROGEN SOURCES ON THE PRODUCTION OF XANTHAN GUM AND EXTRACELLULAR ENZYMES BY PENICILINERESISTANT MUTANT OF *XANTHOMONAS CAMPESTRIS*

S u m m a r y

The influence of carbon and nitrogen sources on the production of xanthan gum and extracellular enzymes by penicilineresistant mutant of *Xanthomonas campestris* was investigated. The good carbon sources for xanthan production were maltodextrin, sucrose, glucose, celobiose, inulin and maltose. The highest xanthan concentration was obtained after cultivations in the presence of 3% addition of maltodextrin and sucrose. Also, the high activities of extracellular enzymes (inulinase, invertase, α – amylase) were estimated in the media. The best nitrogen sources for xanthan production by *X. campestris* were $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and urea.

Key words: *Xanthomonas campestris*, xanthan, carbon source, nitrogen source, extracellular enzymes ☒

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 13 marca 2007 r.

Polskie akty prawne

1. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 18 grudnia 2006 r. w sprawie sposobu prowadzenia rejestru zakładów produkujących produkty pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. 2007 r. Nr 2, poz. 18).

Rozporządzenie określa m.in.:

- sposób prowadzenia rejestru zakładów produkujących produkty pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do sprzedaży bezpośredniej, obejmującego zakłady, które podlegają rejestracji, zgodnie z art. 4 ust. 1 lit. b rozporządzenia (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiającego szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego (Dz. Urz. UE L 139 z 30.04.2004, str. 55, z późn. zm.; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 45, str. 14),
- sposób prowadzenia wykazu zatwierdzonych zakładów,
- zakres danych i informacji objętych rejestrem zakładów oraz wykazami.

2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 18 grudnia 2006 r. w sprawie sposobu ustalania weterynaryjnego numeru identyfikacyjnego (Dz. U. 2007 r. Nr 2, poz. 19).

W rozporządzeniu określono sposób ustalania weterynaryjnego numeru identyfikacyjnego nadawanego zakładom produkującym produkty pochodzenia zwierzęcego.

Weterynaryjny numer identyfikacyjny składa się z cyfr, z których pierwsza i druga oznaczają symbol województwa, trzecia i czwarta oznaczają symbol powiatu, piąta i szósta oznaczają symbol określający zakres i rodzaj działalności prowadzonej w zakładzie produkującym produkty pochodzenia zwierzęcego, siódma i następne informują o kolejności podejmowania w danym powiecie działalności w zakresie produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego.

W przypadku, kiedy w zakładzie prowadzi się więcej niż jeden rodzaj działalności w zakresie wytwarzania produktów pochodzenia zwierzęcego, powiatowy lekarz weterynarii w weterynaryjnym numerze identyfikacyjnym nadawanym takiemu zakładowi wskazuje symbol określający rodzaj działalności podstawowej prowadzonej przez ten zakład.

3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 grudnia 2006 r. w sprawie wysokości kar pieniężnych za naruszenia przepisów o produktach pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. 2007 r. Nr 2, poz.22).

Określona została wysokość kar pieniężnych za naruszenie przepisów o produktach pochodzenia zwierzęcego, m.in. za prowadzenie produkcji w zakładzie, który podlega zatwierdzeniu zgodnie z art. 4 ust. 2 rozporządzenia (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiającego szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego (Dz. Urz. UE L 139 z 30.04.2004, str. 55, z późn. zm.; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 45, str. 14) bez tego zatwierdzenia albo warunkowego zatwierdzenia.

4. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 29 grudnia 2006 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do sprzedaży bezpośredniej (Dz. U. 2007 r. Nr 5, poz. 38).

Rozporządzenie określa:

- wymagania weterynaryjne, jakie powinny być spełnione przy produkcji i przez produkty pochodzenia zwierzęcego przeznaczone do sprzedaży bezpośredniej;
- wielkość, zakres i obszar produkcji produktów,
- wymagania weterynaryjne dla miejsc prowadzenia sprzedaży bezpośredniej.

5. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 15 stycznia 2007 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych dla prowadzenia działalności w zakresie obrotu zwierzętami, pośrednictwa w tym obrocie lub skupu zwierząt (Dz. U. 2007 r. Nr 18, poz. 107).

Określono m.in.:

- wymagania, jakie muszą spełnić obiekty w których jest prowadzona działalność w zakresie obrotu zwierzętami, pośrednictwa w tym obrocie lub skupu zwierząt,

- zasady dopuszczenia skupu zwierząt z kilku gospodarstw i przewożenia jednym środkiem transportu.

Podmiot prowadzący działalność w zakresie obrotu zwierzętami, pośrednictwa w tym obrocie lub skupu zwierząt zobowiązany jest prowadzić dokumentację dotyczącą zwierząt będących przedmiotem jego działalności.

6. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 grudnia 2006 r. w sprawie wzoru wniosku o wpis oznaczenia geograficznego napoju spirytusowego na krajową listę chronionych oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych oraz wzoru wniosku o zmianę opisu napoju spirytusowego (Dz. U. 2007 r. Nr 2, poz. 23).

