



# ŻYWNOSĆ

Nauka  
Technologia  
Jakość

**Nr 5 (54)**

**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. Włodzimierz Bednarski, 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. Stanisław Gwiazda, prof. dr hab. Jan Iciek,  
prof. dr hab. Edward Kołakowski, prof. dr hab. Henryk Kostyra, prof. dr hab. Andrzej Lenart,  
prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz, prof. dr hab. Paweł P. Pisulewski, prof. dr hab. Piotr  
Przybyłowski, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, prof. dr hab. Zdzisław Targoński,  
prof. dr hab. Tadeusz Trziszka, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz, prof. dr hab. Erwin Wąsowicz

**KONSULTANCI NAUKOWI:** prof. dr hab. Zbigniew Duda, prof. dr hab. Adolf Horubała,  
prof. dr hab. Jan Kiswa, 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 Naczka (Kanada), prof. dr Jan Pokorny  
(Czechy), prof. dr Roman Przybylski (Kanada), dr Andrzej Sośnicki (USA), dr Alina Surmacka-  
Szcześniak (USA), dr John Wojciak (Kanada)

**WYDAWCA:**

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI  
WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 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

---

## SPIS TREŚCI

Od Redakcji .....	7
<i>Zbyszko Lubiewski, Joanna Le Thanh, Lidia Stendera, Grażyna Lewandowicz</i> : Hydroliza enzymatyczna, w recykulacyjnym reaktorze membranowym, soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego.....	9
<i>Małgorzata Kapelko, Tomasz Zięba</i> : Właściwości ekstrudowanej skrobi ziemniaczanej modyfikowanej glicyną .....	23
<i>Małgorzata Piecyk, Renata Walicka</i> : Wpływ modyfikacji hydrotermicznej na właściwości skrobi wyizolowanej z wybranych nasion roślin strączkowych .....	33
<i>Agnieszka Trela, Leszek Mościcki</i> : Wpływ procesu ekstruzji na wybrane cechy jakościowe peletów zbożowych .....	43
<i>Anna Matusz-Mirlak, Dorota Pastuszka, Halina Gambuś</i> : Zawartość wybranych składników prozdrowotnych w ekstrudatach z udziałem otrąb żytnich .....	55
<i>Karolina Stempińska, Maria Soral-Śmietana, Henryk Zieliński, Anna Michalska</i> : Wpływ obróbki termicznej na skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające ziarniaków gryki ....	66
<i>Agnieszka Zembold-Guła, Józef Błażewicz</i> : Wpływ modyfikacji czasu słodowania ziarna jęczmienia na cechy brzeczek otrzymanych z udziałem grysu kukurydzianego .....	77
<i>Magdalena Skotnicka, Piotr Palich</i> : Wpływ warunków przechowywania na stopień czerstwienia mrożonych wyrobów ciastkarskich .....	84
<i>Dominika Boguszewska</i> : Wpływ niedoboru wody na zawartość wybranych składników chemicznych w bulwach ziemniaka .....	93
<i>Dariusz Kowalczyk, Małgorzata Stryjecka, Barbara Baraniak</i> : Charakterystyka właściwości funkcjonalnych niemodyfikowanych i acylowanych koncentratów białek soczewicy i ich trypsynowych hydrolizatów.....	102
<i>Beata Drużyńska, Agnieszka Jeżak</i> : Właściwości przeciwutleniające polifenoli zawartych w okrywie nasiennej nasion bobu .....	113
<i>Urszula Samotyja, Tomasz Zdziebłowski, Mirosława Szlachta, Maria Malecka</i> : Przeciwutleniające właściwości ekstraktów z kielków roślin.....	122
<i>Ewa Sosińska, Mieczysław W. Obiedziński</i> : Badania nad bioaktywnymi glukozynolanami w wybranych odmianach warzyw krzyżowych techniką HPLC.....	129
<i>Ewa Jabłońska-Ryś</i> : Porównanie zawartości poliacyetylenów w 18 odmianach selera korzeniowego .....	137
<i>Michał Gośliński, Renata Zawirska-Wojtasiak, Janina Gajc-Wolska</i> : Optymalizacja parametrów techniki SPME do oceny aromatu owoców linii transgenicznych ogórka ekspresujących gen taumatyny II .....	144
<i>Joanna Niewczas, Marta Mitek</i> : Wpływ przechowywania nowych odmian dyni olbrzymiej ( <i>Cucurbita maxima</i> ) na wybrane parametry składu chemicznego .....	155

<i>Emilia Bernaś, Grażyna Jaworska, Ireneusz Maciejaszek, Adriana Biernacka</i> : Wpływ obróbki wstępnej, zamrażania i zamrażalniczego składowania na teksturę pieczarek .....	165
<i>Arkadiusz Szerk, Piotr P. Lewicki</i> : Badanie stabilności $\beta$ -karotenu na nośnikach stałych....	173
<i>Dorota Zielińska, Urszula Uzarowicz</i> : Warunki dojrzewania i przechowywania fermentowanego napoju sojowego .....	186
<i>Stanisław Kalisz, Marta Mitek</i> : Wpływ dodatku nektaru z dzikiej róży na właściwości przeciwutleniające i zawartość składników bioaktywnych w mieszanych sokach różano-jabłkowych .....	194
<i>Stanisław Kalisz, Michał Wolniak</i> : Zmiany wybranych wyróżników jakościowych podczas przechowywania soków odtwarzanych z koncentratów .....	203
<i>Magdalena Kopera, Marta Mitek</i> : Wpływ procesu odwadniania osmotycznego na zawartość polifenoli w suszach gruszkowych ( <i>Pyrus communis</i> i <i>Pyrus pyrifolia</i> ) .....	213
<i>Małgorzata Rząca, Dorota Witrowa-Rajchert</i> : Wpływ parametrów suszenia konwekcyjno-mikrofalowego na aktywność przeciwrodnikową jabłek .....	222
<i>Iwona Ścibisz, Marta Mitek</i> : Wpływ procesu mrożenia i zamrażalniczego przechowywania owoców borówki wysokiej na zawartość antocyjanów .....	231
<i>Tomasz Krupa, Piotr Latocha</i> : Aktywność przeciwutleniająca oraz zawartość witaminy C i związków fenolowych w owocach różnych genotypów aktinidii ( <i>Actinidia</i> Lindl.).....	239
<i>Ewa Majewska, Anna Delmanowicz</i> : Profile związków lotnych wybranych miodów pszczelich .....	247
<i>Przemysław Krawczyk, Beata Drużyńska</i> : Porównanie oznaczania zawartości katechin w liściach zielonej i czarnej herbaty metodą wanilinową i metodą HPLC .....	260
<i>Marta Ciecierska, Mieczysław W. Obiedziński, Marta Albin</i> : Zanieczyszczenie herbat wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi .....	267
<i>Waldemar Gustaw, Maciej Nastaj, Bartosz Sołowiej</i> : Wpływ wybranych hydrokoloidów na właściwości reologiczne jogurtu stałego .....	274
<i>Maciej Nastaj, Waldemar Gustaw, Bartosz Sołowiej</i> : Właściwości reologiczne deserów otrzymanych z białek serwatkowych z dodatkiem różnych substancji słodzących .....	283
<i>Bartosz Sołowiej</i> : Analiza tekstury analogów serów topionych z dodatkiem preparatów serwatkowych.....	292
<i>Anna Bzducha, Mieczysław W. Obiedziński</i> : Liczebność pałeczek z rodzaju <i>Lactobacillus</i> i <i>Bifidobacterium</i> oraz ich wpływ na zawartość skoniugowanego kwasu linolowego w modelowych serach dojrzewających .....	301
<i>Karolina Szulc, Andrzej Lenart</i> : Wpływ aglomeracji na właściwości użytkowe sproszkowanych modelowych odżywek dla dzieci.....	312
<i>Sabina Kokoszka, Andrzej Lenart</i> : Wybrane właściwości fizyczne powłok jadalnych serwatkowych .....	321
<i>Urszula Złotek, Urszula Gawlik-Dziki</i> : Wpływ kwaśnej hydrolizy na właściwości przeciwutleniające alkoholowych ekstraktów wybranych przypraw .....	329
<i>Dorota Derewiaka, Mieczysław W. Obiedziński</i> : Modelowe badania nad utlenianiem steroli .....	337



---

<i>Katarzyna Jędrzejkiewicz, Anna Florowska: Stabilność i jakość bezcholesterolowych, niskotłuszczowych emulsji majonezowych zawierających inulinę</i> .....	346
<i>Aleksandra Graszkiwicz, Małgorzata Kaźmierska, Joanna Niedbalska: Wpływ dodatku preparatów mineralno-huminowych oraz przeciwutleniaczy do paszy niosek na aktywność lizozymu i cystatyny w białku jaj</i> .....	360
<i>Agnieszka Latoch: Wpływ sonifikacji na właściwości żelu miofibryli podczas dojrzewania mięsa wołowego</i> .....	367
<i>Anna Michalska, Henryk Zieliński, Maria Soral-Śmietana, Karolina Stempińska: Zawartość związków fenolowych i pojemność przeciwutleniająca produktów żywnych w symulowanych <i>in vitro</i> zmianach pH w przewodzie pokarmowym oraz po trawieniu enzymatycznym <i>in vitro</i></i> .....	374
<i>Ewa Żary-Sikorska, Jerzy Juśkiewicz: Wpływ fruktanów o różnym stopniu polimeryzacji łańcucha węglowodanowego na procesy fermentacyjne w końcowym odcinku przewodu pokarmowego u szczurów doświadczalnych</i> .....	385
<i>Monika Tworko, Aleksandra Markucińska, Anna Węgrzynek: Zastosowanie bioluminescencyjnego pomiaru ATP do oceny poziomu higieny w gospodarstwach domowych</i> .....	392
<i>Grażyna Morkis: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym</i> .....	400
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Dagmara Mierzejewska: Współczesny leksykon wiedzy o żywności</i> .....	402
<i>Stanisław Popek: Nowe książki</i> .....	404
<i>Bartosz Sołowiej: XII Sesja Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ „Jakość i prozdrowotne cechy żywności”</i> .....	406
<b>Technolog Żywności</b> .....	<b>409</b>



## OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr 5 (54) naszego czasopisma. Wynika to z faktu, że nie będziemy wydawać suplementów i numerów specjalnych, a w to miejsce będziemy wydawać rocznie 6 kolejnych numerów.

Powtarzamy nasz apel, w dobrze pojętym naszym wspólnym interesie, **cytujmy polskich autorów publikujących w „Żywności”** w publikacjach kierowanych do czasopism zagranicznych! Także zwracamy coraz większą uwagę na cytowanie wcześniej opublikowanych artykułów w „Żywności” w nadsyłanych do Redakcji artykułach. Cytowanie wcześniej opublikowanych artykułów wiążących się tematycznie z nadsyłanymi pracami będzie warunkiem przyjęcia pracy do publikacji.

Przypominamy również, że Polskie Towarzystwo Technologów Żywności jest organizacją pożytku publicznego i zachęcamy do przekazania 1% należnego podatku dochodowego na rzecz Towarzystwa.

**W Nowym 2008 Roku wszystkim naszym Autorom, Czytelnikom i Przyjaciółom życzymy wszelkiej pomyślności.**

Kraków, grudzień 2007 r.

Redaktor Naczelny



*Tadeusz Sikora*

**Sekcja Młodej Kadry Naukowej  
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

**Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności  
Politechniki Łódzkiej**

**Instytut Chemicznej Technologii Żywności**

zapraszają na

**XIII Sesję Naukową SMKN PTTŻ**

**„Żywność XXI wieku - szanse i zagrożenia”**

**Łódź 28 – 29 maja 2008**

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr inż. Katarzyna Grzelak  
Politechnika Łódzka  
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności  
Instytut Chemicznej Technologii Żywności  
ul. Stefanowskiego 4/10  
90-924 Łódź  
tel. 0-42 631-34-65  
e-mail: sesjanaukowa@snack.p.lodz.pl

ZBYSZKO LUBIEWSKI, JOANNA LE THANH, LIDIA STENDERA,  
GRAŻYNA LEWANDOWICZ

## HYDROLIZA ENZYMATYCZNA, W RECYRKULACYJNYM REAKTORZE MEMBRANOWYM, SOLI SODOWEJ OKTENYLOBURSZTYNIANU SKROBIOWEGO

### Streszczenie

Preparaty soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego E 1450 zyskują coraz większe zastosowanie w przemyśle dzięki zdolności emulgowania produktów spożywczych. Najczęściej są stosowane w postaci niskolepkich produktów hydrolizy. Jednak tradycyjny dwuetapowy proces enzymatyczny jest czasochłonny i mało efektywny. Zasadnym wydaje się więc poszukiwanie alternatywnych metod prowadzenia hydrolizy, np. z wykorzystaniem reaktora membranowego.

Celem pracy było zbadanie możliwości wykorzystania recyrkulacyjnego reaktora membranowego, z modulem ultrafiltracyjnym, do hydrolizy enzymatycznej soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego.

W badaniach użyto dwóch otrzymanych laboratoryjnie produktów soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego, zawierającego 0,5 i 2,5% grup oktenylobursztynowych oraz wykorzystywano dwa preparaty enzymatyczne produkowane przez firmę Novozymes, BAN 480 L i FUNGAMYL 800 L. Hydrolizę prowadzono w recyrkulacyjnym reaktorze membranowym z ceramicznym modulem ultrafiltracyjnym. W otrzymanych próbach oznaczano zawartość suchej substancji, stopień scukrzenia (DE), lepkość, badano widmo w podczerwieni otrzymanych substancji, zawartość poszczególnych sacharydów oraz wyznaczono parametry hydrodynamiczne układu. Stwierdzono, że zastosowanie reaktora membranowego umożliwia efektywną hydrolizę soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego, przy czym użycie preparatu enzymatycznego BAN 480 L pozwala na uzyskanie wyższej wydajności reaktora, w porównaniu z reakcją prowadzoną z preparatem FUNGAMYL 800 L, co przejawia się wyższą zawartością suchej masy we frakcjach permeatów oraz wyższymi wartościami strumienia permeatu. Hydrodynamiczne właściwości układu reaktora membranowego są uwarunkowane przede wszystkim właściwościami reologicznymi frakcji retentatu. Frakcje permeatu i retentatu różnią się zawartością grup oktenylobursztynowych, co spowodowane jest zatrzymywaniem przez zastosowaną membranę ultrafiltracyjną cząsteczek podstawowych grupami modyfikującymi.

**Słowa kluczowe:** skrobia, reaktor membranowy, hydroliza enzymatyczna, sól sodowa oktenylobursztynianu skrobiowego

---

*Mgr inż. Z. Lubiewski, mgr inż. J. Le Thanh, L. Stendera, dr hab. inż. G. Lewandowicz, prof. AR, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań*

## Wprowadzenie

Skrobie modyfikowane chemicznie znajdują szerokie zastosowanie zarówno w przemyśle spożywczym, jak i poza nim, przede wszystkim wskutek obecności w swojej strukturze różnych grup funkcyjnych, dzięki którym wykazują m.in. zdolność do emulgowania i stabilizacji produktów spożywczych [3, 14]. Szczególne znaczenie wśród tej grupy dodatków ma preparat E 1450 – sól sodowa oktenylobursztynianu skrobiowego – nowoczesny środek rekomendowany głównie jako emulgator, np. zastępujący jaja w produktach bezcholesterolowych [2, 13, 15]. Technologicznie jednak produkt ten ma znaczenie nie jako tworząca lepkie roztwory substancja wielkocząsteczkowa, ale w postaci niskolepkich, rozpuszczalnych na zimno produktów jej hydrolizy. Tradycyjny proces hydrolizy enzymatycznej skrobi zachodzi dwuetapowo w wielkopojemnościowych reaktorach okresowych [9]. Podczas pierwszego etapu skrobia zostaje rozpuszczona w wodzie oraz częściowo zhydrolizowana do maltodekstryn za pomocą  $\alpha$ -amylazy. W drugim etapie enzymy scukrzające rozkładają rozpuszczoną skrobię do oligosacharydów o niskiej masie cząsteczkowej, głównie maltozy i glukozy. Proces ten ma jednak wiele wad, z których najpoważniejszymi są: niska efektywność reakcji, jej czasochłonność oraz wysoki koszt enzymów, które nie są odzyskiwane, przez co ich zużycie jest bardzo duże. Zasadnym wydaje się więc poszukiwanie alternatywy umożliwiającej obniżenie kosztów oraz prowadzenie reakcji w sposób ciągły. Hydroliza w recyrkulacyjnym reaktorze membranowym umożliwia wyeliminowanie większości wyżej wymienionych problemów, choć do tej pory badacze skupiali się głównie na zastosowaniu tego typu reaktora do otrzymywania produktów niskocząsteczkowych takich, jak glukoza, maltoza oraz syropy wysokoscukrzane [8, 17, 18]. W przypadku hydrolizy enzymatycznej skrobi modyfikowanych, recyrkulacyjny reaktor membranowy próbowano zastosować jedynie do skrobi utlenionych i acetylowanych [4-7]. Metoda ta wydaje się być obiecująca również w przypadku innych skrobi modyfikowanych chemicznie.

Celem pracy było zbadanie możliwości wykorzystania recyrkulacyjnego reaktora membranowego, z modułem ultrafiltracyjnym do hydrolizy enzymatycznej soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego.

## Material i metody badań

Material badawczy stanowiły laboratoryjnie otrzymane preparaty soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego E 1450, zawierające 0,5% (E 1450 0,5%) i 2,5% (E 1450 2,5%) grup oktenylobursztynowych dostarczone przez Centralne Laboratorium Przemysłu Ziemniaczanego w Poznaniu oraz naturalna skrobia ziemniaczana produkowana przez Wielkopolskie Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemniaczanego S.A. w Luboniu. Zawartość grup oktenylobursztynowych oznaczano zgodnie z zaleceniami Połączonego Komitetu Ekspertów FAO/WHO (JECFA – Joint Expert Committee

FAO/WHO on Food Additives) [1]. Metoda polega na miareczkowaniu alkacymetrycznym pólęstru powstałego po zakwaszeniu preparatu kwasem solnym i odmyciu do zaniku chlorków.

W badaniach zastosowano dwa preparaty enzymatyczne oferowane przez firmę Novozymes (Dania):

- BAN 480L -  $\alpha$ -amylaza pochodzenia bakteryjnego, z wyselekcjonowanych szczepów *Bacillus amyloliquefaciens*,
- FUNGAMYL 800L -  $\alpha$ -amylaza grzybowa wyizolowana z *Aspergillus oryzae*.

Hydrolizę prowadzono w recyrkulacyjnym reaktorze membranowym składającym się ze zbiornika reakcyjnego BioFlo III 5L (New Brunswick Scientific Co., Inc. USA), pompy wirnikowej (Johnson, USA) oraz 6-kanalowej ceramicznej membrany rurowej o długości 1,2 m i średnicy zewnętrznej 25 mm (Tami Industries, Francja). Łączna powierzchnia membrany wynosiła 0,2 m<sup>2</sup>, a punkt odcięcia cut-off 50·10<sup>3</sup>Da. Przygotowywano 7000 ml 5% zawiesiny skrobiowej o pH 6,5 i kleikowano w łaźni wodnej w temp. 90°C przy ciągłym mieszaniu. Następnie sterylizowano w autoklawie w temp. 121°C przez 20 min. Do tak przygotowanego kleiku dodawano preparat enzymatyczny BAN 480 L lub FUNGAMYL 800 L odpowiednio w ilości 0,3 ml/kg s.m. skrobi oraz 0,2 ml/kg s.m. skrobi. Hydrolizę prowadzono w ciągu 2 h w stałej temp. 60°C i przy stałym ciśnieniu transmembranowym 0,15 MPa. Układ reakcyjny uzupełniano w pierwszej godzinie trwania hydrolizy kleikiem, następnie w drugiej godzinie wodą. W toku eksperymentu mierzono objętościowy strumień permeatu w interwałach jednonominutowych. Z frakcji permeatu pobierano próbę do analiz co 20 min. Frakcję retentatu zwracano do reaktora, pobierając z niego próby co 30 min. W otrzymanych próbach oznaczano zawartość suchej substancji, stopień scukrzenia oraz badano ich właściwości reologiczne. Zawartość suchej substancji oznaczano metodą suszarkową, przyjmując jako wynik końcowy średnią arytmetyczną wyników dwóch oznaczeń nie różniących się więcej niż o 0,2% [11]. Stopień scukrzenia (DE) oznaczano zmodyfikowaną metodą School-Rogenboga [12]. Metoda oznaczania stopnia scukrzenia polega na jodometrycznym oznaczeniu nadmiaru miedzi, która nie przereagowała z cukrami w reakcji redukującej; niezredukowaną ilość miedzi ustala się z równoważnej ilości jodu wydzielonego z jodku potasowego, który odmiareczkuje się tiosiarczanem sodowym. Za wynik oznaczenia przyjmuje się średnią arytmetyczną wyników dwóch oznaczeń nieróżniących się więcej niż o 0,2 ml roztworu tiosiarczanu sodowego użytego do miareczkowania [12]. Właściwości reologiczne obu frakcji badano za pomocą aparatu RheoStress I. Pomiarów lepkości dokonywano w temp. 60°C, w trybie aparatu CS, z użyciem sensora DG 43 Ti; wartości lepkości podano w odniesieniu do prędkości ścinania 300 [1/s].

Frakcje permeatów oraz retentatów zbierano i suszono za pomocą suszarki rozpyłowej Mobile Miner<sup>TM</sup> 2000 (Niro A/S) i kierowano do dalszych badań.

Widma w podczerwieni wykonywano w fazie stałej za pomocą spektrofotometru FT-IR Bruker IFS 113 w następujących warunkach: pastylka KBR (200 mg/1,5 g), rozdzielczość  $2\text{ cm}^{-1}$ . Badania prowadzono w zakresie liczb falowych ( $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ ).

Skład cukrowy oznaczano metodą HPLC za pomocą aparatu Hewlett Packard 1050 wyposażonego w detektor refraktometryczny HP 1047A oraz kolumnę Aminex HPX 42A (Bio-Rad). Jako eluent stosowano wodę, przy przepływie  $0,6\text{ ml/min}$ . Oznaczenia prowadzono w trzech powtórzeniach, w temp.  $30^\circ\text{C}$ . Próby наносzono na kolumnę w ilości  $30\text{ }\mu\text{l}$ . Identyfikacji jakościowej i ilościowej dokonano metodą standardu zewnętrznego z wykorzystaniem powierzchni pików. Wynik podano jako średnią z trzech oznaczeń (wraz z odchyleniem standardowym).

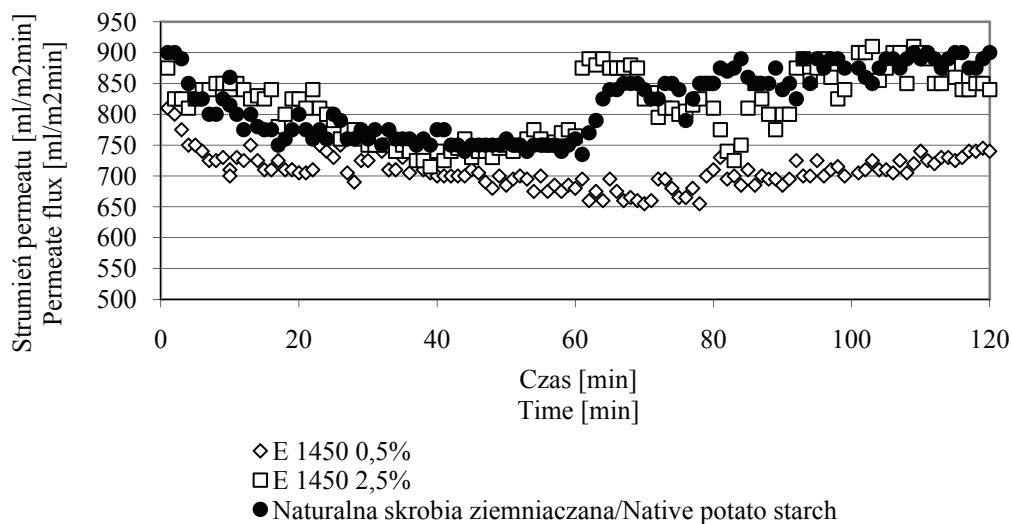
## Wyniki i dyskusja

Możliwość zastosowania recyrkulacyjnego reaktora membranowego w procesie hydrolizy enzymatycznej skrobi może wpłynąć na znaczne przyspieszenie tego procesu jednak ze względu na wysoką lepkość kleików skrobiowych istnieje duże ryzyko zapychania porów membrany (foulingu). W przypadku zastosowania preparatu enzymatycznego BAN 480 L (rys. 1) zjawisko foulingu praktycznie nie występowało, o czym świadczy stosunkowo stabilny przebieg krzywej wartości objętościowego strumienia permeatu wszystkich badanych typów skrobi. Jedynie w przypadku soli sodowej oktenylobursztianu skrobiowego, o  $0,5\%$  zawartości grup acetylowych, strumień permeatu w czasie trwania hydrolizy był mniejszy niż w przypadku pozostałych dwóch preparatów, jednak nie zaobserwowano zmniejszenia jego wartości w trakcie trwania eksperymentu. W przypadku reakcji z zastosowaniem enzymu FUNGAMYL 800 L obserwowano ciągłe, systematyczne zmniejszanie wartości objętościowego strumienia permeatu w trakcie trwania eksperymentu, co świadczy o zapychaniu porów membrany w toku procesu (rys. 2).