W rozporządzeniu określono wzór wniosku o wpis oznaczenia geograficznego napoju spirytusowego na krajową listę chronionych oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych oraz zmianę opisu napoju spirytusowego.

7. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 29 grudnia 2006 r. w sprawie wzorów formularzy deklaracji zbiorów winogron, produkcji oraz zapasów wina gronowego i moszczu gronowego (Dz. U. 2007 r. Nr 6, poz. 44).

Określa się wzór formularzy deklaracji zbiorów winogron, produkcji i dostarczanych do obowiązkowej destylacji ilości produktów ubocznych powstałych przy wyrobieniu wina gronowego oraz zapasów moszczu gronowego i wina gronowego.

8. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 9 stycznia 2007 r. w sprawie sposobu i miejsca pobierania próbek winogron, moszczy gronowych i wina gronowego w trakcie fermentacji oraz sposobu i miejsca ustalania naturalnej zawartości alkoholu w tych produktach (Dz. U. 2007 r. Nr 12, poz. 80).

W rozporządzeniu zostały szczegółowo określone sposoby i miejsca pobierania próbek winogron, moszczy gronowych i wina gronowego w trakcie fermentacji oraz sposobu i miejsca ustalania naturalnej zawartości alkoholu w tych produktach.

9. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 25 stycznia 2007 r. w sprawie określenia wymagań dla niektórych napojów spirytusowych z oznaczeniami geograficznymi odnoszącymi się do terytorium Rzeczypospolitej Polskiej (Dz. U. 2007 r. Nr 21, poz. 129).

Rozporządzenie określa wymagania dla napojów spirytusowych z oznaczeniami geograficznymi odnoszącymi się do terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, innymi niż „Polska Wódka/Polish Vodka”, które zostały objęte ochroną na podstawie rozporządzenia Rady (EWG) nr 1576/89 z dnia 29 maja 1989 r. ustanawiającego 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.).

10. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 20 grudnia 2006 r. w sprawie materiałów paszowych wprowadzanych do obrotu (Dz. U. 2007 r. Nr 2, poz. 24)
Rozporządzenie określa materiały paszowe oraz nazwy, pod którymi te materiały mogą być wprowadzane do obrotu oraz rodzaje procesów technologicznych stosowanych do wytwarzania materiałów paszowych.
11. Ustawa z dn. 22 czerwca 2001 r. o organizmach genetycznie zmodyfikowanych (Dz. U. 2007 r. Nr 36, poz. 233).
Został opublikowany jednolity tekst ustawy z dn. 22 czerwca 2001 r. o organizmach genetycznie zmodyfikowanych.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie (WE) nr 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz niektórych innych substancji (Dz. Urz. UE L 404 z 30.12.2006, str. 26-38).
Rozporządzenie ma na celu harmonizację przepisów ustawowych, wykonawczych i administracyjnych w Państwach Członkowskich dotyczących witamin, składników mineralnych oraz niektórych innych substancji jako dodatków do żywności, w celu zagwarantowania właściwego funkcjonowania rynku wewnętrznego oraz zapewnienia ochrony konsumentów.
W rozporządzeniu określono m.in.:
 - zasady dotyczące dodawania witamin i składników mineralnych,
 - ograniczenia w zakresie dodawania witamin i składników mineralnych,
 - kryteria czystości, jakim podlegają formy chemiczne witamin i składniki mineralne,
 - wymagania dotyczące etykietowania, prezentacji oraz reklamy żywności z dodatkiem witamin i składników mineralnych.Niniejsze rozporządzenie ma zastosowanie od dn. 1 lipca 2007 r.
2. Sprostowanie do rozporządzenia (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności (Dz. Urz. UE L 12 z 18 01.2007).
Rozporządzenie zawiera właściwy tekst rozporządzenia (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności.
Rozporządzenie nr 1924/2006 dotyczy oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych zawartych w przekazach komercyjnych tj.: na etykietkach oraz prezentacjach i reklamach żywności, która jest skierowana dla konsumentów.

Ten akt prawny to ma również zastosowanie do żywności, która dostarczana luzem oraz do żywności przeznaczonej do konsumentów zbiorowych (restauracji, szpitali, szkół, stołówek).

W rozporządzeniu określono m.in.:

- wymagania dotyczące ogólnych zasad składania oświadczeń (m.in.: warunki stosowania oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych, naukowe potwierdzenie oświadczeń, informacje o wartościach odżywczych).
- szczegółowe wymagania odnośnie oświadczeń żywieniowych,
- szczegółowe wymagania dotyczące oświadczeń zdrowotnych.

Niniejsze akt prawny obowiązuje od dn. 1 lipca 2007 r.

3. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2023/2006 z dnia 22 grudnia 2006 r. w sprawie dobrej praktyki produkcyjnej w odniesieniu do materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 384 z 29.12.2006, str. 75-78).

Rozporządzenie określa zasady dobrej praktyki produkcyjnej (GMP) w odniesieniu do następujących materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością: aktywne i inteligentne materiały i wyroby, kleje, wyroby ceramiczne, korki, wyroby gumowe, szkło, żywice jonowymienne, metale i stopy, papier i tektura, tworzywa sztuczne, farby drukarskie, regenerowana celuloza, silikony, wyroby włókiennicze, lakiery i powłoki, woski oraz drewno, jak i kombinacji tych materiałów i wyrobów lub materiałów i wyrobów pochodzących z recyklingu i wykorzystywanych w produkcji tych materiałów i wyrobów.

Rozporządzenie to ma zastosowanie we wszystkich sektorach i na każdym etapie produkcji, przetwarzania i dystrybucji, z wyjątkiem produkcji podstawowej.

W rozporządzeniu określono m.in.:

- ogólne oraz szczegółowe zasady GMP,
- wymagania dotyczące systemu zapewnienia jakości oraz systemu kontroli jakości,
- Wymagania dotyczące dokumentacji.

4. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 149/2007 z dnia 15 lutego 2007 r. rejestrujące w rejestrze gwarantowanych tradycyjnych specjalności nazwę – Boerenkaas (GTS) (Dz. Urz. UE UE L 46 z 16.2.2007, s. 18-19).

W rejestrze gwarantowanych tradycyjnych specjalności zarejestrowano nazwę produktu – „Boerenkaas (GTS)”, który należy do grupy serów holenderskich. Stosowanie tej nazwy jest zastrzeżone i stosuje się do niej przepisy dotyczące ochrony nazwy zgodnie z art. 13 ust. 2 rozporządzenia Rady nr 509/2006 z dnia 20 marca 2006 r. w sprawie produktów rolnych i środków spożywczych będących gwarantowanymi tradycyjnymi specjalnościami, według których nazwa ta nie

może zostać wykorzystywana przy etykietowaniu podobnych środków spożywczych nieodpowiadających zarejestrowanej specyfikacji produktu.

5. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 188/2007 z dn. 23 lutego 2007 r. w sprawie zezwolenia na nowe zastosowanie drożdży gatunku *Saccharomyces cerevisiae* (Biosaf SC 47) jako dodatku do pasz (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 57 z 24.2.2007, str. 3-5).

Zezwala się na stosowanie drożdży gatunku *Saccharomyces cerevisiae* (Biosaf SC 47) jako dodatku do pasz przeznaczonych do żywienia mlecznych kóz oraz owiec.

6. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 109/2007 z dnia 5 lutego 2007 r. dotyczące zezwolenia na stosowanie soli sodowej monenzyny (Coxidin) jako dodatku do pasz (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 31 z 6.2.2007, str. 6-8).

Udzielono zezwolenia na stosowanie soli sodowej monenzyny (Coxidin), należącego do kategorii dodatków "kokcydiostatyki i histomonostatyki", jako dodatku w żywieniu kurcząt i indyków przeznaczonych na tucz.

7. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1831/2006 z dnia 13 grudnia 2006 r. zmieniające załącznik I do rozporządzenia Rady (EWG) nr 2377/90 ustanawiającego wspólnotową procedurę określania najwyższego dopuszczalnego poziomu pozostałości weterynaryjnych produktów leczniczych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego w odniesieniu do doramektyny (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 354 z 14.12.2006, str. 5-7).

Do wykazu substancji czynnych farmakologicznie, dla których ustalone zostały najwyższe dopuszczalne poziomy, wprowadzono doramektynę, która należy do środków działających przeciw endo- i ektopasożytom (Awermektyna) oraz określono najwyższy dopuszczalny poziom pozostałości tej substancji w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego.

Akta prawny obowiązuje od dn. 12 lutego 2007 r.

Niniejsze rozporządzenie stosuje się od dn. 1 sierpnia 2008 r.

8. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 364 z 20.12.2006, str. 5-24).

W rozporządzeniu określono najwyższe dopuszczalne poziomy zanieczyszczeń m.in. azotanów, mikotoksyn, metali, 3-monochloropropano-1,2-diol (3-MCPD), dioksyn i polichlorowanych bifenyli o działaniu podobnym do dioksyn, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, które to poziomy nie mogą zostać przekroczone w przypadku wprowadzania środków spożywczych oraz jadalnych części roślin.

Niniejsze rozporządzenie stosuje się od dn. 1 marca 2007 r.

9. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1805/2006 z dnia 7 grudnia 2006 r. zmieniające załącznik I do rozporządzenia Rady (EWG) nr 2377/90 ustanawiającego wspólnotową procedurę określania najwyższego dopuszczalnego poziomu pozostałości produktów leczniczych weterynaryjnych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego w odniesieniu do tiamfenikolu, fenwaleratu i meloksykamu (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 343 z 8.12.2006, str. 66-68).
Do wykazu substancji czynnych farmakologicznie, dla których ustalone zostały najwyższe dopuszczalne poziomy (w załączniku I), wprowadzono tiamfenikol (środek przeciwwakażny), fenwalerat (środek przeciw pasożytniczy) i meloksykam (środek przeciwzapalny). Ponadto określono najwyższe dopuszczalne poziomy pozostałości tych substancji w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego. Rozporządzenie obowiązuje od dn. 8 lutego 2007 r.
10. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1729/2006 z dnia 23 listopada 2006 r. zmieniające załączniki I i III 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 firokoksybu i triklabendazolu (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 325 z 24.11.2006, str. 6-8).
W wykazie substancji czynnej farmakologicznie, dla której ustalono najwyższy dopuszczalny poziom ich pozostałości w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego (załącznik nr I do rozporządzenia), wprowadzono triklabendazol (środek przeciw pasożytniczy). W wykazie substancji farmakologicznie czynnych użytych w weterynaryjnych produktach medycznych, dla których został ustalony maksymalny poziom pozostałości w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego (załącznik nr III do rozporządzenia), dodano firokoksyb (środek przeciwzapalny).
Rozporządzenia stosuje się od dn. 21 stycznia 2007 r. ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA MIERZEJEWSKA