Zmiany objętościowego strumienia permeatu korelują z rezultatami uzyskanymi podczas pomiarów lepkości badanych próbek (rys. 3 i 4). Lepkość permeatów uzyskanych w toku obydwu hydroliz była mała i oscylowała wokół wartości  $0,8\text{ mPa}\cdot\text{s}$ . Zaobserwowano natomiast istotne różnice lepkości retentatów. W przypadku hydrolizy enzymatycznej z udziałem preparatu BAN 480 L wartość lepkości wszystkich badanych próbek permeatów i retentatów zawierała się w przedziale  $0,75\text{--}0,85\text{ mPa}\cdot\text{s}$  (rys. 3). Tak niskie i zbliżone do siebie wartości świadczą o tym, że lepkość retentatu ustabilizowała się na minimalnym poziomie. Te dane wraz z wynikami dotyczącymi strumienia permeatu wskazują, że w przypadku preparatu BAN 480 L zjawisko foulingu praktycznie w badanym układzie eksperymentalnym nie występowało. Natomiast w przypadku reakcji, w której zastosowano preparat FUNGAMYL 800 L (rys. 4) zmierzona lepkość próbek retentatów była wyraźnie wyższa od lepkości permeatów, co wraz z wynikami objętościowego strumienia permeatu wskazuje, że podczas trwania proce-

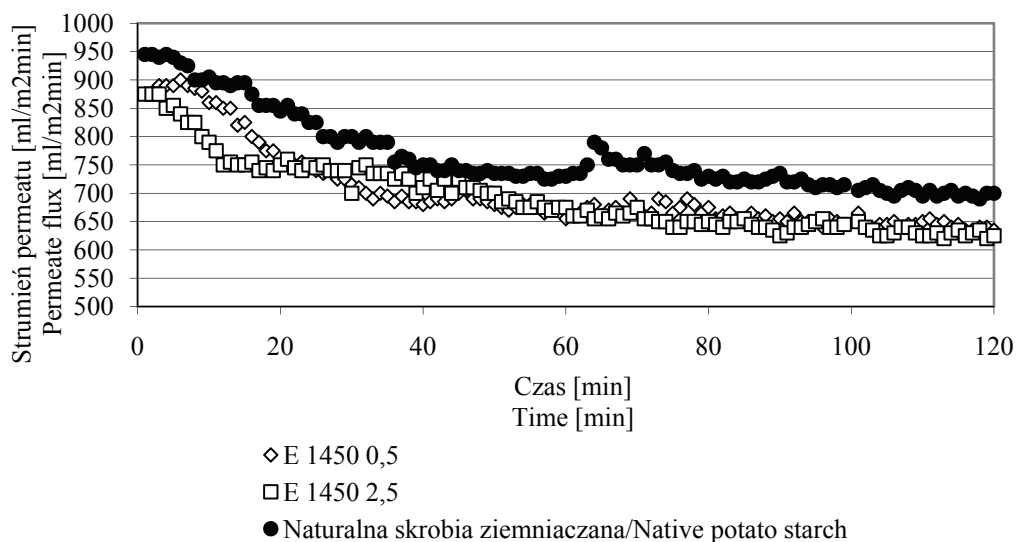


su hydrolizy następowało istotne zapychanie porów membrany, co negatywnie wpływało na wydajność reakcji.



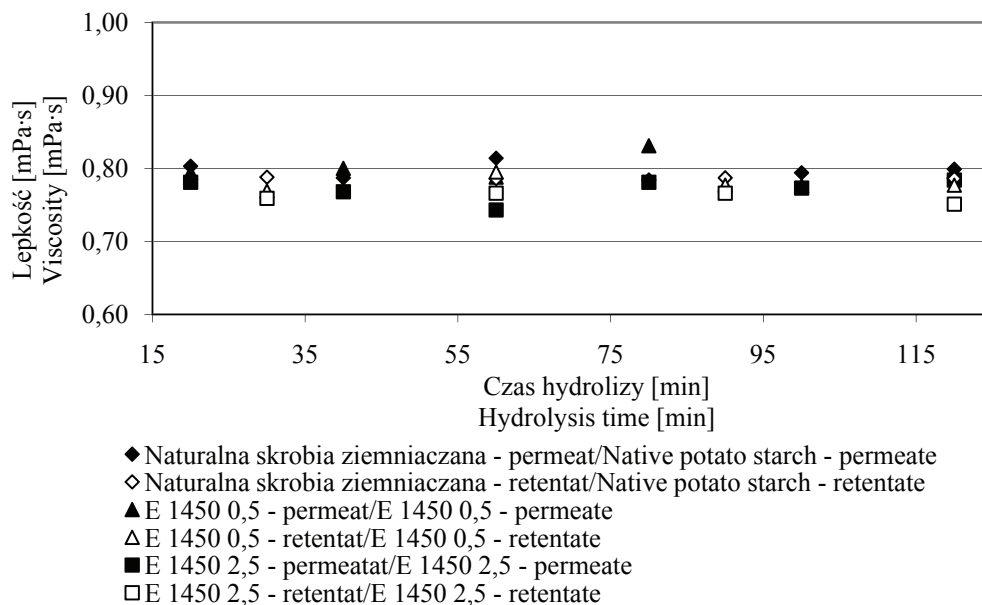
Rys. 1. Zmiana objętościowego strumienia permeatu w czasie procesu hydrolizy różnych typów skrobi preparatem enzymatycznym BAN 480 L.

Fig. 1 Filtrate flux variation during hydrolysis of various starch types with BAN 480 L enzyme.



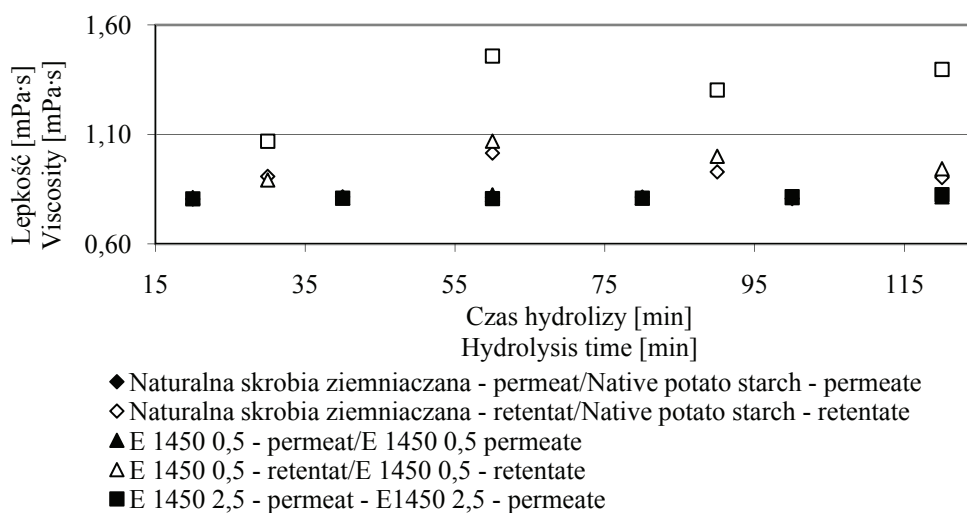
Rys. 2. Zmiana objętościowego strumienia permeatu w czasie procesu hydrolizy różnych typów skrobi preparatem enzymatycznym FUNGAMYL 800 L.

Fig. 2. Filtrate flux variation during hydrolysis of various starch types with FUNGAMYL 800 L enzyme.



Rys. 3. Zmiana lepkości frakcji permeatów i retentatów podczas hydrolizy preparatem enzymatycznym BAN 480 L.

Fig. 3. Variation of permeates and retentates viscosity during hydrolysis of various starch types with BAN 480 L enzyme.



Rys. 4. Zmiana lepkości frakcji permeatów i retentatów podczas hydrolizy preparatem enzymatycznym FUNGAMYL 800 L.

Fig. 4. Variation of permeates and retentates viscosity during hydrolysis of various starch types with FUNGAMYL 800 L enzyme.

Podobnego typu zależności można stwierdzić, analizując dane dotyczące zawartości suchej substancji we frakcjach permeatów i retentatów (tab. 1 i 2). Zawartość suchej masy we wszystkich retentatach (tab. 2) była w miarę stała i kształtowała się na poziomie około 5%. W przypadku frakcji permeatów uzyskanych w wyniku reakcji z zastosowaniem preparatu FUNGAMYL 800 L (tab. 2) zawartość suchej substancji ukształtowała się na poziomie około 2%, czyli na znacznie niższym poziomie niż w przypadku hydrolizy prowadzonej z udziałem enzymu BAN 480 L – około 3%. Wyniki te potwierdzają występowanie foulingu membrany przy zastosowaniu preparatu enzymatycznego FUNGAMYL 800 L.

Tabela 1

Zawartość suchej substancji [%] we frakcjach permeatów w toku hydrolizy skrobi.  
Dry matter content [%] in permeate fractions during hydrolysis of starch.

Czas [min] Time [min]	BAN 480 L			FUNGAMYL 800 L		
	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch
30	4,4	4,6	4,7	4,0	4,9	5,1
60	5,4	5,9	5,7	5,6	6,5	6,3
90	5,0	5,5	3,4	5,0	6,5	4,6
120	3,8	4,3	3,2	4,6	5,9	4,5

Tabela 2

Zawartość suchej substancji [%] we frakcjach retentatów w toku hydrolizy skrobi.  
Dry matter content [%] in retentate fractions during hydrolysis of starch.

Czas [min] Time [min]	BAN 480 L			FUNGAMYL 800 L		
	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch
30	19,1	18,6	22,9	23,7	20,3	21,1
60	17,8	15,9	20,0	17,4	16,2	20,1
90	19,4	16,4	24,2	21,6	17,1	26,8
120	23,6	19,4	18,3	22,4	19,0	26,4

Zastosowanie różnych preparatów enzymatycznych skutkowało również uzyskaniem produktów różniących się istotnie stopniem scukrzenia (tab. 3 i 4). Permeaty otrzymane na drodze hydrolizy przy użyciu enzymu FUNGAMYL 800 L cechowały

się wyższym poziomem DE w porównaniu z permeatami uzyskanymi podczas reakcji z zastosowaniem preparatu BAN 480 L. Właściwość ta została zaobserwowana w przypadku soli sodowych oktenylobursztynianu skrobiowego (niezależnie od stopnia podstawienia grupami funkcyjnymi) i nie była tak wyraźna w przypadku skrobi naturalnej. Natomiast stopień scukrzenia wszystkich zbadanych próbek retentatów, niezależnie od zastosowanego preparatu enzymatycznego kształtował się na stosunkowo stałym poziomie.

Tabela 3

Stopień scukrzenia [DE] frakcji retentatów w toku hydrolizy skrobi.

Variations of dextrose equivalent [DE] of retentate fractions during hydrolysis of starch.

Czas [min] Time [min]	BAN 480 L			FUNGAMYL 800 L		
	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch
20	13,5	15,2	18,4	20,9	18,9	18,7
40	14,3	17,6	19,8	21,8	17,9	17,0
60	16,5	17,5	24,2	20,5	21,9	21,1
80	18,7	18,5	26,4	23,1	23,6	22,0
100	22,1	19,9	23,5	26,8	24,3	27,4
120	21,3	24,3	26,1	27,7	26,7	27,8

Tabela 4

Stopień scukrzenia [DE] frakcji permeatów w toku hydrolizy skrobi.

Variations of dextrose equivalent [DE] of permeate fractions during hydrolysis of starch.

Czas [min] Time [min]	BAN 480 L			FUNGAMYL 800 L		
	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch
20	1,8	2,5	2,6	1,3	1,3	1,6
40	2,6	3,3	3,3	1,7	2,0	2,0
60	3,1	3,8	3,9	2,1	2,2	2,0
80	3,1	4,0	2,9	2,0	2,1	2,4
100	2,8	3,0	2,2	1,9	2,1	2,1
120	2,3	2,3	2,1	1,9	1,9	2,1

Analiza danych dotyczących wartości uzyskanych stopni scukrzenia (tab. 3 i 4) wykazała, że podstawienie skrobi grupami oktenylobursztynowymi nie wpływało istotnie na efektywność reakcji hydrolizy, aczkolwiek zaobserwowano tu pewne różnice związane z rodzajem zastosowanego enzymu. Dane literaturowe dotyczące podatności na hydrolizę enzymatyczną skrobi modyfikowanych chemicznie są nieliczne, a niekiedy nawet sprzeczne. Uważa się, że fosforany skrobiowe wykazują zmniejszoną podatność na hydrolizę  $\alpha$ -amylazami, wskutek inhibicji enzymów przez grupy fosforanowe, przy czym stopień inhibicji jest związany wprost ze stopniem podstawienia skrobi [16]. Z drugiej strony wysoko podstawione octany skrobiowe, formujące termoplastyczne filmy ulegają degradacji mieszaniną  $\alpha$ - oraz  $\beta$ -amylazy [10]. W odniesieniu do soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego postulowano, że może stanowić ona preparat skrobi wolno trawionej [19]. Dotychczasowe badania dotyczące hydrolizy skrobi modyfikowanych w reaktorze membranowym wskazują, że obecność grup karboksylowych nie wpływa negatywnie na efektywność hydrolizy [4-6]. Wyższa zawartość grup acetylowych powoduje jednak nieznaczne zmniejszenie stopnia scukrzenia hydrolizatów skrobi acetylowanej [7]. Uzyskane w toku opisywanego eksperymentu rezultaty wskazują, że w przypadku zastosowania preparatu enzymatycznego FUNGAMYL o pochodzeniu pleśniowym nie stwierdzono żadnego wpływu stopnia podstawienia grupami oktenylobursztynowymi na stopień scukrzenia. W przypadku zastosowania preparatu enzymatycznego BAN o pochodzeniu bakteryjnym wystąpiło niewielkie zmniejszenie stopnia scukrzenia permeatów związane z obecnością grup oktenylobursztynowych w makrocząsteczce skrobi, jednak nie wykazujące powiązania ze stopniem podstawienia.

Powyższe obserwacje potwierdzają dane uzyskane metodą HPLC. Jak wynika z danych przedstawionych w tab. 5. skład cukrowy permeatu oraz retentatu był typowy dla hydrolizy  $\alpha$ -amylazą. Niezależnie od stopnia podstawienia hydrolizowanego preparatu grupami oktenylobursztynowymi zaobserwowano w permeacie większy udział cukrów o niższej masie cząsteczkowej (glukoza, maltoza, DP=3) oraz mniejszy udział cukrów wyższych. Świadczy to o prawidłowej pracy membrany, zatrzymującej głównie frakcje o wyższej masie cząsteczkowej. Porównanie danych preparatów o różnym stopniu podstawienia wskazuje, że wyższa zawartość grup oktenylobursztynowych nie powoduje zwiększenia inhibicji  $\alpha$ -amylazy.

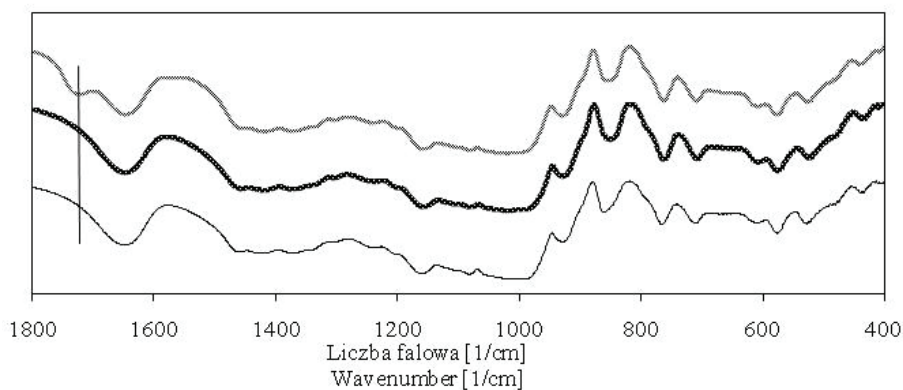
Dane uzyskane w poprzednich badaniach wykazywały, że właściwości funkcjonalne frakcji permeatów i retentatów hydrolizatów skrobi modyfikowanych chemicznie są zróżnicowane [4 - 7]. W celu wyjaśnienia obserwowanych wcześniej różnic podjęto badania strukturalne otrzymanych hydrolizatów soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego metodą spektroskopii w podczerwieni (IR). Metoda ta jest niezwykle

Tabela 5

Zawartość poszczególnych sacharydów w otrzymanych frakcjach permeatów oraz retentatów w toku hydrolizy z preparatem enzymatycznym BAN 480 L.

Individual saccharides content in the collected fractions of permeates and retentates obtained in hydrolysis process with BAN 480 L.

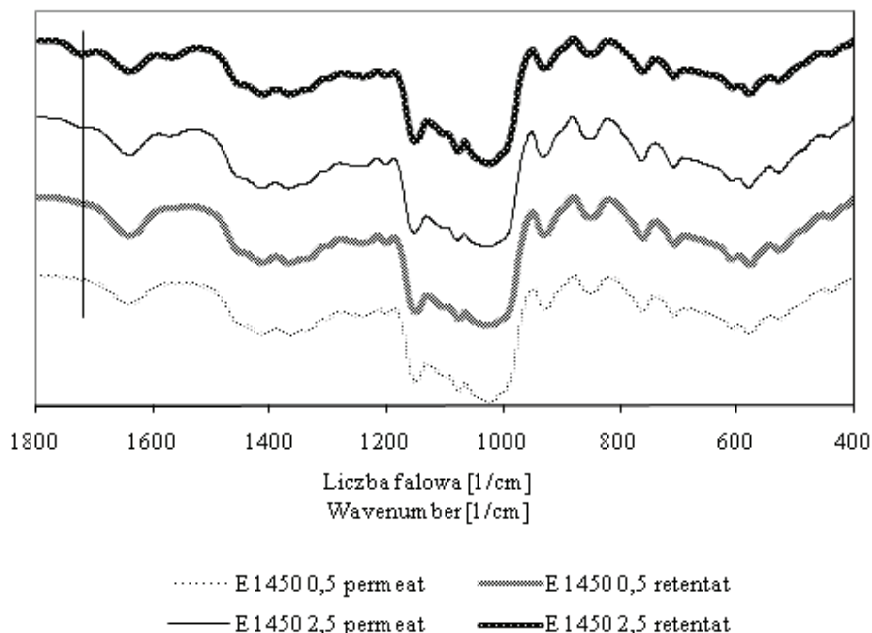
Rodzaj sacharydu Saccharide type	Zawartość poszczególnych sacharydów [%] Individual saccharides content [%]			
	E1450 0,5% permeat E1450 0,5% permeate	E1450 0,5% retentat E1450 0,5% retentate	E1450 2,5% permeat E1450 2,5% permeate	E1450 0,5% retentat E1450 0,5% retentate
Glukoza Glucose	0,89 ± 0,04	2,01 ± 0,06	2,39 ± 0,07	2,48 ± 0,08
Maltoza Maltose	8,61 ± 0,07	9,78 ± 0,09	13,7 ± 0,11	9,50 ± 0,10
DP=3	14,89 ± 0,12	11,83 ± 0,11	23,8 ± 0,33	8,86 ± 0,11
DP=4	8,23 ± 0,17	5,33 ± 0,15	9,99 ± 0,08	3,05 ± 0,13
DP=5	6,90 ± 0,06	9,89 ± 0,07	9,13 ± 0,09	9,51 ± 0,05
DP=6	22,27 ± 0,27	28,39 ± 0,17	15,8 ± 0,23	18,12 ± 0,26
Cukry wyższe Higher saccharides	38,08 ± 0,36	32,72 ± 25	25,33 ± 0,032	48,6 ± 0,59



— Naturalna skrobia ziemniaczana/Native potato starch

Rys. 5. Widma w podczerwieni handlowych preparatów skrobiowych.

Fig. 5. Infrared spectra of commercial starch preparations.



Rys. 6. Widma w podczerwieni produktów hydrolizy enzymatycznej soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego E 1450 w recykulacyjnym reaktorze membranowym.

Fig. 6. Infrared spectra of enzymatic hydrolysis products of sodium starch octenylsuccinate E1450 in continuous recycle membrane reactor.

użytecznym narzędziem badania zmian strukturalnych różnego typu związków organicznych, szczególnie w aspekcie tworzenia się (bądź zanikania) nowych grup funkcyjnych [20]. Przedstawione na rys. 5. widma w podczerwieni naturalnej skrobi ziemniaczanej oraz maltodekstryny niskoscukrzonowej nie wykazywały żadnych różnic zarówno w paśmie widm funkcyjnych ( $3700\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ ), jak również w paśmie daktyloskopowym ( $1300\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ ). W przypadku handlowego preparatu soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego (E 1450) zaobserwowano pasmo przy długości fali  $1718\text{ cm}^{-1}$  odpowiadające drganiom rozciągającym grupy  $\text{C}=\text{O}$ . Pasma grup karbonylowych występujące w zakresie  $1900\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$  odznacza się dużą intensywnością, co ułatwia jego rozpoznanie i dzięki temu nadaje mu dużą wartość diagnostyczną [20]. Umiarkowana intensywność pasma  $1718\text{ cm}^{-1}$ , występująca na widmach doświadczalnych świadczy o niewysokim stopniu podstawienia badanego preparatu. Należy podkreślić, że zgodnie z zaleceniami połączonego Komitetu Ekspertów FAO/WHO maksymalny, dopuszczalny poziom zawartości grup oktenylobursztynowych wynosi 2,5% [1]. W przypadku produktów hydrolizy soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego otrzymanych w reaktorze membranowym (rys. 6) intensywność pasma  $1718\text{ cm}^{-1}$  była znacznie niższa. Permeat otrzymany w toku hydrolizy E 1450 o zawartości 0,5% grup

modyfikujących nie wykazywał praktycznie absorpcji przy  $1718\text{ cm}^{-1}$ , podczas gdy w przypadku retentatu obserwowano jedynie bardzo subtelne załamanie linii absorpcji. Podobnie znikome zmiany w widmie IR otrzymano w przypadku filtratu uzyskanego w toku hydrolizy E 1450 o zawartości 2,5% grup modyfikujących. Jedynie retentat uzyskany z hydrolizy soli sodowej oktenylobursztyninau skrobiowego o zawartości 2,5% grup modyfikujących wykazywał podobny poziom absorpcji przy  $1718\text{ cm}^{-1}$ , jak handlowy preparat E 1450. Powyższe dane wskazują, że cząsteczki zawierające modyfikujące grupy oktenylobursztynowe są do pewnego stopnia zatrzymywane przez zastosowaną membranę ultrafiltracyjną. W paśmie daktyloskopowym nie zaobserwowano poważniejszych różnic pomiędzy widmami przedstawionym na rys. 5 i 6.

### Wnioski

1. Hydrodynamiczne właściwości układu reaktora membranowego są uwarunkowane przede wszystkim właściwościami reologicznymi frakcji retentatu.
2. Zastosowanie preparatu BAN 480 L pozwala na uzyskanie stabilnych parametrów hydrodynamicznych układu i wyeliminowanie zjawiska foulingu. W przypadku preparatu FUNGAMYL 800 L występuje zmniejszenie strumienia permeatu związane z większą lepkością frakcji retentatu.
3. Zastosowanie preparatu BAN 480 L pozwala na uzyskanie wyższej wydajności reaktora, co manifestuje się wyższymi zawartościami suchej substancji we frakcji permeatu oraz wyższą wartością strumienia permeatu.
4. Zastosowanie preparatu FUNGAMYL 800 L powoduje otrzymanie produktu o wyższym stopniu scukrzenia.
5. Obecność grup oktenylobursztynowych nie powoduje inhibicji działania  $\alpha$ -amylazy.
6. Frakcje permeatu i retentatu różnią się zawartością grup oktenylobursztynowych, co wywołane jest zatrzymywaniem przez zastosowaną membranę ultrafiltracyjną cząsteczek podstawionych grupami modyfikującymi.

*Pracę zrealizowano w ramach grantu KBN nr 2 P06T 052 27. Autorzy dziękują Centralnemu Laboratorium Przemysłu Ziemniaczanego w Poznaniu za pomoc techniczną w wykonaniu niektórych badań. Była ona prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Anonim: Compendium of Food Additive Specifications. Addendum 5. 1997. FAO Food and Nutrition Paper - 52 Add. 5. [www.fao.org/docrep/W6355E/w6355e0o.htm](http://www.fao.org/docrep/W6355E/w6355e0o.htm).
- [2] Bao J., Xing J., Philips D.L., Corke H.: Physical properties of octenyl succinic anhydride modified rice, wheat and potato starches. J. Agric. Food Chem., 2003, **51**, 2283-2287.




- [3] Garti N.: What can nature offer from an emulsifier point of view: trends and Progress? *Colloids and Surfaces. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 1999, **152**, 125-146.
- [4] Kędziora P., Le Thanh J., Lewandowicz G., Prochaska K.: An attempt to application of continuous recycle membrane reactor for the hydrolysis of oxidised starches. *J. Membr. Sci.*, 2006, **282**, 14-20.
- [5] Kędziora P., Prochaska K., Lewandowicz G.: Hydroliza enzymatyczna w bioreaktorze membranowym pochodnych skrobi ziemniaczanej modyfikowanej chemicznie. *Przem. Chem.*, 2006, **85/8-9**, 1280-1283.
- [6] Le Thanh J., Prochaska K., Lewandowicz G.: Hydroliza enzymatyczna skrobi utlenionej w bioreaktorze membranowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2005, **2 (43), Supl.**, 222 – 234.
- [7] Le Thanh J., Lewandowicz G., Prochaska K., Kędziora P., Ciupińska D., Golemska E.: Hydroliza enzymatyczna skrobi acetylowanych w bioreaktorze membranowym i ocena właściwości adsorpcyjnych otrzymanych produktów. W: Konieczny K., Bodzek M. (pod red.): *Monografie Komitetu Inżynierii Środowiska PAN vol. 36: Membrany i Procesy Membranowe w Ochronie Środowiska*. Gliwice 2006, s. 113-121.
- [8] Lopez-Ulibarri R., Hall G.M.: Saccharification of cassava flour starch in a hollow-fibre membrane reactor. *Enzyme Microb. Tech.* 1997, **21**, 398-404.
- [9] Paolucci-Jeanjen D., Belleville M.P., Rios G.M., Zakhia N.: The effect of enzyme concentration and space time on the performance of a continuous recycle membrane reactor for one step starch hydrolysis. *Biochem. Eng. J.*, 2000, **5**, 17-22.
- [10] Parandosh S., Hudson S.M.: The acetylation and enzymatic degradation of starch films, *J. Appl. Polym. Sci.*, 1993, **48**, 787-791.
- [11] PN-EN ISO 1666:2000. Skrobia. Oznaczanie wilgotności. Metoda suszarkowa.
- [12] PN-78/A-74701. Hydrolizaty skrobiowe (krochmalowe). Metody badań.
- [13] Prochaska K., Kędziora P., Le Thanh J., Lewandowicz G.: Surface properties of enzymatic hydrolysis products of octenylsuccinate derivatives. *Food Hydrocoll.*, 2007, **21**, 654-659.
- [14] Röper H.: Application of starch and its derivatives. *Carbohydr. Eur.*, 1996, **15**, 22-30.
- [15] Shogren R.A., Wiswanathan A., Feler F., Gross R.A.: Distribution of octenyl succinate groups in octenyl succinic anhydride modified waxy maize starch. *Starch/Stärke*, 2000, **52**, 196-204.
- [16] Sitohy M.Z., Ramadan M.F.: Degradability of different phosphorylated starches and thermoplastic films prepared from corn starch phosphomonoesters. *Starch/Stärke*, 2001, **53**, 317-322.
- [17] Słomińska L., Grajek W., Grześkowiak A., Goczałek M.: Enzymatic starch saccharification In an ultrafiltration membrane reaktor. *Starch/Stärke*, 1998, **50 (9)**, 390-396.
- [18] Słomińska L., Grześkowiak A., Jarosławski L., Zielonka R.: Enzymatic hydrolysis of maltodextrin into maltose syrup In a continuous membrane reactor. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **11/51**, 19-22.
- [19] Wolf B.W., Bauer L.L., Fahey G.C. Jr.: Effects of chemical modification on in vitro rate and extent of food starch digestion: An attempt to discover a slowly digested starch. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 4178-4183.
- [20] Zieliński W., Rajcy A.: *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*. WNT, Warszawa 2000.

#### ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SODIUM STARCH OCTENYLSUCCINATE IN CONTINUOUS RECYCLE MEMBRANE REACTOR

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

Sodium starch octenylsuccinate preparations are attracting growing attention of food technologists as potential additives thanks to their emulsifying properties. Technologically, they can be applied as low

viscous hydrolysis products. Unfortunately, the traditional two-step enzymatic process is very time-consuming and inefficient. Thus, it seems reasonable to search for alternative methods of hydrolysis process e.g. using a membrane reactor. The aim of the paper was to study the possibility of the application of a continuous recycle membrane reactor with ultrafiltration module for the sodium starch octenylsuccinates enzymatic hydrolysis. Two laboratory preparations of sodium starch octenylsuccinate containing 0.5% and 2.5% of octenylsuccinate groups respectively, and two enzyme preparations produced by Novozymes, BAN 480 L and FUNGAMYL 800 L were used in the study. The hydrolyses were conducted in the continuous recycle membrane reactor with ceramic ultrafiltration module. Membrane performance and reactor stability, as well as dry matter content, dextrose equivalent (DE), individual saccharides content and viscosity of permeate and retentate fractions were determined. Infrared spectra of the obtained products were also detected. It was found that the application of the membrane reactor enables an efficient hydrolysis of sodium starch octenylsuccinate. The application of enzyme preparation BAN 480 L provides higher efficiency of the reactor, in terms of higher levels of dry matter content in permeate fractions and higher values of permeate flux, in comparison with FUNGAMYL 800 L. Membrane performance and reactor stability are determined primarily by the rheological properties of retentate fractions. Permeate and retentate fractions differ from each other in terms of octenylsuccinate groups content. It is caused by the retention of molecules which contain modifying groups by the ultrafiltration membrane.

**Key words:** starch, membrane reactor, enzymatic hydrolysis, sodium starch octenylsuccinate 

MAŁGORZATA KAPELKO, TOMASZ ZIĘBA

## WŁAŚCIWOŚCI EKSTRUDOWANEJ SKROBI ZIEMNIACZANEJ MODYFIKOWANEJ GLICYNĄ

### Streszczenie

Celem pracy było określenie właściwości preparatów skrobiowych otrzymanych ze skrobi ziemniaczanej ekstrudowanej w różnych wartościach temperatury, poddanych prażeniu z dodatkiem i bez dodatku glicyny. Badane preparaty skrobiowe różniły się swoimi właściwościami, a kierunek i wielkość tych zmian uzależnione były od temperatury ekstruzji oraz zastosowanego procesu prażenia lub prażenia z glicyną. Preparaty poddane prażeniu były mniej podatne na działanie amyloglukozydazy i tworzyły mniej lepkie kleiki niż preparaty nieprażone. Prażenie z glicyną preparatów skrobi ekstrudowanej, w porównaniu z preparatami poddanymi tylko prażeniu, powodowało ich znaczne pociemnienie, zmniejszenie rozpuszczalności i wodochłonności, obniżenie temperatury końcowej kleikowania i lepkości sporządzanych kleików oraz zmniejszenie podatności skrobi na działanie amyloglukozydazy.

**Słowa kluczowe:** skrobia ziemniaczana, ekstruzja, modyfikacja, glicyna

### Wstęp

Ekstruzja jest procesem mechaniczno-termicznym, w którym w krótkim czasie skrobia zostaje przekształcona w plastyczną masę, a następnie na skutek gwałtownego obniżenia ciśnienia i odparowania wody powstaje produkt o charakterystycznej teksturze. Podczas tego procesu zostaje naruszona struktura gałeczek, zmienia się stopień krystaliczności i jej przestrzenne uporządkowanie. Skrobia ekstrudowana charakteryzuje się podwyższoną rozpuszczalnością i wodochłonnością oraz tworzy kleiki o małej lepkości w porównaniu z kleikami sporządzanymi ze skrobi naturalnej [8]. Zmiany te są tym większe im wyższa jest temperatura procesu i mniejsza wilgotność surowca przed ekstruzją [1]. Ekstruzja wpływa również na niewielkie zmniejszenie podatności preparatów skrobiowych na działanie amylaz [20]. Preparaty skrobiowe niecałkowicie trawione w jelicie cienkim zdrowego człowieka zaliczane są do tzw. skrobi odpornej (RS). Jej ilość można zwiększać poprzez odpowiednie preparowanie żywności lub

poprzez dodatek preparatów skrobi odpornej np. do produkcji chleba, produktów ekstrudowanych czy pieczywa cukierniczego [22]. Jednym ze sposobów zwiększenia odporności na amylazy jest prażenie z aminokwasami [6]. Aminokwasy w wyniku ogrzewania ulegają reakcji z cukrami redukującymi, grupa karbonylowa cukrów łączy się z grupą aminową aminokwasów, powstałe produkty ulegają przegrupowaniu Amadori, w przypadku gdy w reakcji uczestniczą aldozy, lub przegrupowaniu Heyensa w przypadku ketoz, dalsze reakcje prowadzą do powstania produktów o brunatnym zabarwieniu [17]. Powstałe związki Maillarda utrudniają dostęp amylaz do łańcucha skrobiowego [9]. Związki te wpływają na rozpuszczalność i lepkość skrobi oraz obniżają jej podatność na działanie enzymów amylopolitycznych [10]. Dlatego połączenie modyfikacji fizycznych – ekstruzja oraz chemicznych – prażenie z glicyną może doprowadzić do otrzymania preparatów skrobiowych o zmniejszonej podatności na działanie enzymów amylopolitycznych.

Celem pracy było określenie właściwości preparatów skrobiowych otrzymanych ze skrobi ziemniaczanej ekstrudowanej w różnych wartościach temperatury, poddanych prażeniu z dodatkiem i bez dodatku glicyny.

### Material i metody badań

Skrobię ziemniaczaną (PEPEES Łomża) o wilgotności 25% poddawano ekstruzji w jednoślismakowym ekstruderze laboratoryjnym DN 20 firmy Brabender w temp. 50-60-70°C (E70), 100-110-120°C (E120) i 150-160-170°C (E170) – w nawiasach podano symbole używane w dalszej części pracy.

Otrzymane preparaty skrobi ekstrudowanej dzielono na trzy części, jedną pobierano bezpośrednio do analiz, drugą prażono (p), a trzecią prażono z glicyną (g). Glicynę (AppliChem) (20 g glicyny w 102 g wody destylowanej) dokładnie mieszano z 200 g (w przeliczeniu na suchą masę) modyfikowanego materiału, suszono w temp. 60°C przez 12 godz. i prażono w temp. 160°C przez 3 godz. Następnie skrobię przemywano kolejno trzema porcjami 60% i jedną porcją 96% alkoholu etylowego. Modyfikaty suszono w temp. 20 ± 1°C i przesiewano przez sito o wielkości oczek 400 µm.

W otrzymanych preparatach skrobi ekstrudowanej (E70, E120, E170), ekstrudowanej i prażonej (E70p, E120p, E170p) lub ekstrudowanej i prażonej z glicyną (E70g, E120g, E170g) oznaczano:

- różnicę barwy ( $\Delta E$ ) preparatów skrobiowych, wyliczaną z wyróżników skali Huntera ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) oznaczonych za pomocą chronometru Minolta CR-200 w odniesieniu do skrobi naturalnej (SN).  $\Delta E$  wyliczono z równania:

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2} \quad [2];$$

- charakterystykę termiczną kleikowania za pomocą różnicowego kalorymetru skaningowego DSC 822E firmy Mettler Toledo, w zakresie temp. 25–100°C i szybkości grzania 10°C/min. Analizę prowadzono w naczynkach ME51119872, stosując ok. 30

- mg naważki preparatów skrobi. Do odważonych próbek dodawano wodę redestylowaną w stosunku 3:1 w odniesieniu do zawartości suchej masy preparatów. Po zamknięciu naczynek, próbki kondycjonowano przez 24 godz. w temp.  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , a następnie dokonywano pomiaru wobec pustego naczynka referencyjnego;
- wodochłonność i rozpuszczalność w wodzie w temp. 30 lub  $80^\circ\text{C}$  [16];
  - lepkość  $\eta_{50}$  5% kleików w temp.  $50^\circ\text{C}$  odczytywaną z krzywej płynięcia ( $\gamma = 0-300$ ) wyznaczonej za pomocą wiskozymetru rotacyjnego RS 100 firmy Haake przy szybkości ścinania  $0-50 \text{ s}^{-1}$ , stosując jako element pomiarowy współosiowe cylindry (Z38) z pojedynczą szczeliną;
  - podatność preparatów na działanie amyloglukozydazy (amigase firmy Genecor). Temp. hydrolizy wynosiła  $37^\circ\text{C}$ , a stężenie enzymu dobrano tak, by całkowite scukrzenie skleikowanej skrobi naturalnej nastąpiło po 120 min procesu. Pomiar wykonywano po 20 i 120 min procesu oraz po całkowitym scukrzeniu preparatów. Ilość wolnej glukozy oznaczano kolorymetrycznie przy długości fali  $\lambda = 500 \text{ nm}$ , stosując odczynnik do pomiaru stężenia glukozy firmy Biosystem, zawierający oksydazę glukozową i peroksydazę.

## Wyniki i dyskusja

Zastosowane w doświadczeniu modyfikacje fizyczne i chemiczne spowodowały zmianę barwy preparatów skrobiowych (tab. 1). Prażenie skrobi ekstrudowanej powodowało jej niewielkie pociemnienie. Natomiast preparaty prażone z glicyną charakteryzowały się barwą ciemnożółtą do brązowej, co znalazło odzwierciedlenie we współczynniku  $\Delta E$  wynoszącym 56,6–60,0%. Tak znaczne pociemnienie następowało w wyniku powstawania charakteryzujących się brunatnym zabarwieniem związków Maillarda [9].

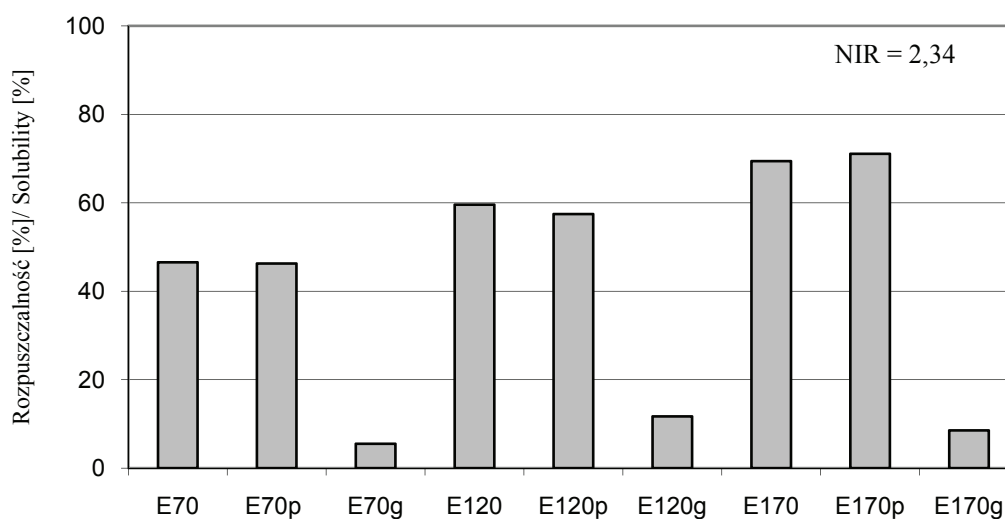
Rozpuszczalność w wodzie skrobi ekstrudowanej zależy głównie od temperatury procesu [8], wilgotności surowca [21], rodzaju skrobi [3] oraz temperatury pomiaru. W przeprowadzonym doświadczeniu oznaczona na zimno (temp.  $30^\circ\text{C}$ ) rozpuszczalność skrobi ekstrudowanej oraz ekstrudowanej i prażonej nie różniła się istotnie i wzrastała wraz ze wzrostem temperatury procesu ekstruzji (rys. 1). Prażenie skrobi ekstrudowanej z dodatkiem glicyny spowodowało wielokrotne zmniejszenie jej rozpuszczalności w wodzie. Rozpuszczalność skrobi ekstrudowanej prażonej z glicyną wahała się od 5–11%.

Podwyższenie temperatury pomiaru do  $80^\circ\text{C}$  spowodowało wzrost rozpuszczalności w wodzie wszystkich badanych preparatów (rys. 2). Rozpuszczalność skrobi ekstrudowanej wynosiła 76–90%, skrobi ekstrudowanej i prażonej 64–83 % i była tym większa im większa była temperatura procesu ekstruzji. Natomiast rozpuszczalność w wodzie o temp.  $80^\circ\text{C}$  preparatów modyfikowanych glicyną wynosiła około 60% i nie zależała od temperatury procesu ekstruzji.

Tabela 1

Barwa preparatów skrobiowych w odniesieniu do skrobi naturalnej.  
Colour of starch preparations in respect of native starch.

Rodzaj preparatu Preparation type	Różnica barwy Colour difference $\Delta E$ [%]
E70	$5,5 \pm 0,2$
E70p	$6,5 \pm 0,1$
E70g	$57,2 \pm 0,9$
E120	$4,8 \pm 0,1$
E120p	$5,4 \pm 0,1$
E120g	$56,6 \pm 0,1$
E170	$4,1 \pm 0,1$
E170p	$3,3 \pm 0,1$
E170g	$60,1 \pm 0,2$

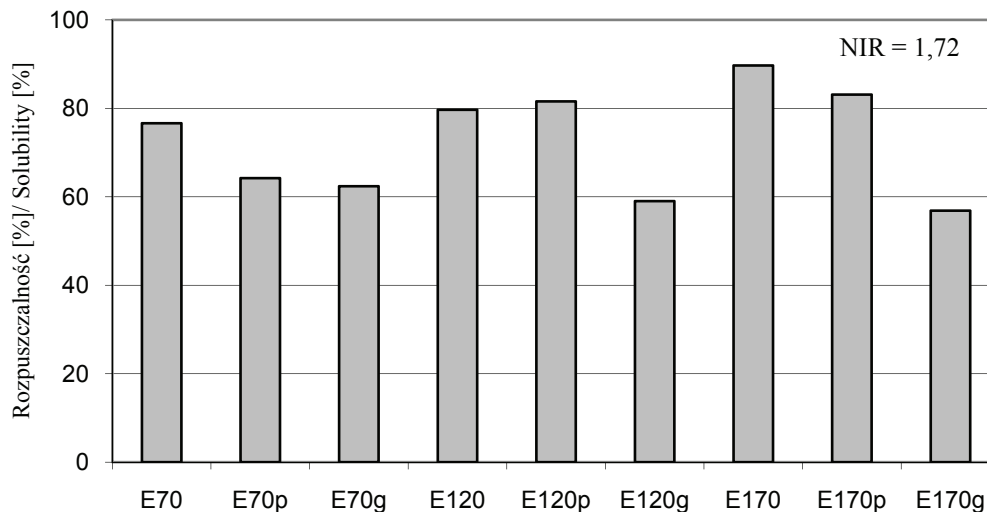


Rys. 1. Rozpuszczalność w wodzie preparatów skrobiowych w temperaturze 30°C.

Fig. 1. Water solubility of starch preparations determined at 30°C.

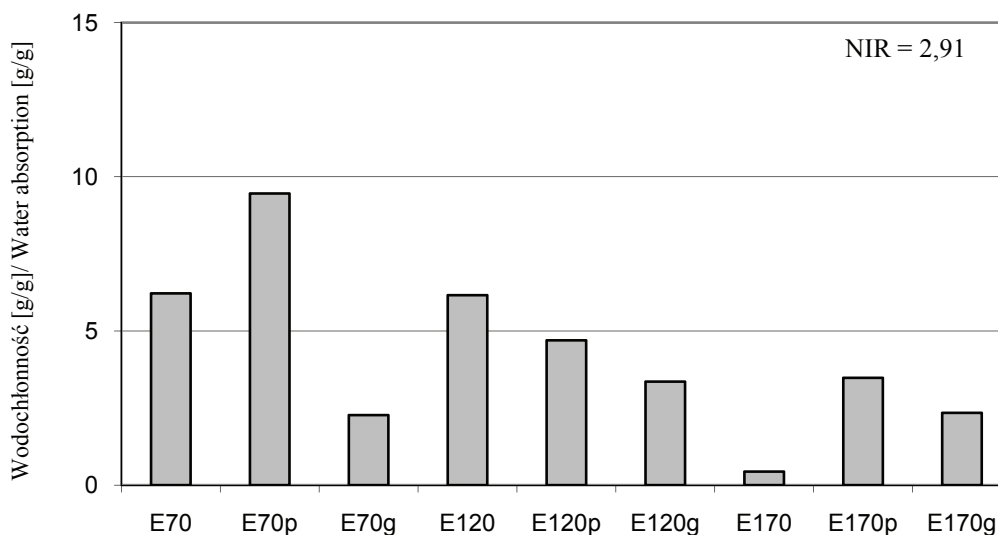
Wodochłonność preparatów skrobi ekstrudowanej, podobnie jak rozpuszczalność, zależy od temperatury ekstruzji, temperatury pomiaru, rodzaju skrobi oraz rodzaju przeprowadzonych modyfikacji chemicznych [3]. Oznaczona na zimno wodochłonność preparatów skrobi ekstrudowanej oraz ekstrudowanej i prażonej wahała się w szero-

kich granicach 0,4 – 9,5 g wody na 1 g suchej substancji skrobi i była tym mniejsza im niższa była temperatura procesu ekstruzji. Wodochłonność preparatów modyfikowanych glicyną wynosiła około 2,3 – 3,4 g wody na 1 g suchej substancji skrobi i nie zależała od temperatury procesu ekstruzji (rys. 3).



Rys. 2. Rozpuszczalność w wodzie preparatów skrobiowych w temperaturze 80°C.

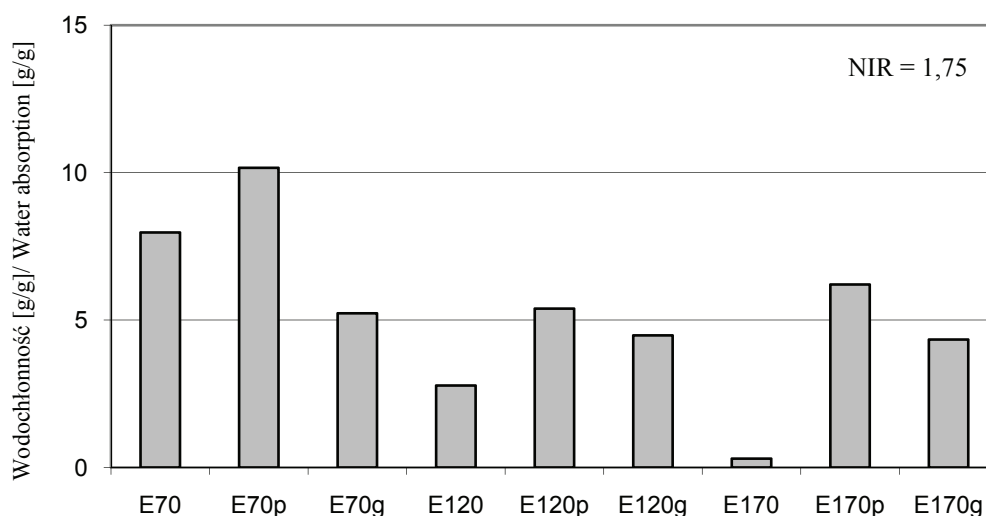
Fig. 2. Water solubility of starch preparations determined at 80°C.



Rys. 3. Wodochłonność preparatów skrobiowych w temperaturze 30°C.

Fig. 3. Water absorption of starch preparations determined at 30°C.

Podwyższenie temperatury pomiaru spowodowało wzrost wodochłonności preparatów o 0,7–1,1 g wody na 1 g suchej substancji skrobi, za wyjątkiem preparatów otrzymanych ze skrobi ekstrudowanej w temperaturze 120 i 170°C (E120 i E170). Wodochłonność skrobi ekstrudowanej wynosiła 0,3–8,0 g/g, skrobi ekstrudowanej modyfikowanej glicyną 4,3–5,2 g/g i była tym mniejsza im wyższa była temperatura procesu ekstruzji. Wodochłonność preparatów prażonych nie zależała od temperatury procesu i wynosiła około 5,4–10 g wody na 1 g suchej substancji skrobi (rys. 4).