WSPÓŁCZESNY LEKSYKON WIEDZY O ŻYWNOSCI

Prezentujemy 24. część haseł *Współczesnego leksykonu wiedzy o żywności*. Druk leksykonu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 3 (28), 2001.

KOMÓRKA AUTOLOGICZNA / AUTOLOGOUS CELL – komórka tego samego osobnika

ELEKTROPORACJA / ELECTROPORATION – w błonie komórki poddawanej działaniu pola elektrycznego tworzą się pory, przez które może wnikać obce DNA

FLUOROCHROM / FLUOROCHROME – substancja, np. izotiocyanian fluoresceiny, która pod wpływem wzbudzenia światłem o określonej długości fali emituje fotony o określonej długości fali rejestrowane przez czujniki (np. w cytometrze) lub oko ludzkie (w mikroskopie fluorescencyjnym)

GĘSTOŚĆ KOMÓREK / DENSITY OF CELLS – liczba komórek na 1 cm² substratu

GĘSTOŚĆ POPULACJI / DENSITY OF POPULATION – liczba komórek rosnących w jednej warstwie na jednostkę powierzchni substratu, hodowli. W zawiesinie gęstość równa się stężeniu komórek w jednostce objętości

INTEGRYNY / INTEGRINS – grupa białek adhezyjnych, integryny są białkami transbłonowymi odpowiedzialnymi za adhezję między komórkami, inaczej receptory integrynowe

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

LENTIWIRUSY / LENTIVIRUSES – wirusy, które mogą infekować dzielące się komórki, charakteryzują się długim okresem inkubacji od momentu infekcji do wystąpienia pierwszych objawów choroby

MARKERY POWIERZCHNIOWE / SUPERFICIAL MARKERS – białka występujące na powierzchni określonych komórek i charakterystyczne dla nich

MONOLYER / MONOLYER – hodowla komórek rosnących w jednej warstwie

PELETKA / PELLET – osad komórek na dnie probówki powstały po odwirowaniu lub sedymentacji

KOSMECEUTYKI / COSMECEUTICALS – środki kosmetyczne o działaniu leczniczym, zawierające naturalne biologicznie aktywne substancje odżywcze i nieodżywcze

HAT / HAT – mieszanina hipoksantyny, aminopteryny i tymidyny. Aminopteryna jest silną toksyną blokującą szlak metaboliczny. Szlak ten może obejść, jeśli komórce dostarczone są metabolity pośrednie, hipoksantyna i tymidyna. Komórki śledziona mogą rosnąć w podłożu zawierającym HAT; natomiast użyte komórki szpiczaka mają defekt metaboliczny uniemożliwiający przeżycie w tych warunkach. W chwili zakładania hodowli w podłożu zawierającym HAT, składa się ona z komórek śledziona, szpiczaka i połączonych hybryd. Komórki śledziona giną w hodowli po 1-2 tygodniach, natomiast komórki szpiczaka giną z uwagi na obecność HAT. Przeżywają jedynie hybrydy, ponieważ posiadają cechę „nieśmiertelności” szpiczaka oraz zdolność omijania toksycznego szlaku metabolicznego

PEG / PEG – glikol polietylenowy, służy do połączenia komórek śledziona z komórkami szpiczaka.

ELICYTACJA / ELICITATION – metoda podnoszenia produkcji metabolitów wtórnych w systemach roślinnych ☒

NOWE KSIĄŻKI

Advances in Thermal and Non-Thermal Food Preservation

[Postępy w termicznej i nietermicznej konserwacji żywności]

Gaurav Tewari, Vijay Juneja, Supervising Microbiologist at USDA, ARS, Eastern Regional Center, USA

Wydawnictwo: Blackwell Publishing Ltd. 9600 Garsington Road, Oxford, OX4 2DQ, UK, 2007,

ISBN 9780813829685, stron 288, cena 105 £ (184,99\$)

Zamówienia: info@mks.blackwellpublishing.com

W książce zawarto informacje nt. tradycyjnych, jak i nowych oraz nowatorskich technik inaktywacji mikroorganizmów, stosowanych w termicznych i nietermicznych technologiach konserwacji żywności. Poszczególne rozdziały książki obejmują:

- termiczne techniki konserwacji żywności (np. sterylizacja i UHT);
- minimalną obróbkę termiczną (np. marynowanie);
- nietermiczne techniki konserwacji żywności (np. obróbka wysokociśnieniowa i technologie impulsowe).

Autorzy podkreślają komercyjne aspekty niekonwencjonalnych technik konserwacji żywności.

The Chemical Physics of Food

[Fizyka chemiczna żywności]

Belton P.

Wydawnictwo: Blackwell Publishing Ltd. 9600 Garsington Road, Oxford, OX4 2DQ, UK, 2007,

ISBN 9781405121279, stron 264, cena 105 £ (184,99\$)

Zamówienia: info@mks.blackwellpublishing.com

Według prof. Beltona nauka o żywności wymaga równie ścisłego podejścia, jak bardziej tradycyjne nauki fizyczne. Łącząc zastosowanie metod chemicznych i fizycznych z ilościową analizą danych, w książce przedstawiono:

- opis głównych materiałów, włącznie ze skrobią i glutenem;
 - spójne podejście do przedmiotowej tematyki z punktu widzenia fizyki chemicznej
- Wszyscy zajmujący się badaniami struktury żywności, włącznie z naukowcami, technologami żywności, chemikami żywności i fizykami znajdą wiele wartościowych informacji źródłowych w tej ważnej dziedzinie.

Multivariate and Probabilistic Analyses of Sensory Science Problems

[Wielowymiarowa i probabilistyczna analiza problemów nauki sensorycznej]

Meullenet J.F., Xiong R., Findlay C.; Institute of Food Technologists

Wydawnictwo: Blackwell Publishing Ltd. 9600 Garsington Road, Oxford, OX4 2DQ, UK, 2007,

ISBN 978081380178, stron 280, cena 105 £ (184,99\$)

Zamówienia: info@mks.blackwellpublishing.com

Naukowcy zajmujący się analizą sensoryczną żywności często muszą rozważać wyniki kompleksowych testów sensorycznych, obejmujących wiele zmiennych. Książka wyjaśnia wielowymiarowe i probabilistyczne metody opracowywania produktów. Opisane techniki są ukierunkowane na problemy sensoryczne, takie jak: badania panelowe, profilowanie produktu i badanie danych konsumenckich, włącznie z segmentacją i identyfikacją czynników decydujących o preferencjach i akceptacji konsumenckiej. Publikacja zawiera wiele przykładów analiz i interpretacji wyników w zakresie podstawowych zagadnień statystyki wielowymiarowej; wykorzystano te same zbiory danych w całym tekście; w tabelach zamieszczono zalety i wady poszczególnych metod, a wnioski można sformułować po zastosowaniu różnych metod. Podano także przykładowe programy do przeprowadzania analiz.

Opracowanie produktów spożywczych: podejście marketingowe

Seria: Żywność, Jakość, Technologia

Earle M., Earle R., Anderson A. (z ang. przeł. Marek Sikora)

Wydawnictwo: WNT, Warszawa 2007, ISBN 9788320430769, stron 381, cena 72,30 zł

Opracowanie produktów spożywczych, począwszy od niewielkiej zmiany istniejącego asortymentu, a skończywszy na wprowadzeniu na rynek nowych wyrobów, jest czynnikiem rozwojowym przemysłu spożywczego, Jest to jednak proces obciążony dużym ryzykiem, często kończący się niepowodzeniem.. W pierwszej i drugiej części książki

autorzy omówili zasadnicze elementy procesu opracowania produktu, a mianowicie: - ogólną strategię biznesową firmy, - poszczególne etapy procesu opracowania produktu, - wiedzę niezbędną do realizacji tego procesu, - ukierunkowanie opracowania produktu na potrzeby i wymagania klienta/konsumenta.

Przetwórstwo rolno-spożywcze: wybrane zagadnienia inżynierjno-spożywcze

Agnieszka Kaleta A., Wojalski J.

Wydawnictwo: SGGW, Warszawa 2007, stron 210, ISBN 83-7244-809-4, cena 30,00 zł

W niniejszej książce przedstawiono charakterystykę procesów i operacji jednostkowych z uwzględnieniem niektórych podstawowych wzorów i zależności wyjaśniających ich przebieg. Opisano w niej także prowadzenie pomiarów i użytkowanie aparatury produkcyjnej. Zawarte zestawienie wskaźników jednostkowego zużycia energii i wody w kilkunastu branżach przetwórstwa rolno-spożywczego może być pomocne w szacowaniu kosztów przedsięwzięcia produkcyjnego. Książka jest przeznaczona dla studentów, technologii żywności i pracowników naukowych zajmujących się analityką badawczą.

Przeciwutleniacze w żywności

Grajek W.

Wydawnictwo: WNT, Warszawa 2007, ISBN 978-83-204-3277-0, stron 584, cena 68 zł

Niezaprzeczalnym osiągnięciem nauki jest uznanie sposobu żywienia za jeden z najważniejszych czynników decydujących o stanie zdrowia, występowaniu określonych chorób, a także umożliwiających zapobieganie wielu schorzeniom poprzez jego modyfikację. W książce, w sposób interesujący i komunikatywny opisano zagadnienia związane z występowaniem i przemianami związków o właściwościach przeciwutleniających w „łańcuchu żywieniowym”. Przedstawiono problematykę dotyczącą aktywnych reaktywnych form tlenu i stresu oksydacyjnego jako przyczyny chorób, występowania w żywności naturalnych przeciwutleniaczy, ich stabilności w procesie produkcji i przechowywania żywności, wchłaniania w przewodzie pokarmowym, a ponadto ochronnego działania przeciwutleniaczy przed inicjacją i rozwojem chorób nowotworowych i chorób układu krążenia. Zasygnalizowano także związki między żywieniem a ekspresją genów i tym samym regulacją metabolizmu na poziomie molekularnym.