Rys. 4. Wodochłonność preparatów skrobiowych w temperaturze 80°C.

Fig. 4. Water absorption of starch preparations determined at 80°C.

Temperatura kleikowania, ciepło przemiany i średnie ciepło właściwe kleików skrobiowych opisuje w przeprowadzonych badaniach charakterystyka termiczna DSC (tab. 2). Według danych literaturowych skrobia ziemniaczana kleikuje w zakresie temp. od około 60 do około 70°C, a ciepło przemiany wynosi około 17 J/g [4]. W pracy średnim ciepłem właściwym przemiany nazwano ilość ciepła pobieraną przez 1 g substancji podczas przemiany fazowej zachodzącej w czasie ogrzewania tej substancji o 1°C. W literaturze wielkość ta jest określana jako PHI (peak height index) [18]. Z danych literaturowych wiadomo, że na wielkość ciepła przemiany wpływa niszczenie struktury podwójnych helis. Natomiast na zakres zmiany temperatury, wpływający odwrotnie proporcjonalnie na wielkość średniego ciepła właściwego przemiany, wpływ ma raczej niszczenie struktury krystalicznej skrobi [18]. Fizyczna modyfikacja skrobi (ekstruzja) powodowała znaczne rozszerzenie zakresu temperatury tworzenia kleiku, a jednocześnie następowało obniżenie temperatury początkowej i ciepła prze-



miany oraz podwyższenie temperatury końcowej tego procesu. Największym zakresem temperatury przemiany fazowej charakteryzował się preparat otrzymany ze skrobi ekstrudowanej w temp. 70°C (44,0–80,8°C). Ciepło tworzenia kleików preparatów zmniejszyło się kilkakrotnie, w przypadku preparatu E70 do 3,5 J/g, preparatu E120 do 3,3 J/g, a preparatu E170 do 3,2 J/g. Prażenie z glicyną, w porównaniu z preparatami tylko prażonymi, powodowało nieznaczne podwyższenie temperatury początkowej tworzenia kleiku oraz obniżenie temperatury końcowej procesu. Ciepło przemiany wahało się w szerokich granicach, od 3,2 J/g do 5,4 J/g. W dostępnej literaturze nie spotkano się z badaniami nad właściwościami termicznymi skrobi modyfikowanej glicyną. Przypuszczać należy, że zaobserwowane w tych preparatach przemiany również związane są z zachodzącą reakcją Maillarda.

Tabela 2

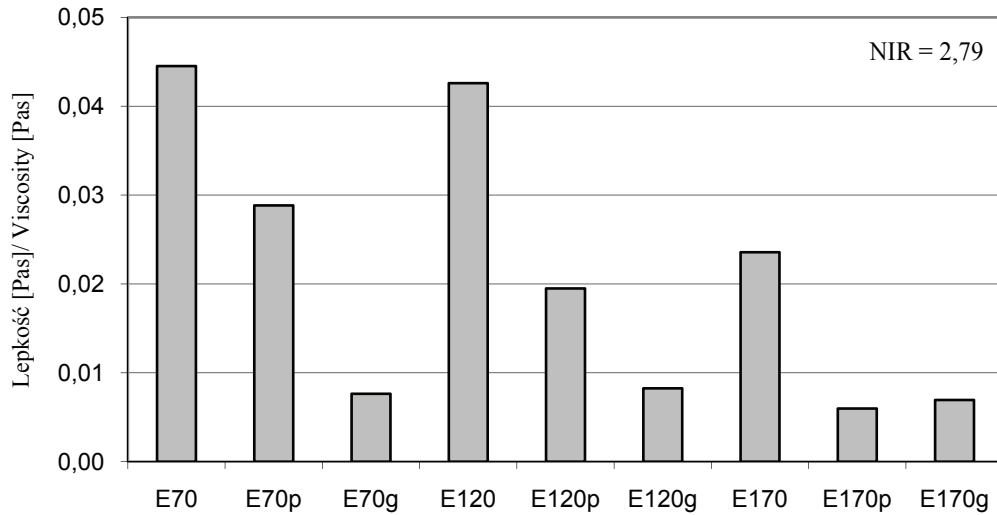
Temperatura kleikowania, ciepło przemiany i średnie ciepło właściwe preparatów skrobiowych wyznaczone z charakterystyki termicznej DSC.

Temperature of gelatinization, heat of transition and mean specific heat of starch preparations determined from DSC thermal characteristics.

Rodzaj preparatu Preparation type	Temperatura początkowa Initial temperature [°C]	Temperatura końcowa Final temperature [°C]	Ciepło przemiany Heat of transition [J/g]	Średnie ciepło właściwe Mean specific heat [J/g*°C]
E70	44,0 ± 0,9	80,8 ± 0,9	3,5 ± 0,1	0,10
E70p	47,0 ± 0,1	81,9 ± 1,1	3,0 ± 0,1	0,09
E70g	47,8 ± 0,5	77,9 ± 0,5	5,4 ± 0,2	0,18
E120	45,9 ± 0,1	81,4 ± 0,3	3,3 ± 0,5	0,09
E120p	47,9 ± 0,1	82,5 ± 0,1	3,7 ± 0,1	0,11
E120g	48,8 ± 0,1	76,4 ± 0,4	3,2 ± 0,3	0,12
E170	48,6 ± 0,3	83,3 ± 0,7	3,2 ± 0,1	0,09
E170p	48,6 ± 0,2	79,9 ± 1,2	4,9 ± 0,2	0,16
E170g	49,9 ± 0,3	78,2 ± 0,4	3,6 ± 0,1	0,13

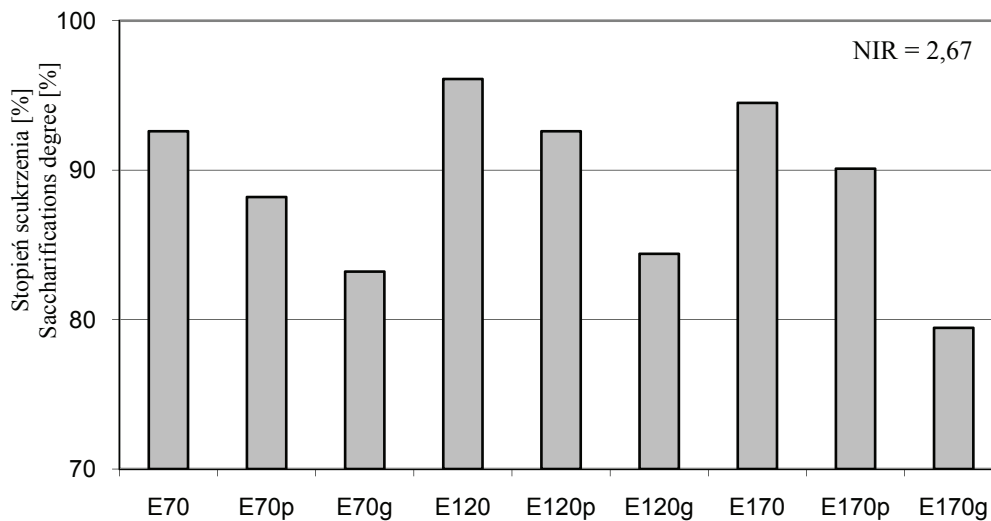
Wyznaczona za pomocą wiskozymetru rotacyjnego lepkość  $\eta_{50}$  5% kleików w temp. 50°C malała wraz ze wzrostem temperatury ekstruzji (rys. 5). Największą lepkością charakteryzował się preparat otrzymany ze skrobi ekstrudowanej w temp. 70°C E70 (0,045 Pa·s), natomiast najmniejszą preparat otrzymany ze skrobi ekstrudowanej w temp. 170°C i poddanej prażeniu E170p (około 0,006 Pa·s). Modyfikacja chemiczna poprzez prażenie z glicyną spowodowała znaczne zmniejszenie lepkości kleików do około 0,008 Pa·s.

Na rys. 6. przedstawiono scukrzanie za pomocą amyloglukozydazy skrobi ekstrudowanej i wytworzonych z niej preparatów. Skrobia ekstrudowana była najbardziej



Rys. 5. Lepkość  $\eta_{50}$  5% kleików skrobiowych w temperaturze 50°C.

Fig. 5. Viscosity  $\eta_{50}$  of 5% starch pastes at a temperature of 50°C.



Rys. 6. Stoień scukrzenia preparatów skrobiowych.

Fig. 6. Saccharifications degree of starch preparations.

podatna na działanie enzymu, ulegała ona hydrolizie w 92,6–96,1%. Prażenie powodowało kilkuprocentowe zmniejszanie podatności skrobi na rozkład enzymatyczny.

Podobną zależność zauważyli inni autorzy [13]. Najmniejszym scukrzeniem, wahającym się od 79,5 do 84,4% charakteryzowały się preparaty skrobi ekstrudowanej prażonej z glicyną. Przepuszczalnie reakcja aminokwasu z węglowodanem blokuje koniec łańcucha skrobiowego, co utrudnia działanie amyloglukozydazy. Zmniejszenie podatności skrobi na amylazy po prażeniu z aminokwasami potwierdzają badania innych autorów [13].

### Wnioski

1. Badane preparaty skrobiowe różniły się właściwościami, a kierunek i wielkość tych zmian uzależnione były od temperatury ekstruzji oraz zastosowanego procesu prażenia lub prażenia z glicyną.
2. Skrobia ekstrudowana poddana prażeniu była mniej podatna na działanie amyloglukozydazy i tworzyła mniej lepkie kleiki niż preparaty nieprażone.
3. Prażenie z glicyną preparatów skrobi ekstrudowanej, w porównaniu z preparatami poddanymi tylko prażeniu, powodowało ich znaczne pociemnienie, podwyższenie temperatury początkowej tworzenia kleiku, zmniejszenie rozpuszczalności i wodochłonności, obniżenie temperatury końcowej tworzenia kleiku i lepkości sporządzanych kleików oraz zmniejszenie podatności skrobi na działanie amyloglukozydazy.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura


- [1] Chinnaswamy R., Hanna M. A., Zobel H. F.: Microstructural, physiochemical, and macromolecular changes in extrusion – Cooked and retrograded corn starch. *Cereal Chem.*, 1989, **34** (5), 415–422.
- [2] Clydesdale F. M.: *Colorometry – Methodology and Applications*. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 1978, **10**, 243-301.
- [3] Fortuna T.: *Badania nad fosforanami skrobiowymi o niskim stopniu podstawienia fosforem*. Rozprawa habilitacyjna nr 188. Zeszyty Naukowe AR Kraków 1994.
- [4] Fredriksson H., Silverio J., Andersson R., Eliasson A.-C., Aman P.: The influence of amylose and amylopectin characteristic on gelatinization and retrogradation properties of different starches. *Carbohydr. Polym.* 1998, 119-133.
- [5] Gawęcki J., Hryniewiecki L.: *Żywność człowieka. Podstawy nauki o żywieniu*. PWN, Warszawa 1998.
- [6] Gryszkin A., Leszczyński W., Maslyk E.: *Properties of Modified Soluble Starch, Starch: From Starch Containing Sources To Isolation Of Starches And Their Applications*. Nova Sci. Publisher, 2004, New York, 57-63.
- [7] Haralampu S.: Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydr. Polym.*, 2000, **41**, 285-292.

- [8] Jamroz J., Ciesielski W., Pielichowski K., Tomasik P.: Extrusion – cooking of potato starch and selected properties of the extrudates. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 1998, **7**, 89.
- [9] Kramhöller B., Pischetsrieder M., Severin T.: Maillard reaction of dextrin and starch. *Lebensmittel – Untersuchung und Forschung*, 1993, **197**, 227–229.
- [10] Kroh L. W., Schumacher B.: Untersuchungen zum Abbau von Maillard – Reaktionsprodukten durch amylolytische Enzyme. *Lebensmittel – Untersuchung und Forschung*, 1996, **203**, 385–390.
- [11] Leszczyński W.: Resistant starch – classification, structure, production. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **13/54**, **SI 1**, 37-50.
- [12] Leszczyński W.: Zmiany właściwości skrobi wywołane działaniem czynników fizycznych. *Mat. IV Letniej Szkoły Skrobiowej*, Kraków 1992, s. 63-75.
- [13] Maslyk E., Leszczyński W., Gryszkin A.: Modification – induced changes in potato starch susceptibility to amylolytic enzyme action. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **12/53**, **SI 1**, 54-56.
- [14] Mercier C.: Effect of extrusion – cooking on potato starch using a twin screw french extruder. *Starch/Stärke*, 1977, **2**, 48–52.
- [15] Obuchowski W., Nawrocka R.: Wpływ warunków procesu ekstruzji na zmiany w składnikach węglowodanowych przetwarzanego surowca. *Biuletyn AR w Poznaniu, Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego*, 1966, **4**, 31–33.
- [16] Richter M., Augustat S., Schierbaum F.: *Ausgewählte Methoden der Stärkechemie*. VEB Fachbuchverlag Leipzig 1968.
- [17] Sikorski Z.: *Chemia żywności*, WNT, Warszawa 2002, s. 125-126, 156.
- [18] Singh J., Singh N.: Studies on the morphological, thermal and rheological properties of starch separated from same Indian potato cultivars. *Food Chem.*, 2001, **75**, 67–77.
- [19] Śmietana Z., Szpendowski J., Soral-Śmietana M., Świgoń J.: Skrobia ziemniaczana ekstruzyjnie modyfikowana. *Przem. Spoż.*, 1997, **3**, 13-16.
- [20] Unlu, E., Faller J.F.: Formation of resistant starch by a twin-screw extruder. *Cereal Chem.*, 1998, **75**, 346-350.
- [21] Willett J.L., Shogren R.L.: Processing and properties of extruded starch/polymer foams. *Polymer* 2002, **43**, 5935–5947.
- [22] Yue P., Waring S., Resistant starch in food applications. *Cereal Foods World* 1998, **43**, 690-691.

## THE PROPERTIES OF EXTRUDED POTATO STARCH MODIFIED BY GLICYNE

### S u m m a r y

The aim of the experiment was to determine the properties of potato starch preparations obtained from extruded in different temperatures starch, subjected grilling processes with or without glicyne addition. Starch preparations studied differed in their properties. The direction as well as the largeness of these changes depended on the extrusion temperature and the grilling process, alone or in the presence of glicyne, applied. Grilled preparations occurred less susceptibility on amyloglucosidase action and made pastes of lower viscosity when compared to not grilled preparations. Grilling process of extruded starch in the presence of glicyne caused the significant darkening of such preparations, and also a decrease of their solubility, water holding capacity, final temperature of gelatinization and viscosity of prepared pastes and lower digestibility starch to the activity of amyloglucosidase in the comparison to preparations only grilled.

**Key words:** potato starch, extrusion process, modification, glicyn 

MAŁGORZATA PIECYK, RENATA WALICKA

## WPLYW MODYFIKACJI HYDROTERMICZNEJ NA WŁAŚCIWOŚCI SKROBI WYZOŁOWANEJ Z WYBRANYCH NASION ROŚLIN STRĄCZKOWYCH

### Streszczenie

W pracy otrzymano preparaty skrobiowe ze zmielonych i obłuszczonych nasion fasoli wielokwiatowej odmiany tycznej Piękny Jaś (*Phaseolus multiflorus*) oraz bobu (*Vicia faba*) odmiany Bartom i poddawano modyfikacji hydrotermicznej (stosunek woda : skrobia 1:3) w temperaturze 60°C (skrobia bobu) lub 62°C (skrobia fasoli) przez 24 godz..

Uzyskane preparaty charakteryzowały się wysoką zawartością skrobi, przy czym w preparacie z nasion bobu było jej więcej (96,3%) niż w preparacie z nasion fasoli (91,6%). Natomiast zawartość amylozy była na zbliżonym poziomie w obu preparatach z nasion fasoli i bobu i wynosiła odpowiednio 25 i 26%. Skrobia z fasoli miała wyższą zdolność wiązania wody w 60°C (6,2 g H<sub>2</sub>O/g) w porównaniu ze skrobią bobu (4,4 g H<sub>2</sub>O/g), natomiast rozpuszczalność była zbliżona i wynosiła odpowiednio 9,9 i 10,7%. Podniesienie temperatury do 80°C wpływało na zwiększenie zarówno rozpuszczalności, jak i wodochłonności. Badane skrobie fasoli i grochu charakteryzowały się dość niską strawnością, wynoszącą odpowiednio 46,9 i 39,3%.

Badania skrobi modyfikowanej hydrotermicznie (PSMH) wykazały, że zastosowana modyfikacja spowodowała dalsze oczyszczenie preparatu (zmniejszenie zawartości popiołu i białka) oraz zmniejszenie zawartości amylozy i powierzchni właściwej ziaren skrobiowych.

Modyfikacja wpłynęła jednak na zmniejszenie wodochłonności i rozpuszczalności preparatów skrobiowych. Odnotowano jednak wzrost tych wartości wraz ze wzrostem temperatury z 60 do 80°C. Stwierdzono również znaczną poprawę strawności *in vitro* skrobi (>1,5-krotną) obu preparatów.

**Słowa kluczowe:** skrobia, modyfikacja hydrotermiczna, rozpuszczalność, wodochłonność, strawność

### Wprowadzenie

Skrobie zbożowe i ziemniaczane są izolowane, modyfikowane i wykorzystywane w różnych produktach, a ich właściwości zostały już dokładnie poznane. Natomiast ziarna roślin strączkowych początkowo uważane były raczej za źródło białek niż wę-

---

Dr inż. M. Piecyk, mgr inż. R. Walicka, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Jakości Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

głowodanów, chociaż zawierają ich od 24 do 68% [23], z czego skrobia stanowi 22-45% [8]. Skrobie roślin strączkowych różnią się pod względem zawartości amylozy, kompleksów amylozo-lipidowych i zakresu asocjacji łańcuchów wewnątrz natywnych ziaren skrobiowych [7].

Właściwości skrobi decydują o jej zastosowaniu w produktach żywnościowych. W zależności od końcowego zastosowania, jedną lub więcej tych właściwości, które mogą zostać uznane za niepożądane lub niewystarczające, można poprawić stosując modyfikacje skrobi [1], a właściwości skrobi macierzystych mają znaczący wpływ na właściwości skrobi modyfikowanych [26].

Tradycyjne metody modyfikacji skrobi obejmują zmiany struktury cząsteczkowej i nadcząsteczkowej skrobi w toku przemian fizycznych, chemicznych, enzymatycznych [15], bądź też kombinacje tych metod, przy czym najczęściej stosowane są metody chemiczne, gdyż są one najefektywniejsze [14].

Konsumenci z pewną ostrożnością traktują produkty zawierające skrobie modyfikowane chemicznie. Zastrzeżenia dotyczą głównie fosforanów skrobiowych, którym przypisuje się zwiększenie ilości fosforu w polskiej diecie, charakteryzującej się i tak niekorzystnym stosunkiem Ca:P. Niektóre skrobie modyfikowane spożywane w większych ilościach mogą również wywierać niekorzystny wpływ na skład krwi, a w szczególności na poziom cholesterolu we krwi [3, 4]. Dlatego też obecnie obserwuje się wzrost zainteresowania modyfikacją fizyczną, ze względu na większe bezpieczeństwo dla zdrowia związane z zastosowaniem tak modyfikowanej skrobi, co ma duże znaczenie zwłaszcza w przypadku stosowania jej w żywności [12]. Najczęściej stosowane modyfikacje hydrotermiczne, zmieniające właściwości fizykochemiczne skrobi bez utraty jej ziarnistej struktury to: annealing (ANN) – inkubacja skrobi przy nadmiarze wody (>60% m/m) lub przy pośredniej zawartości (40-55%) lub heat-moisture treatment (HMT) - inkubacja skrobi przy niskim poziomie wilgotności (<35% m/m).

Modyfikacja typu annealing nie wpływa na wielkość i kształt ziarenek skrobiowych [27], natomiast prowadzi do podniesienia temperatury kleikowania skrobi o 4-8°C, nawet do 10°C w przypadku modyfikacji wielostopniowej [11] oraz zawężenia zakresu temperatury, w którym proces ten zachodzi. Obie modyfikacje mają też różny wpływ na inne właściwości funkcjonalne skrobi, jak: kleikowanie, zdolność pęcznienia i ługowania amylozy oraz podatność na kwasową i enzymatyczną hydrolizę, w zależności m.in. od botanicznego pochodzenia skrobi i warunków przeprowadzania modyfikacji. [11, 27].

Celem pracy było określenie wpływu modyfikacji hydrotermicznej typu annealing na właściwości skrobi otrzymanej z nasion fasoli wielokwiatowej (*Phaseolus multiflorus*) i bobu (*Vicia faba*).

### Material i metody badań

Preparaty otrzymywano ze zmielonych i obłuszczonych nasion fasoli wielokwiatowej odmiany tycznej Piękny Jaś oraz z bobu odmiany Bartom. Prowadzono ekstrakcję białek w środowisku o pH 10, następnie przemywano osad wodą i trzykrotnie alkoholem, po czym suszono w temp. pokojowej. Otrzymane preparaty niemodyfikowane (PSNM) zmieszane z wodą w stosunku 1:3 poddawano modyfikacji hydrotermicznej w temp. 60°C (skrobia bobu) lub 62°C (skrobia fasoli) przez 24 godz. Po tym czasie próbki odwirowywano i suszono w 40°C, a następnie mielono i przesiewano przez sita o średnicy oczek 0,08 mm w celu uzyskania jednolitej granulacji końcowego produktu – preparatów skrobi modyfikowanej hydrotermicznie (PSMH).

We wstępnych badaniach przeprowadzono charakterystykę chemiczną otrzymanych preparatów skrobiowych. Oznaczano zawartość skrobi polarymetrycznie metodą znormalizowaną po rozpuszczeniu w kwasie solnym (0,309 mol/dm<sup>3</sup>) w temp. wrzenia oraz zawartość amylozy metodą Morissona i Laigneleta [19] oraz powierzchnię właściwą wg Fortuny i wsp. [2]. Zawartość azotu (przelicznik na białko 6,25), związków mineralnych w postaci popiołu i suchą masę oznaczano znormalizowanymi metodami.

W preparatach modyfikowanych i próbkach wyjściowych oznaczano zdolność wiązania wody i rozpuszczalność wg Leacha i wsp. [13]. Strawność skrobi *in vitro* oznaczano metodą Muira i O'Dea [21] zmodyfikowaną przez Galińskiego i wsp. [4]. Do hydrolizy skrobi stosowano ślinę oraz amyloglukozydazę, pankreatynę i Termamyl 120L. Po hydrolizie wyliczano stosunek skrobi łatwo trawionej i wolnej glukozy do skrobi całkowitej i wolnej glukozy. Końcową wartość wyrażano w procentach. Uwolnioną glukozę podczas trawienia oznaczano po reakcji z kwasem dinitrosalicylowym (DNS), mierząc absorbancję w spektrofotometrze (Shimadzu, UV-1201V) przy  $\lambda = 550$  nm.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statgraphics wersja Plus 2.1. Do porównania średnich wartości wyników w populacjach zastosowano test Duncana.

### Wyniki i dyskusja

Zastosowana w pracy metoda izolacji pozwoliła na uzyskanie preparatów o wysokiej zawartości skrobi, która zależała od gatunku nasion i wynosiła 91,63% s.m. w fasoli oraz 96,08% s.m. w bobie (tab.1). Uzyskane wyniki są zbliżone do rezultatów Morada i wsp. [18], w otrzymanych preparatach skrobiowych z różnych roślin strączkowych (od 90,8% w bobie do 91,3–91,5% w soczewicy i grochu żółtym) oraz Soral-Śmietany [25], z różnych odmian bobu – 95,03 do 96,08% s.m.

Natomiast zawartość amylozy w skrobi (PSNM) wynosiła 25,09% w fasoli oraz 26,06% w bobie (różnice statystycznie istotne). Uzyskane wyniki są zbliżone do da-

nych literaturowych dotyczących skrobi różnych roślin strączkowych tj. 20–26% [22] oraz 20,7–30,1% [6], a jednocześnie niższe od wartości 29–34% podawanych przez Morada i wsp. [18]. Zhou i wsp. [28] uzyskali jeszcze większą rozpiętość wyników: od 30,5% (soczewica) do 78,5% (groch marszczony). Modyfikacja hydrotermiczna spowodowała istotne statystycznie zmniejszenie zawartości amylozy, zarówno w skrobi otrzymanej z fasoli, jak i z bobu, odpowiednio do poziomu 23,86 oraz 21,18%. Wymywanie amylozy w wyniku inkubacji skrobi w nadmiarze wody w podwyższonej temperaturze zachodzi powszechnie. Zjawisko to w znacznym stopniu w skrobi grochu i w niewielkim w skrobi pszenicy zaobserwowała Jacobs i wsp. [11], a Hoover i Vasanthan [10] w skrobi otrzymanej z ziemniaka, owsa i soczewicy.