Opracowanie to jest adresowane do szerokiego grona odbiorców: pracowników naukowych uczelni medycznych, lekarzy, producentów żywności, żywieniowców, dietetyków, a także technologów żywności, biotechnologów, mikrobiologów, pracowników ochrony środowiska oraz do studentów wymienionych kierunków.

Opracował: *Stanisław Popek*

XXXVII SESJA NAUKOWA KOMITETU NAUK O ŻYWNOSCI PAN „DOSKONALENIE JAKOŚCI ŻYWNOSCI I ŻYWIENIA W PERSPEKTYWIE POTRZEB KONSUMENTA XXI WIEKU”

W dniach 26-27 września 2006 r. w Akademii Morskiej w Gdyni odbyła się XXXVII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN nt. „Doskonalenie jakości żywności i żywienia w perspektywie potrzeb konsumenta XXI wieku” zorganizowana przez Komitet Nauk o Żywności PAN, Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni, Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej oraz Oddział Gdański Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności.

Komitet Naukowy Sesji składał się z 12 członków, a przewodniczył mu prezes Gdańskiego Oddziału PTTŻ - prof. dr hab. inż. Piotr Przybyłowski. Z kolei Komitet Organizacyjny składał się z 9 członków i przewodniczył mu dziekan Wydziału Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa - prof. dr hab. Piotr Jędrzejowicz.

Uczestnikami XXXVII Sesji Naukowej KNoŻ PAN było 247 osób z 22 ośrodków naukowych. W Sesji uczestniczyło także 35 członków Komitetu Nauk o Żywności PAN.

Obrady odbywały się w następujących sekcjach tematycznych:

1. Kształtowanie i ocena jakości surowców żywnościowych.
2. Doskonalenie procesów technologicznych - wpływ na jakość i zdrowotność żywności.
3. Przechowywanie i transport żywności.
4. Doskonalenie metod oceny jakości żywności.
5. Postawy i oczekiwania konsumenta XXI wieku, promocja żywności.

W pierwszym dniu Sesji przedstawiono dwa referaty plenarne: „Diagnostyka molekularna w badaniu jakości żywności” autorstwa prof. dra hab. Józefa Kura (Politechnika Gdańska) oraz „Biotoksyny morskie – ich występowanie i metody badań” autorstwa dra Mirosława Michalskiego (PIW w Puławach).

W drugim dniu Sesji przedstawiono również dwa referaty plenarne: „Jakość i bezpieczeństwo zdrowotne żywności w systemach zarządzania jakością” autorstwa

prof. dra hab. Stefana Ziajki i dr inż. Sylwii Tarczyńskiej (UWM w Olsztynie) oraz „Konsument XXI wieku – postawy i oczekiwania” autorstwa prof. dr hab. Ewa Babicz-Zielińskiej i dra Romualda Zabrockiego (AM w Gdyni). Wykłady te zainicjowały dyskusję panelową, którą poprowadził prof. dr hab. Jan Gawęcki.

Na Sesji zaprezentowano łącznie 28 referatów oraz 230 posterów. Spośród nich przewodniczący poszczególnych sekcji referatowych i plakatowych wyróżnili następujące prace:

1. J. Kowalik, A. Łobacz, M. Kopeć (UWM, Olsztyn): Szacowanie ryzyka rozwoju *Listeria monocytogenes* w wybranych produktach mleczarskich.
2. A. Olejnik, M. Schmidt, P. Fijak, W. Grajek (AR, Poznań): Analiza aktywności przeciwnowotworowej produktów bogatych w naturalne antyoksydanty z wykorzystaniem komórek HL-60.
3. R. Korzeniowska-Ginter, K. Chadzypanagiotis, K. Kuncewicz (AM, Gdynia): Ocena cech fizykochemicznych i sensorycznych chleba pszenno-żytniego wypiekanego przez piekarnie w Gdyni.
4. A. Dobrowolska, B. Sikorski, T. Tuszyński (AR, Kraków): Czynniki determinujące spożycie soków marchwiowych wśród młodzieży szkół średnich w wybranych regionach Polski.
5. A. Ciemniak (AR, Szczecin): Porównanie wpływu metody grillowania na zawartość benzo(a)pirenu w żywności.
6. H. Kowalska, S. Jadcak (SGGW, Warszawa): Odwadnianie osmotyczne jabłek w roztworze sacharozy z dodatkiem kwasu askorbinowego.
7. J. Oszmiański, A. Wojdyło, P. Matuszewski (AR, Wrocław): Zmiany zawartości związków fenolowych podczas produkcji zagęszczonego soku truskawkowego w warunkach przemysłowych.