Tabela 1

Charakterystyka skrobi w preparatach niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych hydrotermicznie (PSMH).

Starch characteristic in the preparations non-modified (PSNM) and hydrothermal modified (PSMH).

Źródło skrobi Starch source	Rodzaj preparatu Type of preparation	Zawartość skrobi [% s.m.] Starch content [% d.m.]	Zawartość amylozy [% s.m. skrobi] Amylose content [% d.m.of starch]	Powierzchnia właściwa [m <sup>2</sup> /g] Real surface [m <sup>2</sup> /g]
Fasola wielokwiatowa Runner bean Piękny Jaś	PSNM	91,63 <sup>a</sup> ± 0,01	25,09 <sup>a</sup> ± 0,08	4,59 <sup>a</sup> ± 0,08
	PSMH	92,45 <sup>b</sup> ± 0,36	23,86 <sup>b</sup> ± 0,06	4,08 <sup>b</sup> ± 0,12
Bób Broad bean Bartom	PSNM	96,32 <sup>c</sup> ± 0,37	26,06 <sup>c</sup> ± 0,15	4,53 <sup>a</sup> ± 0,14
	PSMH	96,08 <sup>c</sup> ± 0,354	21,18 <sup>d</sup> ± 0,18	3,97 <sup>b</sup> ± 0,18

Objaśnienia: / Explanatory notes:

± odchylenie standardowe/ standard deviation;

a-d te same litery w kolumnie oznaczają brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi (p ≥ 0,95) / the same letters in column show no significant differences between means (p ≥ 0.95).

Modyfikacja hydrotermiczna spowodowała statystycznie istotne zmniejszenie powierzchni właściwej ziarenek skrobiowych obu badanych preparatów do wartości 4,08 m<sup>2</sup>/g w przypadku skrobi fasolowej oraz 3,97 m<sup>2</sup>/g skrobi z bobu. Wyniki badań przeprowadzonych przez Hoovera i Manuela [9] nie wykazały wpływu modyfikacji hydrotermicznej heat-moisture treatment na strukturę ziaren skrobiowych pochodzących z różnych roślin strączkowych. Ziarna skrobiowe badanych roślin (poza soczewicą) po modyfikacji pozostawały zazwyczaj gładkie.



W tab. 2. przedstawiono ogólną charakterystykę badanych preparatów skrobi. Oznaczano m.in. zawartość białek, których zbyt duża zawartość ma niekorzystny wpływ na cechy sensoryczne [26]. Porównując zawartość białka w PSNM można stwierdzić, że była ona mała i wynosiła 1,00% w preparacie otrzymanym z fasoli oraz 0,94% w pochodzącym z bobu. Niemniej jednak obie wartości są zdecydowanie wyższe od danych publikowanych przez Hoovera i Ratnayake [6] oraz Ratnayake i wsp. [23] dotyczących zawartości azotu w skrobi roślin strączkowych: 0,04–0,09% oraz 0,04–0,07%. Natomiast Soral-Śmietana [25] otrzymała znacznie wyższą zawartość związków azotowych (0,42–0,65%) w wyizolowanej skrobi z różnych odmian bobu. Na zawartość białka w skrobi duży wpływ ma metoda jej izolacji z rośliny oraz obecność białek wewnątrz granulek skrobiowych.

Tabela 2

Charakterystyka chemiczna preparatów skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych hydrotermicznie (PSMH).

Chemical characteristic of starch preparations non modified (PSNM) and hydrothermal modified (PSMH).

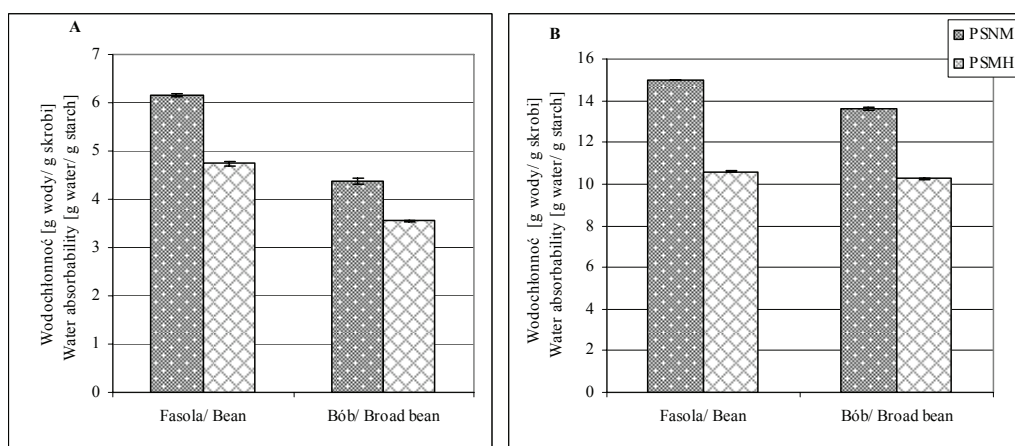
Źródło skrobi Starch source	Rodzaj preparatu Type of preparation	Wilgotność [%] Moisture [%]	Popiół [% s.m.] Ash [%d.m.]	Białko [% s.m.] Protein [%d.m.]
Fasola wielokwiatowa Runner bean Piękny Jaś	PSNM	8,86 <sup>a</sup> ± 0,01	0,62 <sup>a</sup> ± 0,01	1,00 <sup>a</sup> ± 0,01
	PSMH	9,24 <sup>b</sup> ± 0,06	0,60 <sup>b</sup> ± 0,01	0,85 <sup>b</sup> ± 0,01
Bób Broad bean Bartom	PSNM	9,27 <sup>b</sup> ± 0,03	0,78 <sup>c</sup> ± 0,01	0,94 <sup>c</sup> ± 0,01
	PSMH	8,65 <sup>c</sup> ± 0,04	0,74 <sup>d</sup> ± 0,01	0,81 <sup>d</sup> ± 0,01

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

Na skutek modyfikacji hydrotermicznej zawartość białka w obydwu preparatach skrobiowych statystycznie istotnie zmniejszyła się do poziomu 0,85% (fasola) oraz 0,81% (bób), co związane jest z dalszym jego oczyszczeniem.

Porównując uzyskane wyniki wodochłonności, można stwierdzić, że wyraźniejsze powinowactwo do środowiska wodnego, w obydwu wartościach temperatury, wykazała skrobia fasoli wielokwiatowej: w temperaturze 60°C osiągnęła wartość 6,16 g H<sub>2</sub>O/g s.m., natomiast skrobia bobu 4,78g H<sub>2</sub>O/g s.m (rys. 1). Analiza statystyczna wyników wykazała istotny wpływ pochodzenia skrobi na jej wodochłonność. Uzyskane wyniki są zgodne z danymi literaturowymi, które podają, że zdolność wiązania wody przez skrobie roślin strączkowych jest na ogół mała i z reguły nie przekracza 10 g H<sub>2</sub>O/g próbki [24]. Jednak oznaczona wodochłonność skrobi z fasoli wielokwiatowej (*Phase-*

*olus multiflorus*) była znacznie wyższa od danych literaturowych dotyczących innego gatunku fasoli. Soral-Śmietana [25] wykazała, że absorpcja wody przez skrobię fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris*) wynosi od 1,48 do 1,67 g H<sub>2</sub>O/g s.m. Inne źródła podają, że skrobia pochodząca z fasoli wiąże od 2,5 do 6,0 g H<sub>2</sub>O/g s.m. w temp. 60°C. Wraz ze wzrostem temperatury zwiększa się zdolność wiązania wody i w 80°C wynosi ona od 7,0 do 13,0 g H<sub>2</sub>O/g s.m. [5, 7]. Na właściwość tę ma też wpływ zawartość ziaren uszkodzonych absorbujących więcej wody niż ziarna nieuszkodzone [5].



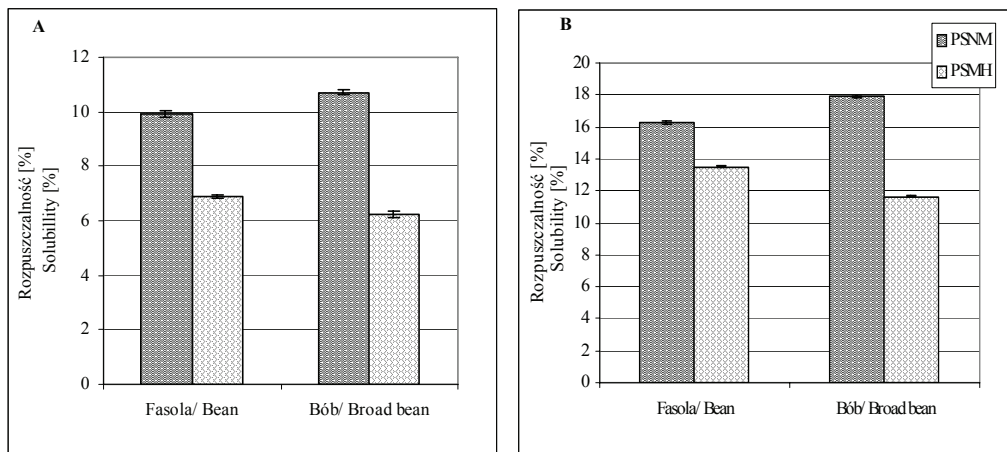
Rys. 1. Wodochłonność preparatów skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych hydrotermicznie (PSMH) w temperaturze 60°C (A) i 80°C (B).

Fig. 1. Water holding capacity in temperature 60°C (A) and 80°C (B) of starch preparations non modified (PSNM) and hydrothermal modified (PSMH).

Preparaty skrobiowe modyfikowane charakteryzowały się mniejszą zdolnością wiązania wody niż niemodyfikowane. Wynosiła ona w temp. 60°C 4,74 g H<sub>2</sub>O/g s.m. w przypadku skrobi fasoli, a bobu 3,97 g H<sub>2</sub>O/g s.m. Natomiast w temp. 80°C zdolność ta wzrosła ponad dwukrotnie, osiągając wartości 10,58 g H<sub>2</sub>O/g s.m. (skrobia fasoli) oraz 10,27 g H<sub>2</sub>O/g s.m. (skrobia bobu). Jednak PSNM wykazywały większą wodochłonność niż skrobia PSMH w tych wartościach temperatury.

W temp. 60°C preparat skrobiowy niemodyfikowany otrzymany z fasoli wielokwiatowej wykazywał rozpuszczalność na poziomie 9,9%, natomiast z bobu wyższą, tj. 10,71% (rys. 2). Podniesienie temp. oznaczenia o 20°C znacznie poprawiło rozpuszczalność obu preparatów niemodyfikowanych (16,31 i 17,90%). Uzyskane wyniki są dużo wyższe od danych dotyczących skrobi różnych odmian fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris*) podawanych przez Hoovera i Sosulskiego [7]: 1,5–3,5% w temp. 60°C i wzrastające do 6,5–9% w 80°C. Porównując jednak rozpuszczalność skrobi fasoli i innych roślin, można zauważyć, że wykazuje ona większą rozpuszczalność w tym sa-

mym zakresie temperatur niż skrobia pszenicy (2,27% w temp. 60°C i 3,21% w 80°C) i kukurydzy (0,31% w temp. 60°C i 1,24% w 80°C) [16].



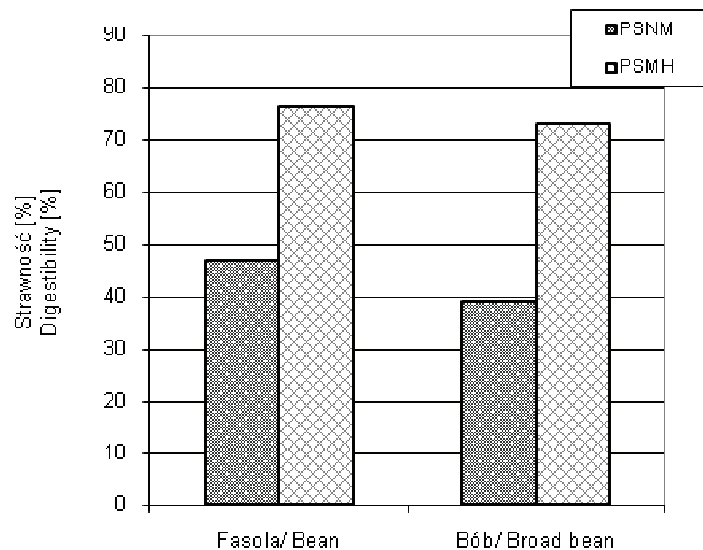
Rys. 2. Rozpuszczalność preparatów skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych hydrotermicznie (PSMH) w temperaturze 60°C (A) i 80°C (B).

Fig. 2. Solubility in temperature 60°C (A) and 80°C (B) of starch preparations non modified (PSNM) and hydrothermal modified (PSMH).

Preparat skrobiowy niemodyfikowany otrzymany z fasoli wielokwiatowej wykazywał wyższą strawność (46,92%) w porównaniu z preparatem pochodzącym z bobu (39,32%) (rys. 3). Z analizy wyników uzyskano potwierdzenie danych literaturowych [4, 11] na temat istotnego wpływu źródła skrobi na jej strawność. Wyniki te oscylują wokół wartości otrzymanych przez Marconiego i wsp. [17] dotyczących skrobi roślin strączkowych (42,2-45%), ale są wyższe od podawanych przez Hoovera i Sosulskiego [7], które w zależności od biotypu *Phaseolus vulgaris* wynosiły od 25 do 35%.

Natywne skrobie pochodzące z roślin strączkowych są lepiej strawne od natywnej skrobi ziemniaczanej czy z kukurydzy woskowej, ale mniej strawne od skrobi zbożowych czy manioku [7]. Modyfikacja hydrotermiczna skrobi spowodowała statystycznie istotny wzrost jej strawności, ponad 1,5-krotny (do 76,31%) w przypadku fasoli wielokwiatowej oraz prawie dwukrotny, do poziomu 73,08%, skrobi bobu.

Dostępność i przyswajalność skrobi można podwyższać na drodze obróbki technologicznej. Jak podaje Galiński i wsp. [4], duży wzrost strawności następuje na skutek zaburzenia struktury ziaren skrobi pod wpływem działania temperatury przy dostatecznej ilości wody. Jednak obserwowanej w pracy poprawy strawności skrobi po jej modyfikacji nie można tłumaczyć wzrostem powierzchni właściwej, bo jak wykazano jej wartość ulegała zmniejszeniu po tym procesie.



Rys. 3. Strawność skrobi z preparatów skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych hydrotermicznie (PSMH).

Fig. 3. Digestibility of starch on the preparations non modified (PSNM) and hydrothermal modified (PSMH),

Modyfikacja stosowana w niniejszej pracy zmienia właściwości termiczne skrobi bez znacznego wpływu na jej właściwości strukturalne, dlatego też może być wykorzystywana do zmiany właściwości funkcjonalnych skrobi i jej współdziałania z innymi składnikami żywności, wpływając na teksturę produktów żywnościowych [20].

### Wnioski

Zastosowanie modyfikacji hydrotermicznej typu annealing spowodowało:

- 1) dodatkowe oczyszczenie skrobi przez zmniejszenie zawartości białka,
- 2) zmniejszenie powierzchni właściwej ziaren skrobiowych,
- 3) zmniejszenie udziału frakcji amylozowej w skrobi,
- 4) zmniejszenie wodochłonności oraz rozpuszczalności zarówno w temp. 60°C, jak i 80°C,
- 5) znaczną poprawę strawności *in vitro* (>1,5-krotna).

Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

### Literatura

- [1] Desphande S. S.; Sathe S. K.; Rangnekar P. D.; Salunkhe D. K.: Functional properties of modified black gram (*Phaseolus mungo* L.) starch. *J. Food Sci.*, 1982, **47**, 1528-1533, 1602.
- [2] Fortuna T., Januszewska R., Wąchlewski T.: Metoda kolorymetrycznego oznaczania powierzchni właściwej skrobi różnego pochodzenia. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Technologia Żywności*, 1996, **8**, 6-9.
- [3] Galiński G., Gawęcki J., Remiszewski M.: Strawność skrobi natywnych i modyfikowanych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **3 (24)**, 58-68.
- [4] Galiński G.; Gawęcki J.; Lewandowicz G.: Strawność *in vitro* skrobi natywnych i modyfikowanych bez i z dodatkiem środków słodzących. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **3 (24)**, 69-77.
- [5] Gujska E.; Reinhard W.; Khan K.: Physicochemical properties of Field Pea, Pinto and Navy Bean starches. *J. Food Sci.*, 1994, **59 (4)**, 634-636, 651.
- [6] Hoover R., Ratnayake W.S.: Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chem.*, 2002, **78**, 489-498.
- [7] Hoover R., Sosulski F. W.: Composition, structure, functionality and chemical modification of legume starches: a review. *Can. J Physiol. Pharm.*, 1991, **69**, 79-92.
- [8] Hoover R., Zhou Y.: *In vitro* and *in vivo* hydrolysis of legume starches by  $\alpha$ -amylase and resistant starch formation in legumes – a review. *Carbohydr. Polym.*, 2003, **54**, 401-417.
- [9] Hoover R.; Manuel H.: Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of legume starches. *Food Res. Int.*, 1996, **29 (8)**, 731-750.
- [10] Hoover R.; Vasanthan T.: Effect of annealing on the physicochemical properties of wheat, oat, potato and lentil starches. *J. Food Biochem.*, 1994, **17**, 302-325.
- [11] Jacobs H., Mischenko N., Koch M.H.J., Eerlingen R.C., Delcour J.A., Reynaers H.: Evaluation of the impact of annealing on gelatinisation at intermediate water content of wheat and potato starches: A differential scanning calorimetry and small angle X-ray scattering study. *Carbohydr. Res.*, 1998, **306**, 1-10.
- [12] Jacobs H.; Delcour J. A.: Hydrothermal Modifications of Granular Starch, with Retention of the Granular Structure: A Review. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46 (8)**, 2895-2905.
- [13] Leach H. W., Mc Cowen L. D., Schoch T. J.: Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. *Cereal Chem.*, 1959, **36**, 534-537.
- [14] Leszczyński W.: Zróżnicowanie właściwości skrobi. *Przem. Spoż.*, 2001, **3**, 38-40.
- [15] Lewandowicz G., Grajek W.: Możliwość modyfikacji skrobi metodami inżynierii genetycznej. *Przem. Spoż.*, 2004, **11**, 16-20, 50.
- [16] Lorenz K., Collins F.: The Starch of the fababean (*Vicia faba*) comparison with wheat and corn starch. *Starch*, 1979, **6**, 181-184.
- [17] Marconi E, Ruggeri S., Cappelloni M., Leonardi D, Carnovale E.: Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) following microwave cooking. *J Agric. Food Chem.*, 2000, **48 (12)**, 5986-94.
- [18] Morad M. M., Leung H.K., Hsu D.L., Finney P.L.: Effect of germination on physicochemical and bread-baking properties of yellow pea, lentil and Faba bean flours and starches. *Cereal Chem.*, 1980, **57 (6)**, 390-396.
- [19] Morrison W.B., Laignelet B.: An important colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *J. Cereal Sci.*, 1983, **1**, 19-20.
- [20] Muhrbeck P.; Svensson E.: Annealing properties of potato starches with different degrees of phosphorylation. *Carbohydr. Polym.*, 1996, **31**, 263-267.

- [21] Muir J.G., O'Dea K.: Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion *in vitro*. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1992, **56**, 123-127.
- [22] Naivikul O., D'Appolonia B. L.: Carbohydrates of legume flours compared with wheat flour. II. *Starch. Cereal Chem.*, 1979, **56** (1), 24-28.
- [23] Ratnayake W. S., Hoover R., Shahidi F., Perera C., Jane J.: Composition, molecular structure and physicochemical properties of starches from four field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 2001, **74**, 789-202.
- [24] Reddy N. R., Pierson M. D., Sathe S. K., Salunkhe D. K.: Chemical, nutritional and physiological aspects of dry bean carbohydrates- A review. *Food Chem.*, 1984, **13**, 25-68
- [25] Soral-Śmietana M.: Charakterystyka fizykochemiczna skrobi bobiku. *Zesz. Nauk. ART w Olsztynie*, 1993, **25**, 141-150.
- [26] Swinkels J. J. M.: Composition and properties of commercial native starch. *Starch*, 1985, **37**, 1-5
- [27] Tester R.F., Debon S.J.J.: Annealing of starch- a review. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2000, **27**, 1-12.
- [28] Zhou Y., Hoover R., Liu Q.: Relationship between  $\alpha$ -amylase degradation and the structure and physicochemical properties of legume starches. *Carbohydr. Polym.*, 2004, **57**, 299-317.

#### THE EFFECT OF THE HYDROTHERMAL MODIFICATION ON THE PROPERTIES OF THE STARCH OBTAINED FROM CHOSEN LEGUME SEEDS

##### Summary

The preparation of the starch from the grinding and shelling seeds of bean variety "Piękny Jaś" (*Phaseolus multiflorus*) and broad bean (*Vicia faba*) variety Bartom were obtained and modification hydrothermal (ratio starch: water – 1:3; temperature 60°C for broad bean or 62°C for bean; time 24 h) was applied.

The preparations were characterized by high starch content. There was higher starch content in preparation from broad bean (96.3%) than the preparation from bean seeds (91.6%). However amylose content was similarly of both preparation from the seeds of bean and broad bean and amounted 25 i 26%. Water holding capacity in temperature 60°C of starch from bean (6.2 g H<sub>2</sub>O/g ) was higher than starch from broad bean (4.4 H<sub>2</sub>O/g), so solubility was similarly 9.9 and 10.7% respectively. Increase of temperature to 80°C caused increase solubility and water holding capacity. The starch to mark the rather low digestibility of starch for bean 46,9% and 39,3% for broad bean.

Research of PSMH demonstrated, that modification applied caused more further purify the preparation (decreasing of content the ash, protein) and decreasing of amylose content and real surface of starch granules.

The modification caused a fall in the water binding capacity and the solubility of the preparations. However, these values increased when temperature was increased from 60°C to 80°C. Also there was a considerable improvement in the digestibility *in vitro* (> 1,5 once) of both preparations.

**Key words:** Starch, hydrothermal modification, solubility, water holding capacity, digestibility ☒

AGNIESZKA TRELA, LESZEK MOŚCICKI

## WPLYW PROCESU EKSTRUZJI NA WYBRANE CECHY JAKOŚCIOWE PELETÓW ZBOŻOWYCH

### Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań nad przebiegiem ekstruzji oraz wybrane właściwości fizycznych peletów zbożowych. Pelety wyprodukowano w laboratorium Katedry Inżynierii Procesowej Akademii Rolniczej w Lublinie na zmodyfikowanym ekstruderze TS-45 firmy Metalchem Gliwice, stosując 7 mieszanek recepturowych oraz zmienne warunki obróbki ciśnieniowo-termicznej. Mieszanki przetwarzano termicznie w temperaturze od 81 do 118°C; energochłonność procesu produkcji wyrażana wskaźnikiem SME wynosiła od 0,1 do 0,71 kWh·kg<sup>-1</sup>. Stwierdzono zależność wydajności produkcji od liczby obrotów ślimaka, receptury i wilgotności użytych mieszanek. Największa wydajność wynosiła 29,28 kg h<sup>-1</sup>.

W zależności od użytej receptury pelety po wysuszeniu miały wilgotność od 5,8 do 10,9%, indeks WAI wynosił od 43 do 96%, zaś odporność na uszkodzenia wahała się od 54,8 do 98%. Największa gęstością usypową, niezależnie od wilgotności mieszanek, charakteryzowały się pelety pszenno-kukurydziane.

**Słowa kluczowe:** pszenica, kukurydza, ryż, pelety, ekstruzja

### Wprowadzenie

Obecnie rynek snacków zdominowany został przez przekąski trzeciej generacji wytwarzane z peletów [18, 20]. Pelety to półprodukty otrzymane w drodze ekstruzji, formowane przy stosunkowo niskim ciśnieniu w celu zapobieżenia ekspansji na wyjściu z ekstrudera, a następnie suszone etapowo do wilgotności około 10% [4, 14, 15, 17, 18]. Po poddaniu obróbce termicznej, jaką jest najczęściej smażenie w głębokim tłuszczu bądź alternatywnie ogrzewaniu w gorącym powietrzu czy też kuchence mikrofalowej pelety stają się gotowymi do spożycia snackami [2, 3, 8, 9, 15, 16].

Zastosowanie ekstruderów do produkcji peletów spowodowało ogromny wzrost popularności wyrobów przekąskowych, same pelety stały się alternatywą dla wyrobów bezpośrednio ekstrudowanych. Niewątpliwie jedną z największych zalet peletów jest możliwość ich długiego przechowywania bez utraty cech jakościowych, pod warun-

kiem odpowiedniego zapakowania w celu utrzymania stabilności ich wilgotności [10, 14]. Oprócz podstawowych składników mieszanki surowcowej (głównie surowców zbożowych oraz ziemniaczanych), istnieje możliwość stosowania w recepturze wielu cennych składników, takich jak: produkty wysokobiałkowe mięsne (świeże krewetki, kurczak), mleczne (ser, jogurt, mleko) oraz strączkowe (soja, groch, fasola). Można je dodawać nawet w ilości do 35% [14]. Niewielki dodatek soli do mieszanki surowcowej pozwala na równomierne rozprrowadzenie wody w peletach poddawanych procesowi suszenia po ekstruzji, dodatek proszku do pieczenia nadaje odpowiedni zapach oraz poprawia teksturę produktu gotowego, uzyskiwaną w trakcie smażenia czy też innych sposobów ekspandowania [13].

Jakość peletów oraz gotowych do spożycia snacków zwykle określana jest takimi właściwościami, jak: współczynnik ekspandowania, tekstura, absorpcja oleju, ciężar usypowy, struktura powierzchni, wewnętrzna porowatość, barwa, smak. Parametry te nie mają stałych wartości i w różnych krajach ekstrudat dobrej jakości charakteryzują inne wyznaczniki [11, 13, 20].

Celem podjętych prac było określenie przebiegu procesu produkcji peletów zbożowych metodą ekstruzji, przy zastosowaniu różnych parametrów obróbki ciśnieniowo-termicznej, a następnie zbadanie wybranych właściwości fizycznych tych półproduktów.

### **Material i metody badań**

W badaniach użyto surowców zbożowych, w tym także bezglutenowych, dzięki czemu produkt ostateczny może być przeznaczony także dla osób wymagających odpowiedniej diety. Mąkę ryżową pozyskano od firmy Provita - hurtowni wegetariańskiej z Nadarzyn, mąkę pszenną typu 550 prod. Lubella S.A., mąkę kukurydzianą prod. PZZ Nowa Sól, a sól i proszek do pieczenia zakupiono w handlu detalicznym.

Do badań użyto 7 mieszanek o zróżnicowanym składzie recepturowym oraz o różnej wilgotności: 31, 33 i 35% (tab.1). W trakcie procesu ekstruzji stosowano 3 prędkości obrotowe ślimaka: 60, 80 i 100 obr./min. Proces ekstruzji realizowano w jednoślimakowym ekstruderze TS-45 produkcji Metalchem Gliwice, zmodyfikowanym przez pracowników Katedry Inżynierii Procesowej Akademii Rolniczej w Lublinie (przedłużony układ plastyfikujący).

Podczas ekstruzji wyznaczano wydajność procesu produkcji, zużycie energii (SME) [12] oraz zachowanie temperatury w poszczególnych sekcjach cylindra ekstrudera oraz temperaturę głowicy i temperaturę produktu bezpośrednio po jej opuszczeniu.

Pelety po ekstruzji poddawano kondycjonowaniu przez 24 h, a następnie oznaczano: wilgotność metodą suszarkową [7], gęstość usypową [1], odporność na uszkodzenia w aparacie Pfosta [1, 19, 21] zdolność absorpcji wody [5, 21].



Wyniki, stanowiące wartość średnią z 6 powtórzeń, poddano weryfikacji statystycznej, przeprowadzając analizę istotności różnic ( $\alpha = 0,05$ ).

Tabela 1

Skład mieszanek surowcowych użytych do produkcji peletów [%].  
Composition of mixtures used for pellets production [%].

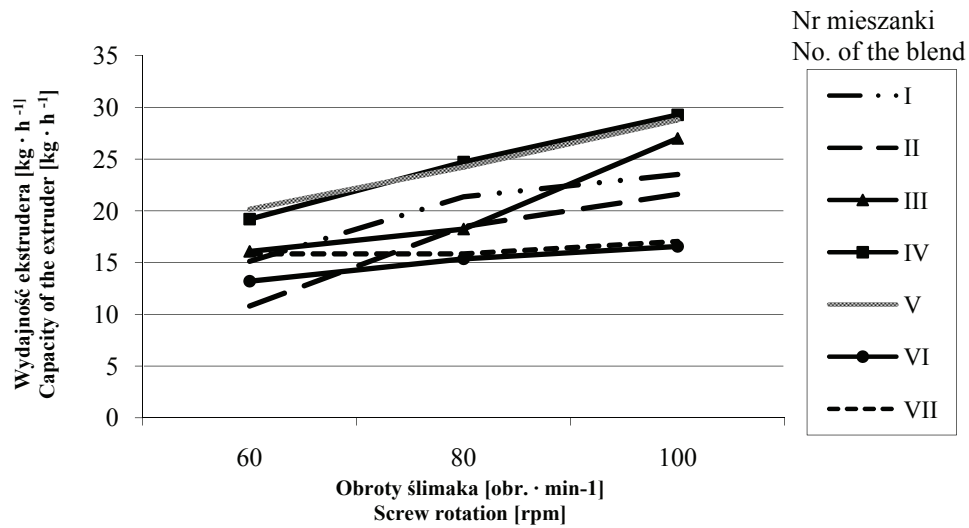
Nr mieszanki No. of the blend	Mąka pszenna Wheat flour	Mąka kukurydziana Corn flour	Mąka ryżowa Rice flour	Sól Salt	Proszek do pieczenia Baking powder
I	67,7	30	-	2	0,5
II	27,5	70	-	2	0,5
III	47,5	50	-	2	0,5
IV	30	-	67,5	2	0,5
V	70	-	27,5	2	0,5
VI	-	30	67,5	2	0,5
VII	-	70	27,5	2	0,5

### Wyniki i dyskusja

Analizując proces ekstruzji peletów zbożowych stwierdzono, że wraz ze wzrostem wilgotności mieszanek surowcowych, pomimo intensywnej pracy układu schładzającego cylinder, temperatura ekstruzji w dwóch strefach cylindra wzrastała, natomiast temperatura produktu nieznacznie obniżała się. Jednak temperatura ekstruzji mieszanek zawierających mąkę ryżową była niższa (81-109°C) niż mieszanek zawierających tylko mąkę pszenną i kukurydzianą (110-118°C). Temperatura produktu na wyjściu z ekstrudera była podobna w przypadku wszystkich mieszanek recepturowych i wynosiła od 90 do 110°C.

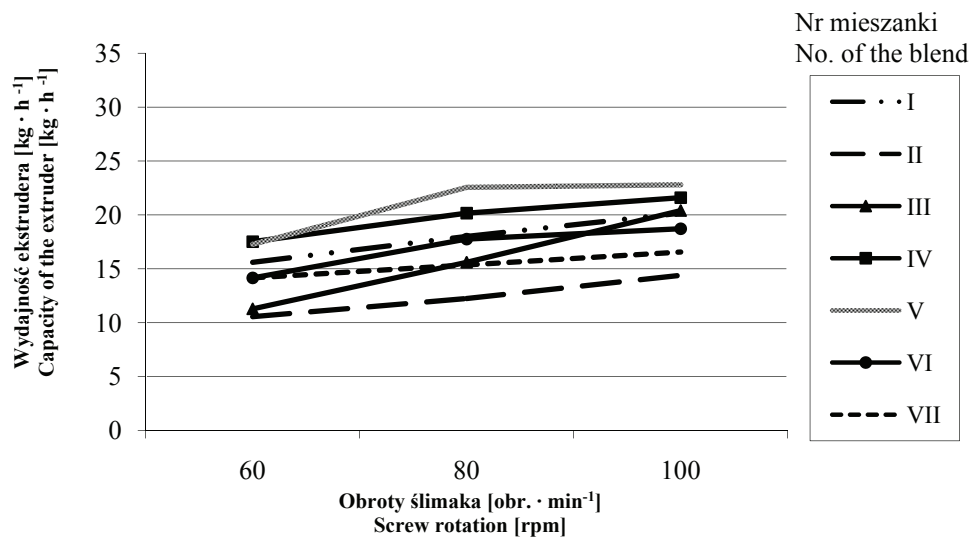
Energochłonność procesu ekstruzji mieszanek, wyrażana wskaźnikiem SME, wynosiła od 0,18 do 0,71 kWh·kg<sup>-1</sup>, a wzrost wilgotności mieszanek recepturowych wpływał nieznacznie na zmniejszenie obciążenia silnika.

Największą wydajność produkcji osiągnięto podczas ekstruzji peletów wytwarzanych z mieszanki IV i V, przy czym nie odnotowano większego wpływu wilgotności mieszanek na tę wydajność. Wydajność produkcji z mieszanek IV i V o wilgotności 35% była bardzo zbliżona do wydajności uzyskiwanej w produkcji peletów z pozostałych mieszanek (rys. 1, 2 i 3).



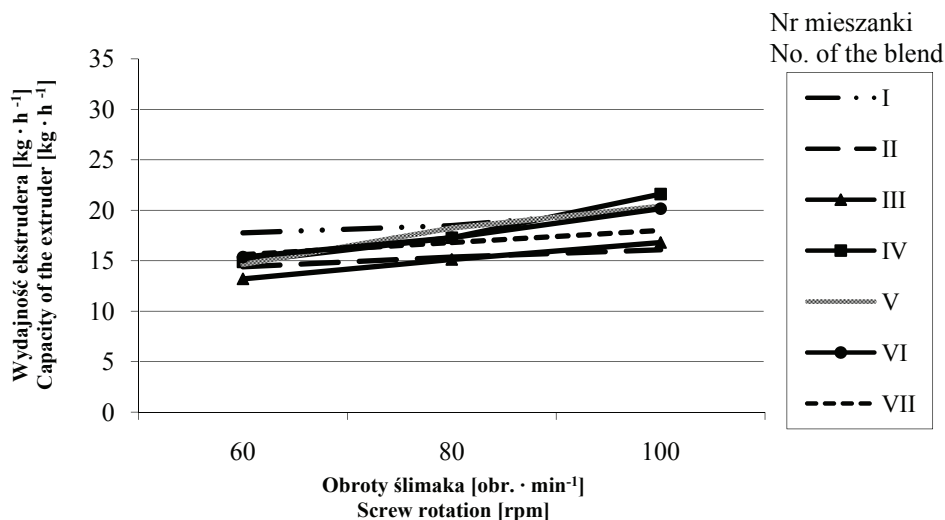
Rys. 1. Wydajność ekstrudera podczas ekstruzji mieszanek o wilgotności początkowej 31%

Fig. 1. Extruder capacity during extrusion of 31% m.c. blends.



Rys. 2. Wydajność ekstrudera podczas ekstruzji mieszanek o wilgotności początkowej 33%.

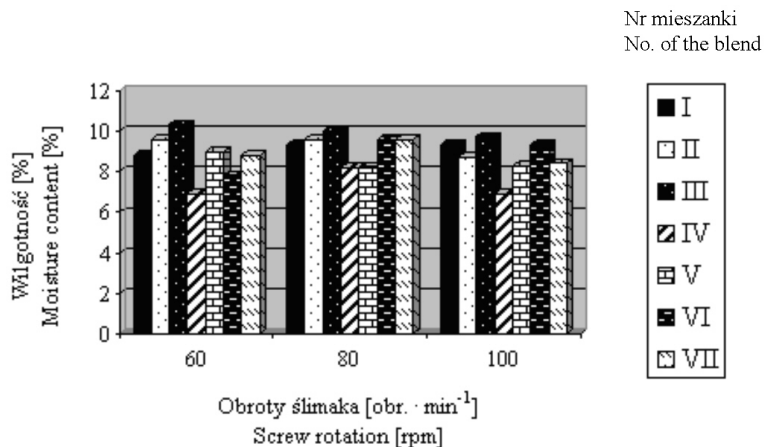
Fig. 2. Extruder capacity during extrusion of 33% m.c. blends.



Rys. 3. Wydajność ekstrudera podczas ekstruzji mieszanek o wilgotności początkowej 35%.

Fig. 3. Extruder capacity during extrusion of 35% m.c. blends.

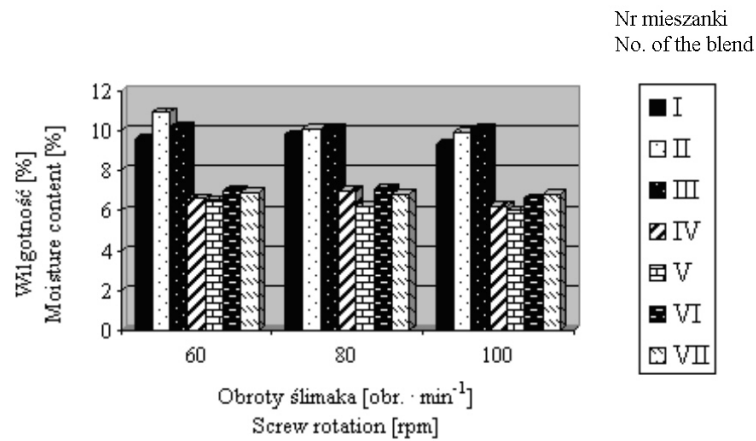
Po kondycjonowaniu pelety odznaczały się zróżnicowaną wilgotnością: od 5,8 do 10,9% w zależności od zastosowanej receptury. Niezależnie od wilgotności początkowej mieszanki surowcowej, pelety zawierające w swym składzie mąkę ryżową charakteryzowały się mniejszą wilgotnością po suszeniu. Mąka kukurydziana oraz pszenna wykazują większą higroskopijność, co wpływało na wzrost nakładów energetycznych



Rys. 4. Wilgotność peletów otrzymanych z mieszanek o wilgotności początkowej 33%.

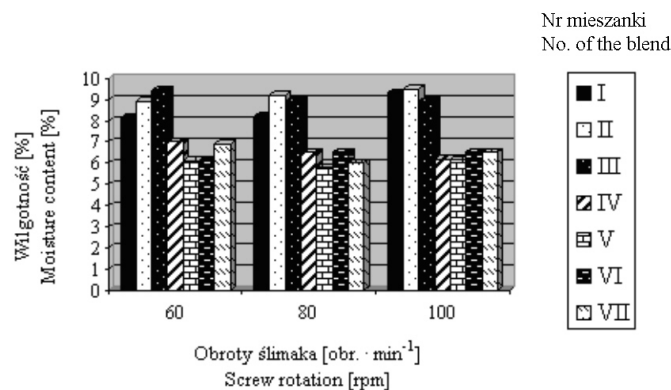
Fig. 4. Moisture content of pellets obtained from 33% m.c. blends.

w czasie suszenia peletów zawierających ww. składniki. Pelety zawierające mąkę ryżową w przypadku mieszanki surowcowej o wilgotności 33 i 35% po wysuszeniu zawierały ok. 6% wody (rys. 4 i 5). Zastosowanie mieszanki surowcowej o niższej wilgotności początkowej wpływało na mniejszy ubytek wilgotności peletów zawierających mąkę ryżową w czasie ich standardowego suszenia; wilgotność wynosiła od 6,9 do 9,6% (rys. 6). Świadczy to jednoznacznie o niedoskonałości samego procesu suszenia, stwierdziliśmy bowiem występowanie zjawiska pochłaniania wilgoci z otoczenia przez higroskopijne ze swej natury pelety. Problem ten jest podnoszony przez wielu badaczy, którzy zwracają uwagę na prawidłowy przebieg procesu suszenia peletów [14, 15, 18, 20].



Rys. 5. Wilgotność peletów otrzymanych z mieszank o wilgotności początkowej 35%.

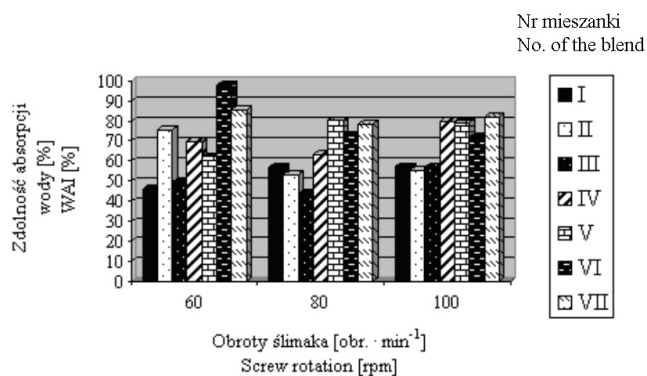
Fig. 5. Moisture content of pellets obtained from 35% m.c. blends.



Rys. 6. Wilgotność peletów otrzymanych z mieszank o wilgotności początkowej 31%.

Fig. 6. Moisture content of pellets obtained from 31% m.c. blends.

Pelety uzyskane z mieszanki o wilgotności początkowej 31% odznaczały się różnorodną zdolnością absorpcji wody. Większą zdolność absorpcji wykazywały pelety, których wilgotność po kondycjonowaniu była mniejsza. W zależności od receptury wynosiła ona od 43 do 96%.

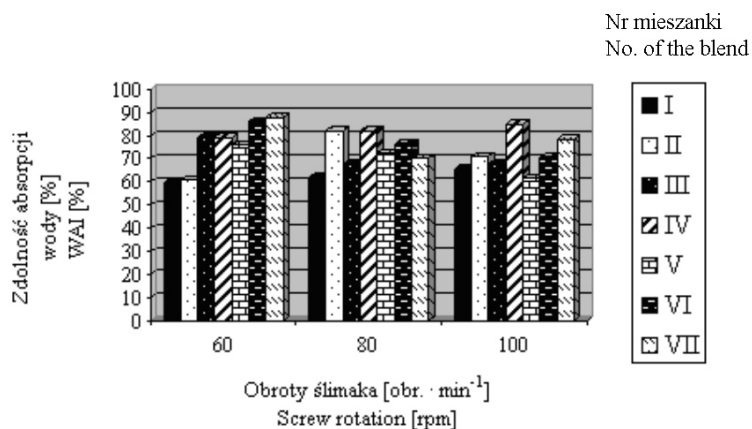


Rys. 7. Zdolność absorpcji wody przez pelety otrzymane z mieszank o wilgotności początkowej 31%.

Fig. 7. Water absorption index of pellets obtained from 31% m.c. blends.

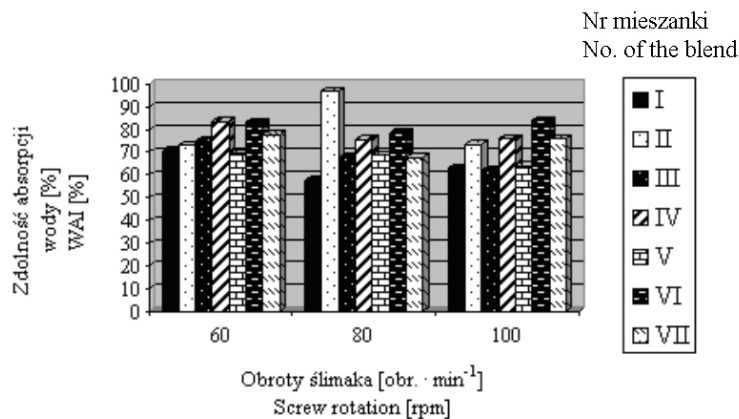
Pelety produkowane z mieszank o wilgotności początkowej 33 i 35% odznaczały się podobną absorpcją wody (rys. 8 i 9). W tych przypadkach różnice wodochłonności pomiędzy peletami zawierającymi w swym składzie mąkę ryżową a pozostałymi nie były już tak widoczne.

W przeciwieństwie do Wójtowicz i wsp. [21], autorzy nie odnotowali wzrostu wodochłonności peletów na skutek zwiększenia prędkości obrotowej ślimaka podczas ekstruzji.



Rys. 8. Zdolność absorpcji wody przez pelety otrzymane z mieszank o wilgotności początkowej 33%.

Fig. 8. Water absorption index of pellets obtained from 33% m.c. blends.



Rys. 9. Zdolność absorpcji wody przez pelety otrzymane z mieszanek o wilgotności początkowej 35%.  
Fig. 9. Water absorption index of pellets obtained from 35% m.c. blends.

Badania odporności na uszkodzenia peletów w aparacie Pfosta wykazały zadawalającą ich wytrzymałość mechaniczną (tab. 2). Podobne rezultaty osiągnęli Wójtowicz i wsp. [21], którzy badając pelety ziemniaczane uzyskali wyniki na poziomie 95–99,5%.

Tabela 2

Odporność na uszkodzenia peletów [%].  
Durability of pellets [%].

Nr mieszanki No. of the blend	Obroty ślimaka [obr. · min <sup>-1</sup> ] Screw rotation [rpm]								
	60			80			100		
	Wilgotność mieszanek [%] Moisture of blend [%]								
	31	33	35	31	33	35	31	33	35
I	91,9	90,3	98	94,8	85,3	90,6	89,8	76,9	91,9
II	89,5	83,3	78,5	80,6	73,6	91,8	69,3	76,3	81,4
III	85,9	83,3	85,1	87	70,6	88,9	85,9	81,8	86,5
IV	80	66,9	67,6	68,6	62,7	72,1	64,8	64	64,1
V	71,3	64,9	64,9	81	71,9	82,8	54,8	71,4	76
VI	78	72,6	74,2	64,9	64,1	63,7	65,7	76,5	72,2
VII	83,8	78,5	78,5	79,5	71,1	71,1	74,1	68,7	68,7

W trakcie niniejszych badań okazało się, że w większości przypadków pelety otrzymywane z mieszanek zawierających mąkę ryżową charakteryzowały się nieznacznie mniejszą odpornością na kruszenie. Przy nowoczesnych metodach pakowania nie powinno to stanowić większego problemu dla producentów. Mniejsza odporność

na uszkodzenia wynika z faktu, że pelety zawierające mąkę ryżową mają delikatniejszą strukturę, wynikającą, zdaniem Huanga [6], z dużej zawartości amylopektyny w ziarnach skrobi ryżowej, odpowiedzialnej za lekkość struktury mąki.

Spośród peletów mających w swym składzie mąkę ryżową największą odporność wykazały te, które zawierały 70% mąki kukurydzianej i były produkowane przy najmniejszych obrotach ślimaka. Zauważono ponadto, że wzrost obrotów ślimaka podczas ekstruzji powodował w większości przypadków zmniejszenie wytrzymałości na uszkodzenia peletów i to niezależnie od ich składu recepturowego. Zmniejszenie odporności na uszkodzenia peletów oraz snacków, na skutek zastosowania wyższej prędkości obrotowej ślimaka podczas procesu produkcji, ma miejsce również w przypadku peletów ziemniaczanych [19].

Niemal we wszystkich przypadkach największą odpornością na uszkodzenia odznaczały się pelety wytorzone z mieszanki I i III, a zatem z przewagą w recepturze mąki pszennej lub przy jej równym udziale z mąką kukurydzianą.

Największą gęstością usypową, niezależnie od wilgotności mieszanek charakteryzowały się pelety pszenno-kukurydziane (tab. 3).

W przypadku mieszanek o wilgotności 31% wzrost obrotów ślimaka w większości przypadków powodował wzrost gęstości usypowej peletów. Mniejsza zawartość w recepturze mąki ryżowej skutkowałą wzrostem gęstości usypowej peletów.

W przypadku mieszanek o wilgotności 31 i 33% największą gęstość usypową wykazywały pelety z przewagą mąki pszennej nad kukurydzianą w recepturze. Przy niemal równym udziale mąki pszennej i kukurydzianej w recepturze wzrost wilgotności mieszanek powodował wzrost gęstości usypowej peletów (mieszanka III).

Tabela 3

Gęstość usypowa peletów [ $\text{kg}/\text{m}^3$ ].  
Bulk density of pellets [ $\text{kg}/\text{m}^3$ ].

Nr mieszanki No. of the blend	Obroty ślimaka [ $\text{obr.} \cdot \text{min}^{-1}$ ] Screw rotation [rpm]								
	60			80			100		
	Wilgotność mieszanek [%] Moisture of blend [%]								
	31	33	35	31	33	35	31	33	35
I	318,70	274,37	182,25	358,60	284,33	194,61	360,33	307,81	205,54
II	290,61	277,25	280,10	300,67	265,93	264,80	307,78	275,25	262,43
III	283,19	236,82	267,22	327,64	210,73	309,49	366,05	263,41	292,12
IV	216,59	202,45	190,03	218,97	201,81	193,41	222,92	201,04	216,14
V	225,02	224,51	242,71	231,05	234,66	240,83	237,54	265,29	256,71
VI	198,92	187,19	194,33	204,23	203,70	184,53	233,45	213,82	192,19
VII	208,36	215,73	198,27	201,71	214,14	199,41	222,19	226,39	204,92

Planowane jest podjęcie dalszych badań w celu uzyskania odpowiedzi na wiele istotnych pytań, m.in. w jaki sposób proces przetwórczy wpływa na jakość peletów w czasie ich ekspandowania w głębokim tłuszczy czy obróbce w polu elektromagnetycznym.