Opracował: prof. dr hab. inż. Piotr Przybyłowski

RECENZJA KSIĄŻKI

**OPRACOWANIE PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH
PODEJŚCIE MARKETINGOWE**

WNT, Warszawa 2007, s. 381, ISBN 978-83-204-3076-9, cena 85 zł.

Autorzy: Mary Earle, Richard Earle, Allan Anderson.

Tłumaczenie na j. polski Marek Sikora

Nakładem WNT ukazała się książka „Opracowanie produktów spożywczych. Podejście marketingowe”, która wypełnia istniejącą lukę w tym zakresie na krajowym rynku księgarskim. Książka autorstwa M. Earle, R. Earle i A. Andersona – nowozelandczyków – została przetłumaczona na język polski przez dr hab. Marka Sikorę z Katedry Węglowodanów Akademii Rolniczej w Krakowie.

Z obowiązku recenzenta należy odnotować fakt, że pierwszym krajowym opracowaniem z tego zakresu była książka „Food Product Development. Opracowywanie nowych produktów żywnościowych”, pod red. J. Czapskiego wydana przez Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Poznaniu, w 1995 r.

Rozwój przedsiębiorstwa przemysłu spożywczego w warunkach rynkowych zależy między innymi od wprowadzania na rynek nowych produktów. Sukces lub porażka innowacyjności produktowej zależy od wielu czynników, w tym od oryginalności nowego produktu, profesjonalizmu marketingowego, dojrzałości rynku, a także od poprawnego procesu opracowywania produktu. Oczywiście, sukces na rynku odnoszą tylko nieliczne nowo wprowadzane produkty.

Proces opracowywania nowych produktów stanowi połączenie wiedzy z zakresu technologii żywności i marketingu, z myślą o odbiorcy nowego produktu.

Omawiana książka składa się z trzech części.

W części I przedstawiono przyczyny sukcesów i niepowodzeń innowacji produktowych, a część ta kończy się zaprezentowaniem podstaw zarządzania opracowywaniem produktów.

Część II, *Główne czynniki zapewnienia sukcesu w opracowywaniu produktu*, składa się z czterech rozdziałów.

1. Opracowanie strategii innowacyjności.

2. Proces opracowywania produktu.
3. Podstawowa wiedza niezbędna do opracowywania produktów.
4. Rola konsumenta w procesie opracowywania produktu.

Na część III, *Zarządzanie opracowywaniem produktu i doskonalenie procesu*, składają się rozdziały:

1. Zarządzanie procesem opracowywania produktu.
2. Opracowywanie produktu w systemie żywnościowym.
3. Doskonalenie procesu opracowywania nowych produktów.

Opracowywanie nowych produktów jest procesem dynamicznym i zmienia się w sposób ciągły, dlatego też należy nadążać za tymi zmianami.

Wiedza z zakresu opracowywania produktów żywnościowych powinna zostać włączona przede wszystkim do programów kształcenia na wydziałach nauk o żywności i żywieniu człowieka, tak żeby absolwenci tych wydziałów mogli wykorzystać ją w różnych organizacjach sektora żywnościowego (przemysł, gastronomia). Oczywiście książka będzie przydatna w każdym przedsiębiorstwie branży żywnościowej.

Omawiane opracowanie spełnia wymagania książki naukowej i jednocześnie podręcznika akademickiego dla szerokiego kręgu odbiorców, a przede wszystkim dla pracowników przemysłu spożywczego.

„Opracowanie produktów spożywczych” to książka o wysokim poziomie merytorycznym. Mankamentem utrudniającym szybkie odnalezienie poszukiwanej informacji w książce jest brak skorowidza. Także wysoka cena będzie barierą do zakupu jej przez studentów.

Tadeusz Sikora

TECHNOLOG ŻYWNOSCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 17 Nr 1

marzec 2007

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 29 marca 2007 r. odbyło się posiedzenie Zarządu Głównego PTTŻ, przyjęto sprawozdania merytoryczne i finansowe za rok 2006 i omówiono plany pracy Towarzystwa w 2007 r. Powołano zespół recenzentów do oceny prac zgłoszonych do Konkursu PTTŻ na najlepszą publikację w kwartalniku 'Żywność' w 2006 r.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYNARODOWE I KRAJOWE KONFERENCJE I KONGRESY NAUKOWE W 2007 r.

Maj

23 – 24 LUBLIN = JAKOŚĆ I PROZDROWOTNE CECHY ŻYWNOSCI - XII Sesja
Naukowa Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Akademia Rolnicza w Lublinie

Czerwiec

**13 – 15 WROCŁAW = III Międzynarodowa Konferencja Naukowa QUALITY AND
SAFETY IN PRODUCTION CHAIN NT. - JAKOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO
ZDROWOTNE W ŁAŃCUCHU ŻYWNOSCI**

Organizatorzy: Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu i Oddział Wrocławski PTTŻ
e-mail: ktsz@wnoz.ar.wroc.pl

19 – 21 New Zeland Institute of Food & Technology Annual Conference, Food – the Chal-
lenges, Wellington, New Zeland.

Contact: Rosemary Hancock, e-mail: rosemary@nzifst.org.nz; www.nzifst.org.nz

21 – 22 KRAKÓW = VIII Konferencja Naukowa z cyklu: ŻYWNOSĆ XXI WIEKU nt. ŻYWNOSĆ A CHOROBY CYWILIZACYJNE

Organizator: Oddział Małopolski PTTŻ, Wydział Technologii Żywności AR

e-mail: ewesierska@ar.karkow.pl

24 – 27 AIFST 40th Anniversary Convention, Melbourne, Australia.

Contact: AIFST, JulieBennett, e-mail: Julie@foodaust.com.au; www.aifst.asn.au

Wrzesień

2 – 8 10th International Symposium on the Properties of Water, and ISOPOW Practicum III, Bangkok, Thailand.

Contact: DR Tanaboon Sajjaanantakul, e-mail: tanaboon.s@ku.ac.th;

www.isopow.agro.ku.ac.th

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 PANWrzesień/październik

29 – 4 The IDF World Dairy Summit 2007, Dublin, Ireland.

Contact: DR Phil Kelly, e-mail: pkelly@moorepark. Teagasc.ie; WWW.wdc2007.com

Październik

12 -14 Congress CYTAL, Buenos Aires, Argentyna.

Contact: e-mail: tecnologos@alimentos.org.ar

Listopad5 – 8 6th American Congress of Food Engineering (CIBIA VI), Ambato, Equador.

Contact: e-mail: dvelastequi@uta.edu.ec; WWW.uta.edu.ec

2008 r.Październik19 – 24 The 14th IUFOST World Congress of Food Science and Technology, Food for Health and Wellbeing: Tradition Meets the Future, Shanghai, China.

Contact: e-mail: cifst@yahoo.com.cn

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. Ślawy, POZMET S.A., Poznań.**

Przy Oddziale Wrocławskim: **REGIS Wieliczka.**

Materiał zawarty w Nr 1/2007 Biuletynu podano według stanu informacji do dnia 10 marca 2006 r.

Opracowanie: Antoni Rutkowski.

Materiały do Nr 2/2007 prosimy nadsyłać do dnia 1 czerwca 2007 r. na adres Redakcji Czasopisma.

KOMUNIKAT

Informujemy P.T. Autorów, że aktualne *Informacje dla Autorów oraz wymagania redakcyjne* publikujemy na stronie **www.pttz.org**

**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

PREZES / ODDZIAŁ	ADRES
Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska Prezes PTTŻ	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel./fax: 022 843 87 11 e-mail: danuta_kolozyn_krajewska@sggw.pl
Dr inż. Stanisław Kalisz Sekretarz PTTŻ	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA e-mail: stanislaw_kalisz@sggw.pl
Prof. dr hab. Piotr Przybyłowski Oddział Gdański	AM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: 058 621 70 41; Fax.: 058 62 02 831
Prof. dr hab. Stanisław Mleko Oddział Lubelski	AR, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN Tel.: 081 444 63 10
Prof. PŁ, dr hab. Lucjan Krala Oddział Łódzki	PŁ, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ Tel.: 042 613 34 68; Fax. 042 636 74 88
Dr hab. Grażyna Jaworska Oddział Małopolski	AR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW Tel. 012 661 47 50; e-mail: rrgjawor@cyf-kr.edu.pl
Dr hab. inż. Katarzyna Majewska Oddział Olsztyński	UWM, ul. Słoneczna 44A, 10-718 OLSZTYN Tel.: 089 523 32 70; e-mail: klobuk@uwm.edu.pl
Prof. dr hab. Kazimierz Lachowicz Oddział Szczeciński	AR, ul. Kazimierza Królewicza 3, 71-550 SZCZECIN Tel.: 091 423 10 61
Prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert Oddział Warszawski	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel./fax: 022 593 75 68 e-mail: dorota_witrowa_rajchert@sggw.pl
Dr hab. Grażyna Lewandowicz Oddział Wielkopolski	AR, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 061 848 72 60, Fax.: 061 848 71 46
Prof. dr hab. Zygmunt Gil Oddział Wrocławski	AR, ul. Norwida 25/27, 50-375 WROCŁAW Tel.: 071 320 52 04; Fax: 071 320 54 77
SEKCJE	
Doc. dr hab. Renata Jędrzejczak Analizy i Oceny Żywności	IBPRS, ul. Rakowiecka 36, 02-532 WARSZAWA Tel. 022 849 02 24; 0606 38 76; Fax: 022 849 04 26
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	WSiIZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 022 646 20 60; e-mail: krajewski@wsiiz.pl
Prof. dr hab. Edward Pospiech Technologii Mięsa	AR, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 061 848 72 60; e-mail: pospiech@au.poznan.pl
Prof. dr hab. Krzysztof Krygier Chemii i Technologii Tłuszczów	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 022 847 58 17
Prof. dr hab. Waław Leszczyński Technologii Węglowodanów	AR, ul. Norwida 25/27, 50-375 WROCŁAW Tel.: 071 320 52 21; Fax: 071 320 52 73
Dr inż. Katarzyna Marciniak-Lukasiak Młodej Kadry Naukowej	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA e-mail: katarzyna_marciniak_lukasiak@sggw.pl