### **Wnioski**

1. Zastosowanie zmodyfikowanego ekstrudera TS-45 potwierdziło przydatność tego urządzenia do wytwarzania peletów zbożowych; proces ekstruzji przebiegał stabilnie, SME podczas produkcji wahało się od 0,18 do 0,71 kWh·kg<sup>-1</sup> przy zachowaniu względnej stabilności reżimu temperaturowego w granicach dopuszczalnych.
2. Energochłonność procesu ekstruzji peletów zbożowych związana była z wilgotnością mieszanek surowcowych. SME osiągało najwyższe wartości w przypadku mieszanek o wilgotności 35%. Na wielkość SME miał również wpływ rodzaj przetwarzanego surowca. Niezależnie od wilgotności mieszanek, najniższe nakłady energetyczne odnotowano w czasie ekstruzji peletów pszenno-ryżowych. Udział w recepturze mąki kukurydzianej powodował wzrost energochłonności procesu przetwarzania.
3. Wydajność produkcji w zależności od obrotów ślimaka, składu recepturowego i wilgotności użytych mieszanek była zróżnicowana i wynosiła od ok. 11 do ok. 30 kg h<sup>-1</sup>. Zaobserwowano dużą zależność wydajności procesu produkcyjnego od rodzaju przerabianych surowców. Umiejętne połączenie w recepturze mąki pszennej z mąką ryżową wykazuje najlepsze efekty wydajności ekstrudera, co szczególnie ma istotne znaczenie dla producenta.
4. Pelety zawierające mąkę ryżową odznaczały się mniejszą wilgotnością po ekstruzji niż pozostałe (łatwość dehydratacji) oraz były bardziej higroskopijne. Należy to uwzględnić w trakcie ich przechowywania. Pozostałe produkty były mniej podatne na suszenie, przez co wymagały dodatkowych nakładów energetycznych.
5. Odporność na uszkodzenia peletów była bardzo zróżnicowana; kształtowała się na poziomie od 57 do 95% i zależała przede wszystkim od składu surowcowego oraz warunków ekstruzji. Największą kruchością odznaczały się pelety zawierające mąkę ryżową.
6. Gęstość usypowa peletów pszenno-kukurydzianych była wyższa od pozostałych. Zaobserwowano wpływ obrotów ślimaka na gęstość pozorną peletów jedynie w przypadku mieszanek o mniejszej wilgotności.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*



### Literatura

- [1] ASAE Standard: ASAE S269.3. Wafers, pellet, and crumbles – definitions and methods for determining density, durability and moisture content.
- [2] Choi I. D., Phillips R. D.: Cellular structure of peanuts-based extruded snack products using scanning electron microscopy. *J. Texture Studies*, 2004, **35**, 353-370.
- [3] Della Valle G., Vergnes B., Colonna P., Patria A.: Relations between rheological properties of molten starches and their expansion behaviour in extrusion. *J. Food Eng.*, 1997, **31**, 277-296.
- [4] Hardacre A.K., Clark S. M., Riviere S., Monro J. A., Hawkins A. J.: Some textural, sensory and nutritional properties of expanded snack food wafers made from corn, lentil and other ingredients. *J. Texture Studies*, 2006, **37**, 94-111.
- [5] Harper J.M.: *Extrusion of Foods vol. I i II*. CRC Press, Inc. Floryda USA 1981.
- [6] Huang D.: Selecting an optimum starch for snack development. *Cereal Food World*, 2001, **46**, 6, 237-239.
- [7] Jakubczyk T., Haber T.: *Analiza zbóż i przetworów zbożowych*. Wyd. SGGW – AR., Warszawa 1993.
- [8] Lee E.Y., Lim K., Lim J., Lim S.T.: Effect of gelatinization and moisture content of extruded starch pellets on morphology and physical properties of microwave-expanded products. *Cereal Chem.*, 2000, **77**, 6, 769-773
- [9] Mościcki L., Niżniowska A.: Produkcja pelletów. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2004, **1**, 36-37.
- [10] Mościcki L.: Technika ekstruzji w przetwórstwie rolno-spożywczym. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2000, **5**, 2-8.
- [11] Mościcki L.: Wpływ procesu ekstruzji na zmiany właściwości fizycznych surowców roślinnych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 1987, **321**, 145-153.
- [12] Singh N., Smith C. A.: A comparison of wheat starch, whole meat meal and oat flour in the extrusion cooking process. *J. Food Eng.*, 1997, **34**, 15-32.
- [13] PN-A-74780:1996. Smażone przekąski ziemniaczane.
- [14] Riaz M. N.: New technological solutions – extrusion process. *Proc. Int. Palm Oil Trade Fair & Seminar*, Kuala Lumpur, Malaysia., 2006.
- [15] Riaz M.N., Lusac W.: Practical experience in processing third generation snacks using twin-screw extruder. *Extrusion Communique*, 1996, **9**, 3, 10-13.
- [16] Sunderland R.: Production of third-generation snacks. *Cereal Foods World*, 1996, **1**, 68.
- [17] Treła A., Mościcki L.: Wpływ obróbki mikrofalowej na stopień ekspandowania pelletów ziemniaczanych. *Mat. III Międzyn. Konf. Nauk. „Oddziaływanie pól elektromagnetycznych na środowisko rolnicze”*, Agrolaser, Lublin 2006.
- [18] Treła A., Mościcki L.: Wpływ receptury oraz warunków ekstruzji na zdolność pochłaniania tłuszczu pelletów ziemniaczanych. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2006, **8**, 29-31.
- [19] Treła A., Mościcki L.: Badania odporności na uszkodzenia wyrobów typu snack aparatem Pfosta. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2006, **10**, 31-34.
- [20] Virtucio L.: Uwarunkowania procesu ekstruzji przy produkcji pelletów do wyrobu snacków. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 1999, **7**, 18-20.
- [21] Wójtowicz A., Dobosz R., Hodara K.: Ocena cech użytkowych pelletów ziemniaczanych. *Inżynieria Rolnicza*, 2001, **10**, 405-410.

## INFLUENCE OF EXTRUSION PROCESS ON SELECTED QUALITY PROPERTIES OF CEREAL PELLETS

### S u m m a r y

The results of extrusion-cooking of pellets processed under different conditions and selected physical properties of the extrudates are presented in the paper. Pellets were made in Dept. of Food Process Engineering, Lublin Agriculture University using modified single screw extruder TS-45. During investigations different extrusion-cooking conditions and 7 different blends were used. Process temperature ranged from 81 to 118°C. Specific mechanical energy of the extrusion-cooking was noted in range of from 0.18 to 0.71 kWh·kg<sup>-1</sup>.

Extrusion capacity was depended pro of the screw rotation speed, mixtures composition and moisture content of blends. Max capacity obtained - 29.28 kg/h.

The moisture content of dry pellets varied of the raw materials used and its properties (from 5.8 till 10.9% d.m). The same relation was observed with water absorption index (from 43 till 96%) and pellet's durability (from 54.8 till 98%). The highest bulk density was measured for the corn-wheat pellets, independently of the moisture content applied.

**Key words:** wheat, corn, rice, pellets, extrusion – cooking ☒

ANNA MATUSZ-MIRLAK, DOROTA PASTUSZKA, HALINA GAMBUŚ

## ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH SKŁADNIKÓW PROZDROWOTNYCH W EKSTRUDATACH Z UDZIAŁEM OTRĄB ŻYTNICH

### Streszczenie

W pracy porównano zawartość włókna pokarmowego (w tym pentozanów) oraz związków biologicznie czynnych, tj. polifenoli i alkilorezorcynoli w otrębach żytnich, mące żytniej i kaszce kukurydzianej oraz wyrobach ekstrudowanych typu chrupki, sporządzonych z tych surowców. Wykazano większą zawartość składników prozdrowotnych w otrzymanych ekstrudatach w porównaniu z surowcami, a mianowicie 2-krotnie większą zawartość rozpuszczalnej frakcji włókna pokarmowego i pentozanów, 2–3-krotnie mniejszą zawartość alkilorezorcynoli oraz istotnie większą: aktywność przeciwutleniającą i zawartość polifenoli.

**Słowa kluczowe:** włókno pokarmowe, alkilorezorcynole, ekstrudowane chrupki, polifenole, aktywność przeciwutleniająca

### Wstęp

Ziarno żyta zawiera wiele składników chemicznych mających pozytywne znaczenie w żywieniu człowieka, dietetyce oraz profilaktyce niektórych chorób cywilizacyjnych. Są to substancje wchodzące w skład włókna pokarmowego oraz związki biologicznie czynne, takie jak: kwasy fenolowe i alkilorezorcynole, które zaledwie od kilku lat uważa się za istotne do prawidłowego przebiegu przemian biochemicznych kwasów tłuszczowych, fosfolipidów i triacylogliceroli. Ziarno żyta charakteryzuje się największą, spośród zbóż, zawartością tych związków [4]; szczególnie dużo jest ich w otrębach, które w naturalnej formie nie są akceptowane przez wielu konsumentów. Dlatego obok zwiększania w diecie żywności pochodzenia roślinnego, obserwuje się także modyfikacje lub wprowadzenie całkowicie nowych metod produkcji artykułów żywnościowych, do których z pewnością można zaliczyć proces ekstruzji [3]. Obróbka termiczna i hydrotermiczna ziarna podczas procesów przetwórczych na ogół zmniejsza zawartość związków biologicznie czynnych w produktach finalnych.

---

*Mgr inż. A. Matusz-Mirlak, mgr inż. D. Pastuszka, prof. dr hab. inż. H. Gambuś, Katedra Technologii Węglowodanów, Wydz. Technologii Żywności, Akademia Rolnicza, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków*

Dlatego celem podjętych badań było określenie zawartości wybranych składników prozdrowotnych w chrupkach otrzymanych metodą ekstruzji z produktów laboratoryjnego przemiału ziarna żyta, z udziałem lub bez udziału kaszki kukurydzianej, i porównanie ich pod względem jakości z surowcami wyjściowymi, tj. otrębami i mąką żytnią.

### **Material i metody badań**

Przedmiotem badań były chrupki sporządzone z produktów przemiału ziarna żyta w ekstruderze jednoślimakowym, przy zastosowaniu następujących parametrów procesu: stopień sprężania ślimaka 3:1, obroty ślimaka – 190 obr./min, średnica matrycy – 3 mm, temperatura w kolejnych sekcjach 120/160/180°C. Były to chrupki o wysokiej akceptacji konsumenckiej [11]. W użytych do badań surowcach, tj. otrębach żytnich handlowych oraz z laboratoryjnego przemiału ziarna odmian Dańkowskie Złote i Amilo, w mące z ww. odmian, jak również w handlowej kaszce kukurydzianej, a w następnej kolejności w sporządzonych z tych surowców ekstrudatach – chrupkach, oznaczano zawartość składników funkcjonalnych, tj.:

- włókna pokarmowego (frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej) metodą AOAC, standard 991.43 [1],
- pentozańców (frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej) metodą orcynową wg Hashimoto i wsp. [6],
- alkilorezorcynoli metodą HPLC [5],
- polifenoli metodą Svaina i Hills'a [16]

Określono także aktywność przeciwutleniającą ekstraktów metanolowo-acetonowych, przy zastosowaniu syntetycznego rodnika ABTS, wg metody Re i wsp. [12].

Rozdziału surowych acetonowych ekstraktów dokonywano przy użyciu kolumny Waters, Nova-Pack® Silica, 3,9 x 150 mm, 4 µm, używając systemu HPLC firmy Waters wyposażonego w: Waters 600 Controller, Waters 717 plus Autosampler, Waters 996 Photodiode Array Detector. Jako fazę ruchomą zastosowano chloroform (LAB-SCAN) o szybkości przepływu 1 cm<sup>3</sup>/min. Detekcję piku alkilorezorcynoli prowadzono przy długości fali 280 nm. Do przygotowania krzywej wzorcowej użyto od 1 do 5 µg całkowitych żytnich alkilorezorcynoli. Wszystkie analizy przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

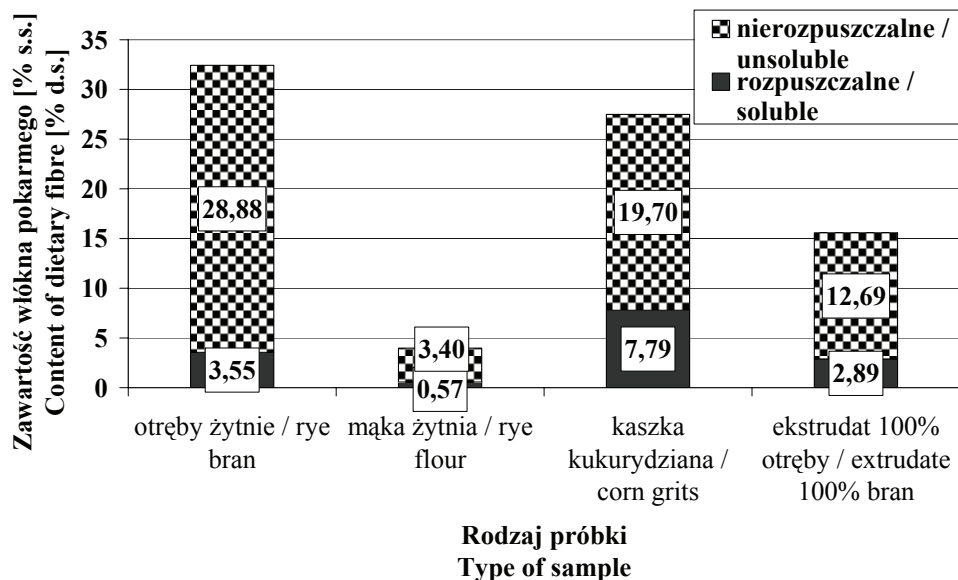
### **Wyniki i dyskusja**

Przemiany składników pokarmowych podczas ekstruzji są na ogół pozytywne, dlatego proces ten coraz częściej jest wykorzystywany w technologii żywności. Termiczna obróbka włókna pokarmowego może zmieniać nie tylko jego skład chemiczny, ale także

zdolności oddziaływania na przewód pokarmowy. Zmniejszenie się ilości frakcji nierozpuszczalnej pogarsza właściwości balastotwórcze i zdolność oddziaływania na perystaltykę jelit, przy jednoczesnym zwiększeniu zawartości frakcji rozpuszczalnych, chroniących organizm człowieka przed tzw. „chorobami cywilizacyjnymi” [15].

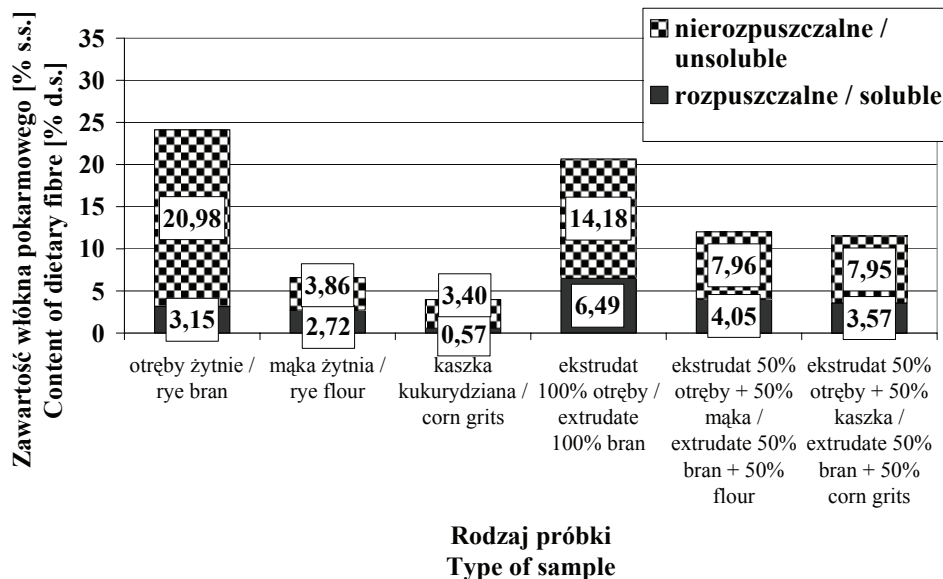
Analizując zawartość włókna pokarmowego w badanych ekstrudatach, stwierdzono dwukrotny wzrost zawartości frakcji rozpuszczalnej tego włókna w produktach finalnych ze 100% otrąb, w porównaniu z użytymi surowcami (rys. 1, 2 i 3). W chrupkach z 50-procentowym udziałem mąki lub kaszki kukurydzianej największą zawartość tej frakcji oznaczono stosując produkty przemiału ziarna żyta odmiany Dańkowskie Złote (rys. 3), dlatego ziarno tej odmiany można szczególnie polecić do przemysłowej produkcji tego typu wyrobów przekąskowych. Na wartość dietetyczną ocenianych chrupiek wpływa również zawartość pentozanów, a zwłaszcza ich frakcji rozpuszczalnej, która we wszystkich asortymentach kształtowała się podobnie, jak zawartość rozpuszczalnej frakcji włókna pokarmowego (rys. 4, 5 i 6), zgodnie ze stwierdzoną w badaniach wcześniejszych korelacją między tymi składnikami [4, 10]. Oceniając zatem zaobserwowane zmiany zawartości analizowanej frakcji nieskrobiowych polisacharydów, można poprzeć pogląd reprezentowany w wielu publikacjach na temat zwiększenia wartości prozdrowotnej surowców zbożowych poddanych procesowi ekstruzji [15].

Znaczniej słabiej poznaną grupą związków chemicznych o charakterze prozdrowotnym, od substancji wchodzących w skład włókna pokarmowego, są występujące w ziarnie żyta kwasy fenolowe towarzyszące substancjom pentozanowym oraz alkilorezorcynole. W otrębach żytnich jest ogółem pięciokrotnie więcej alkilorezorcyn niż w otrębach pszennych [13]. Wiadomo, że alkilorezorcyny wywierają szkodliwy wpływ na organizm zwierzęcy [13], stąd istnieje również potrzeba odpowiednich badań dotyczących żywienia człowieka. W nieprzetworzonej formie stwierdzono obecność alkilorezorcyn w osoczu krwi człowieka i w znacznej ilości w erytrocytach, z czego wynika, że są one absorbowane z pożywienia [8]. Długołańcuchowe alkilorezorcynole, obecne w otrębach zbożowych, charakteryzują się większą zdolnością wnikania w błony komórkowe, co powoduje wzrost ich przepuszczalności, a w przypadku erytrocytów nawet ich hemolizę [5, 13]. Pomimo wielu badań dotyczących efektów biochemicznych wywoływanych przez alkilorezorcyny, ich rola w organizmie, przyswajalność i metabolizm nadal nie są znane [7]. Dlatego też z rezerwą należy podchodzić do ich nadmiernej podaży w codziennej diecie, tzn. do spożywania surowych, niepoddanych obróbce termicznej otrąb, co jest propagowane w niektórych współczesnych dietach. Konsumenty stosujący dietę tzw. bogatoresztkową narażeni są na spożywanie znacznej ilości tych związków. Lorenz i Al-Ruqaie [9] zaobserwowali zmniejszenie zawartości alkilorezorcynoli w produktach otrzymanych w procesie ekstruzji. Wyniki badań



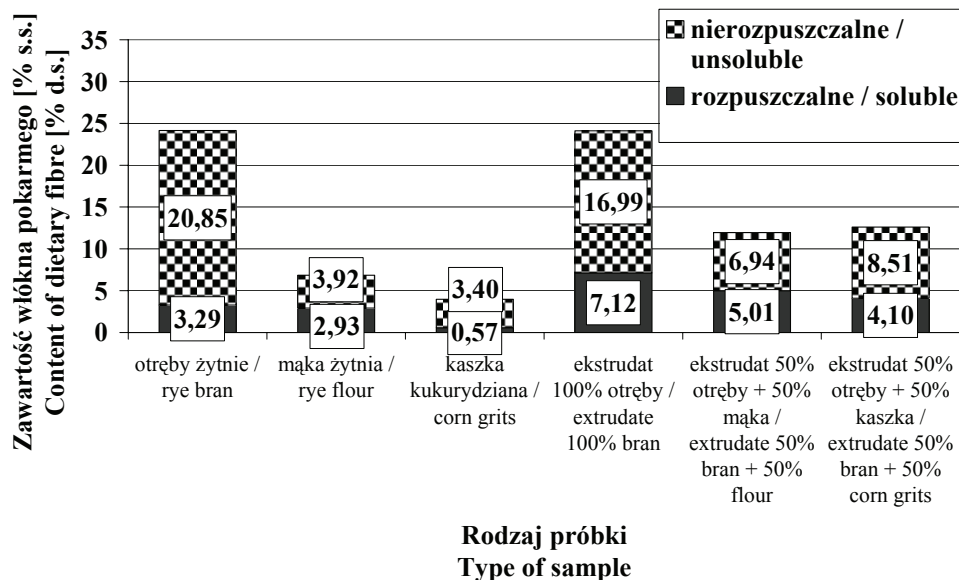
Rys. 1. Zawartość włókna pokarmowego w otrębach żytnich handlowych oraz w ekstrudatach z ich udziałem.

Fig. 1. Content of dietary fibre in commercial rye bran and in the extrudates containing this ingredient added.



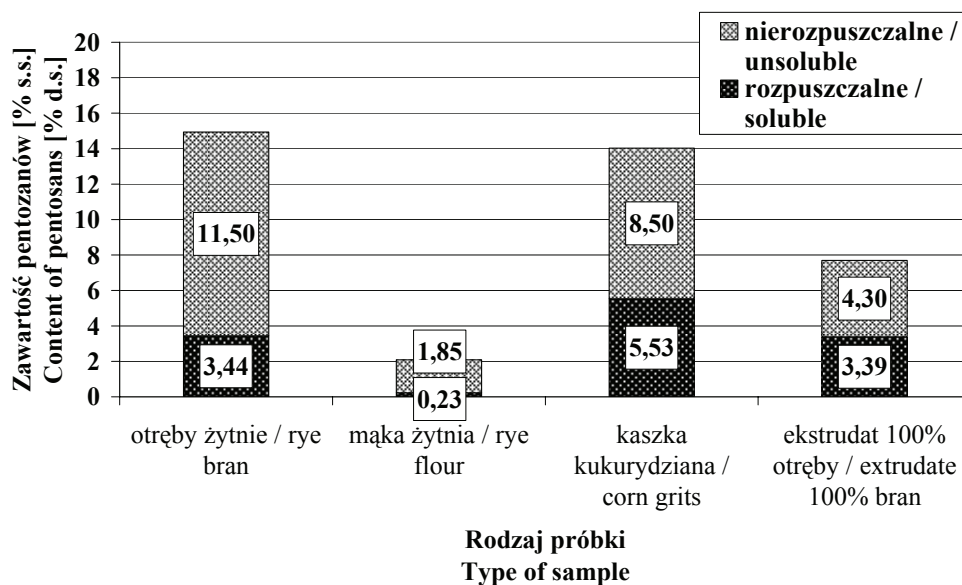
Rys. 2. Zawartość włókna pokarmowego w otrębach i w mące z żyta odmiany Amilo oraz w ekstrudatach z ich udziałem.

Fig. 2. Content of dietary fibre in rye bran and rye flour (Amilo variety) and in the extrudates with those ingredients added.



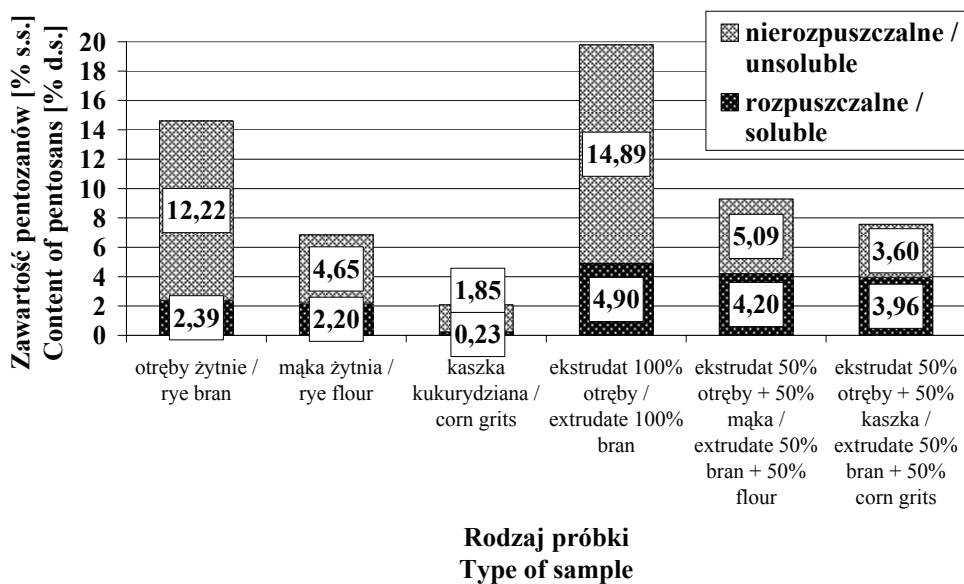
Rys. 3. Zawartość włókna pokarmowego w otrębach i w mące z żyta odmiany Dańkowskie Złote oraz w ekstrudatach z ich udziałem.

Fig. 3. Content of dietary fibre in rye bran and flour (Dankowskie Złote variety) and in the extrudates containing those ingredients added.



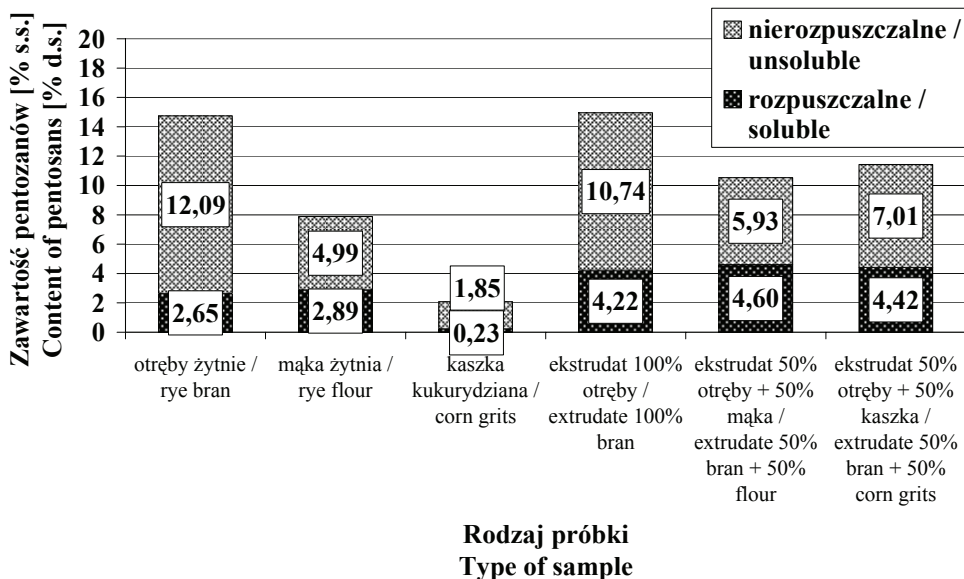
Rys. 4. Zawartość pentozanów w otrębach żytnich handlowych oraz w ekstrudatach z ich udziałem.

Fig. 4. Content of pentosans in commercial rye bran and in the extrudates containing this ingredient added.



Rys. 5. Zawartość pentozań w otrębach i w mące z żyta odmiany Amilo oraz w ekstrudatach z ich udziałem.

Fig. 5. Content of pentosans in rye bran and flour (Amilo variety) and in the extrudates containing those ingredients added.

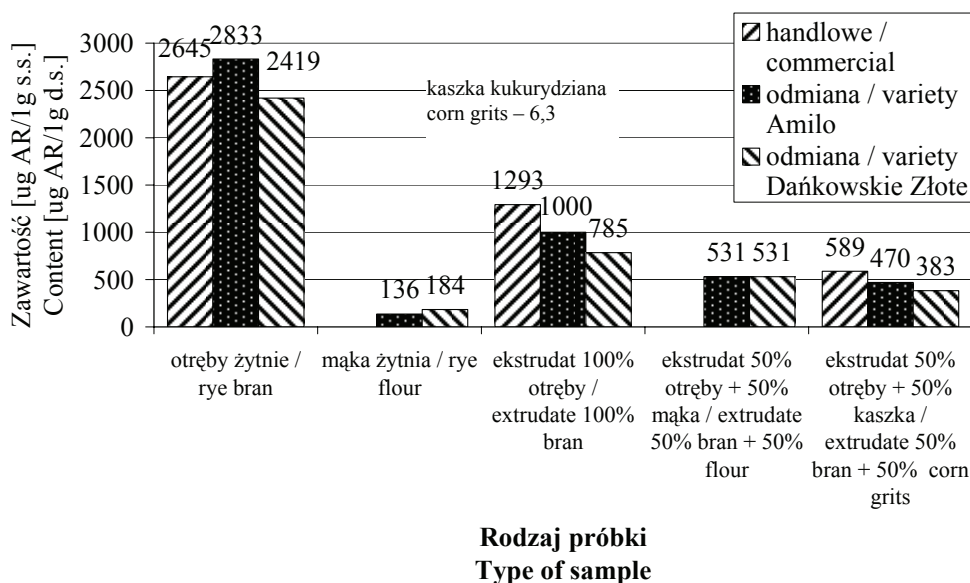


Rys. 6. Zawartość pentozań w otrębach i w mące z żyta odmiany Dańkowskie Złote oraz w ekstrudatach z ich udziałem.

Fig. 6. Content of pentosans in rye bran and flour (Dankowskie Złote variety) and in the extrudates with those ingredients added.



przedstawione w tej pracy potwierdzają te doniesienia, bowiem zawartość alkilorezorcynoli w chrupkach ze 100% otrąb zmniejszyła się 2–3 krotnie w odniesieniu do surowców, a najmniejszą zawartość tych związków oznaczono w ekstrudatach z 50-procentowym udziałem mąki żytniej lub takim samym udziałem kaszki kukurydzianej, ponieważ substancje te podczas przemiału ziarna zbóż w niewielkich ilościach przechodzą do mąki [14] (rys. 7).

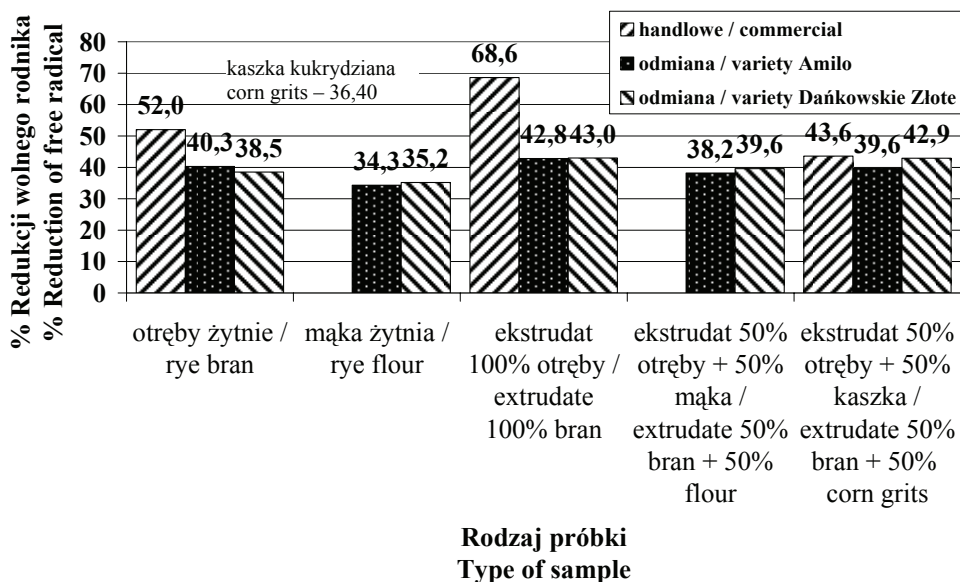


Rys. 7. Zawartość alkilorezorcynoli [µg] w 1 g suchej masy badanego materiału.

Fig. 7. Content of alkylresorcinols [g] in 1 g of dry matter of the material studied

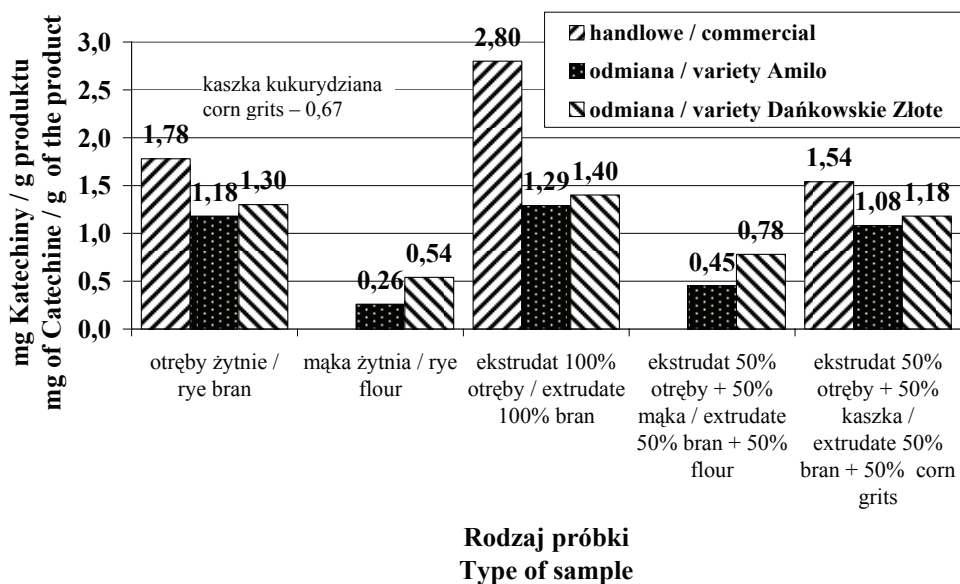
Ze względu na to, że podczas obróbki technologicznej przeciwutleniacze zawarte w surowcach spożywczych ulegają podobnym przemianom, jak i inne składniki, w przedstawionej pracy stosowane surowce oraz ekstrudaty poddano analizom oceniającym ich aktywność przeciwutleniającą oraz zawartość w nich polifenoli, jako głównych związków przeciwutleniających zawartych w pełnym ziarnie zbóż [2].

Jak wynika z danych zawartych na rys. 8 proces ekstruzji wpłynął korzystnie na zwiększenie zdolności do eliminowania wolnego, syntetycznego rodnika ABTS<sup>+</sup>, zwiększając procent jego redukcji przez ekstrakty sporządzone z badanych ekstrudatów. W przypadku ekstrudatów ze 100% otrąb żytnich handlowych aktywność przeciwutleniająca zwiększyła się o 32% w porównaniu z surowcem wyjściowym, a w przypadku chrupiek z otrąb pochodzących z przemiału laboratoryjnego, tj. żytnich odmiany



Rys. 8. Potencjał przeciwutleniający badanego materiału.

Fig. 8. Antioxidative potential of the material studied.



Rys. 9. Zawartość polifenoli w badanym materiale.

Fig. 9. Content of polyphenols in the material studied.

Dańkowskie Złote ok. 12%, a żytnich odmiany Amilo o ok. 6% (rys. 8). Potencjał przeciwutleniający kaszki kukurydzianej kształtował się na poziomie stosowanych mąk i był istotnie mniejszy w odniesieniu do otrąb, dlatego potencjał ten w przypadku wyrobów przekąskowych mieszanych był pośredni pomiędzy mąką/kaszka a otrębami.

Aktywność przeciwutleniająca badanych ekstrudatów w dużej mierze zależała od zawartości w nich związków fenolowych, bowiem oznaczono w nich wprost proporcjonalną ilość polifenoli do wykazanej zdolności redukcji wolnego rodnika ABTS<sup>+</sup> (rys. 9). Wyniki tych badań potwierdzają wcześniejsze obserwacje Zielińskiego i wsp. [18], którzy stwierdzili, że po procesie ekstruzji surowców zbożowych zawartość kwasu ferulowego (dominującego w ziarniakach żyta) zwiększa się ok. 3-krotnie, podczas gdy zawartość pozostałych związków przeciwutleniających ulega gwałtownemu zmniejszeniu. Z tego względu wyroby przekąskowe sporządzone z surowców żytnich wykazują lepsze właściwości prozdrowotne w porównaniu z chrupkami pszennymi, w których dominuje kwas p-kumarowy, bowiem w większym stopniu mogą eliminować wolne rodniki zawarte w pożywieniu, a tym samym hamować rozwój np. chorób nowotworowych [17].

Wszystkie wyniki przedstawione w tej pracy potwierdzają pogląd, że zaawansowana technologia ekstrudowania, w połączeniu ze zmianami składników funkcjonalnych, umożliwiła powstanie nowej generacji artykułów zbożowych i snaków o właściwościach prozdrowotnych. Łączą one teksturę lekkich, kruchych produktów, z właściwościami zdrowotnymi produktów spożywczych, w których stosuje się włókno pokarmowe.

## **Wnioski**

1. W badanych ekstrudatach stwierdzono dwukrotny wzrost zawartości rozpuszczalnej frakcji włókna pokarmowego i rozpuszczalnej frakcji pentozanów, w porównaniu z użytymi surowcami.
2. Po procesie ekstruzji w chrupkach ze 100% otrąb żytnich oznaczono około dwukrotnie mniejszą zawartość alkilorezorcynoli, w porównaniu z surowymi otrębami. Natomiast ekstrudaty z 50-procentowym udziałem otrąb, uzupełnione kaszką lub mąką, zawierały około dwukrotnie mniej tych związków, w odniesieniu do chrupek z samych otrąb.
3. Proces ekstruzji spowodował wzrost aktywności przeciwutleniającej uzyskanych ekstrudatów, niezależnie od stosowanego surowca. Potencjał przeciwutleniający wyrobów przekąskowych z otrąb i mąk żytnich korelował dodatnio z zawartością związków fenolowych w tych chrupkach.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] AOAC 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists 15<sup>th</sup> Edition, Arlington, Virginia, USA.
- [2] Baublis A., Decker E.A., Clydesdale F.M.: Antioxidant effect of aqueous extracts from wheat based ready-to-eat breakfast cereals. *Food Chem.*, 2000, **68**, 1-6.
- [3] Gambuś H., Golachowski A., Bala-Piasek A., Nowotna A., Surówka A., Mikulec A., Bania M.: Ocena jakości ekstrudowanych chrupek z otrąb zbożowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **4** (25), 54-63.
- [4] Gąsiorowski H., Kączkowski J., Kołodziejczyk P.: Skład chemiczny żyta. W: *Żyto – chemia i technologia - pod red. H. Gąsiorowskiego*. PWRiL, Poznań 1994, s. 52-107.
- [5] Gubernator J., Stasiuk M., Kozubek A.: Dual effect of alkylresorcinols, natural amphiphilic compounds, upon liposomal permeability. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, **1418**, 253-260.
- [6] Hashimoto S., Shogren M.D., Bolte L.C., Pomeranz Y.: Cereal pentosans: their estimation and significance: I. Pentosans in wheat and milled wheat products. *Cereal Chem.*, 1987, **64**, 39-41.
- [7] Linko A.-M., Adlercreutz H.: Whole-grain rye and wheat alkylresorcinols are incorporated into human erythrocyte membranes. *Br. J. Nutr.*, 2005, **93**, 11-13.
- [8] Linko A.-M., Parikka K., Wähälä K., Adlercreutz H.: Gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of alkylresorcinols in human plasma. *Anal Biochem.*, 2002, **308**, 307-313.
- [9] Lorenz K., Al-Ruqaie I.: Alkylresorcinols in commercial and experimental extruded high fibre breakfast cereals. *Lebensm. Wiss.-Technol.*, 1992, **25**, 248-252.
- [10] Mielcarz M.: Żywieniowa i technologiczna wartość nieskrobiowej frakcji cukrów (NSP) jako jednego ze składników mąki. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2004, **48**, 7, 10-11.
- [11] Nowotna A., Gambuś H., Gambuś F., Matusz-Mirlak A., Ziobro R.: Quality and properties of rye bran supplemented crisps. Book of abstracts. 50 Years ICC – Jubilee Conference 1955-2005 “Cereals – the Future Challenge”, Vienna, Austria, 2005, July 3-6, p. 137.
- [12] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.*, 1999, **26**, 1231-1237.
- [13] Ross A.B., Kamal-Eldin A., Lundin E.A., Zhang J., Hallmans G., Åman P.: Cereal alkylresorcinols are absorbed by humans. *J. Nutr.*, 2003, **133**, 2222-2224.
- [14] Ross A.B., Shepherd M.J., Schüpphaus M., Sinclair V., Alfaro B., Kamal-Eldin A., Åman P.: Alkylresorcinols in cereals and cereal products. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 4111-4118.
- [15] Rzedzicki Z.: *Studia nad procesem ekstruzji roślinnych surowców białkowych*. Rozprawa habilitacyjna. Wyd. AR, Lublin 1996.
- [16] Svain T., Hills W.E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, 1959, **10**, 63-68.
- [17] Vecchia C.L., Chatenoud L., Negri E., Franceschi S.: Whole grain cereals and cancer in Italy. *Proc. Nutr. Soc.*, 2003, **62**, 45-49.
- [18] Zieliński H., Kozłowska H., Lewczuk B.: Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.*, 2001, **2**, 159-169.

**THE CONTENT OF SOME SELECTED PRO-HEALTH INGREDIENTS IN EXTRUDATES  
CONTAINING RYE BRAN ADDED****S u m m a r y**

In this paper, there were compared the content of dietary fibre (including pentosans) and the content of biologically active compounds, i.e. polyphenols and alkylresorcinols, in rye bran, rye flour, corn grits, and in the extruded products, such as snacks, manufactured from these raw materials. It was proved that the manufactured extrudates contained a higher level of pro-health ingredients if compared with the raw materials, namely: the content of the soluble dietary fibre and pentosans was twice as high as in the raw materials; the content of alkylresorcinols was 2 to 3 times lower, and the antioxidative potential and content of polyphenols were significantly higher.

**Key words:** dietary fibre, alkylresorcinols, extruded snacks, polyphenols, antioxidizing activity ☒

KAROLINA STEPIŃSKA, MARIA SORAL-ŚMIETANA, HENRYK ZIELIŃSKI,  
ANNA MICHALSKA

## WPLYW OBRÓBKI TERMICZNEJ NA SKŁAD CHEMICZNY I WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE ZIARNIAKÓW GRYKI

### Streszczenie

Ziarniak gryki stanowią cenny materiał do komponowania żywności funkcjonalnej i stosowania w profilaktyce chorób dietozależnych.

Celem pracy było określenie wpływu obróbki cieplnej na skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające ziarniaków gryki. Materiał badań stanowiły obłuszczone ziarniak gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum*) krajowej odmiany Kora ze zbiorów w 2005 r. Obróbkę termiczną (160°C, 30 min) wykonano w modelowych badaniach laboratoryjnych. Obróbka cieplna obłuszczonych ziarniaków gryki powodowała zmniejszenie zawartości skrobi ogółem oraz frakcji skrobi odpornej i błonnika pokarmowego. Zaobserwowano także zmniejszenie zawartości związków fenolowych ogółem o około 5%. Zdolność ekstraktów metanolowych do wygaszania rodników DPPH<sup>\*</sup> i ABTS<sup>++</sup> obniżyła się o 6,3 i 10,9% w stosunku do ekstraktów z ziarniaków gryki niepoddanych obróbce, a wartości TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) wynosiły odpowiednio 7,6 i 18,0 μmol Trolox/g s.m. Stwierdzone obniżenie zdolności ekstraktów gryczanych do wymiatania dwóch typów wolnych rodników (DPPH<sup>\*</sup> i ABTS<sup>++</sup>) było skorelowane z zawartością związków fenolowych ogółem ( $r = 0,95$  i  $r = 0,99$ ).

**Słowa kluczowe:** ziarniak gryki, składniki odżywcze, pojemność przeciwutleniająca, proces termiczny

### Wprowadzenie

Żywność pochodzenia roślinnego stanowi bogate źródło naturalnych związków biologicznie aktywnych, których właściwości profilaktyczne są uwarunkowane przez aktywność przeciwutleniającą. Do takich substancji zalicza się przede wszystkim związki fenolowe, budzące szczególne zainteresowanie z uwagi na ich właściwości przeciwutleniające.

Ziarniak gryki zawierają szereg cennych składników odżywczych, takich jak: białka, skrobia, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, mikroelementy. Uwagę zwracają

---

Mgr K. Stepińska, prof. dr hab. M. Soral-Śmietana, doc. dr hab. H. Zieliński, mgr A. Michalska, Oddział Nauk o Żywności, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

również substancje pełniące funkcje fizjologiczne, do których należą błonnik pokarmowy, w tym skrobia oporna [11, 19]. Aktualnie obserwuje się wzrastające zainteresowanie surowcami, które mogłyby stanowić naturalne cenne źródło przeciwutleniaczy w diecie. Cechą szczególną ziarniaków gryki jest znacząca zawartość komponentów wykazujących specyficzne właściwości o biologicznej aktywności. Są to m.in.: flawonoidy, flawony, kwasy fenolowe, skondensowane taniny, fitosterole i fagopiryny [11]. Flawonoidy stanowią główną grupę naturalnych składników przeciwutleniających występujących w ziarniakach gryki [13]. Z ziarniaków gryki wyizolowano sześć związków zaliczanych do grupy flawonoidów: rutynę, kwercetynę, orientynę, witekсынę, izowitekсынę i izoorientynę. Jednak największy udział w ogólnej puli flawonoidów ma rutyna [7]. Zawartość rutyny w ziarniakach gryki jest zależna od gatunku, warunków środowiska podczas wzrostu rośliny oraz procesów technologicznych stosowanych w trakcie obróbki surowca; w suchej masie ziarniaków gryki jest jej od 4,97 do 35,9 mg/100 g [11]. Niektóre typy mąki gryczanej są zaliczane do produktów o wysokiej zawartości flawonoidów, ponieważ ich ilość znacznie przewyższa występującą w innych zbożach, kapuście, jabłkach, czerwonym winie czy herbacie [23].

Celem pracy było określenie wpływu procesu termicznego (ciepłego) na mikrostrukturę, skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające ziarniaków gryki.

### **Material i metody badań**

Analizie poddano ziarniaki gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum* Moench), krajowej odmiany Kora ze zbiorów Stacji Hodowli Roślin w Palikijach w 2005 r. Obróbkę termiczną wykonano w modelowych badaniach laboratoryjnych. Procesowi poddano obłuszczone mechanicznie ziarniaki gryki o wilgotności 14,5%, oddziałując temperaturą 160°C przez 30 min w komorze badań cieplnych KBC 65 W. Wyniki opracowano za pomocą pakietu Statistica for Windows [StatSoft, Inc., 1997]. Odchylenia standardowe wyznaczono z wyników dwóch niezależnych prób. Istotność różnic wartości średnich szacowano testem t-Studenta ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Analiza mikrostruktury (SEM) dotyczyła charakterystyki obrazów ziarniaków gryki przed i po obróbce termicznej. Odwodnione próbki materiału badań naklejano na krążek i napyłano złotem w napyłarce próżniowej JEOL, JEE-400. Obrazy preparatów obserwowano pod mikroskopem elektronowym JSM 5200 przy napięciu 10 keV.

Oznaczano zawartość: związków białkowych metodą Kjeldahla [2, 24] stosując przelicznik 6,25; skrobi metodą polarymetryczną [1] po wcześniejszej ekstrakcji w 70% etanolu rozpuszczalnych sacharydów; skrobi odpornej metodą Champ i wsp. [6]; składników mineralnych (popiół) [2, 25]. Błonnik pokarmowy analizowano metodą grawimetryczną wg Aspa i wsp. [3]. Związki fenolowe ogółem, flawonoidy ogółem oraz pojemność przeciwutleniającą analizowano w ekstraktach gryczanych otrzymanych w 80% MeOH. Oznaczenie zawartości związków fenolowych ogółem (TPC)

wykonano metodą wg Shahidi & Naczka [16], stosując odczynnik Folina-Ciocalteu'a, a absorbancję supernatantów mierzono przy długości fali 725 nm (spektrofotometr UV-160 1PC Shimadzu), wyrażając wynik jako ekwiwalent rutyny. Zawartość flawonoidów (TF) analizowano metodą wg Jia i wsp. [10], mierząc absorbancję przy długości fali 510 nm (UV-160 1PC), a wyniki wyrażano jako ekwiwalent rutyny.

Pojemność przeciwutleniającą 80% metanolowych ekstraktów z ziarniaków gryki przed i po obróbce cieplnej analizowano spektrofotometrycznie dwiema metodami polegającymi na wygaszaniu rodników DPPH<sup>•</sup> (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) [5] oraz rodników ABTS<sup>•+</sup> [14].

### Wyniki i dyskusja

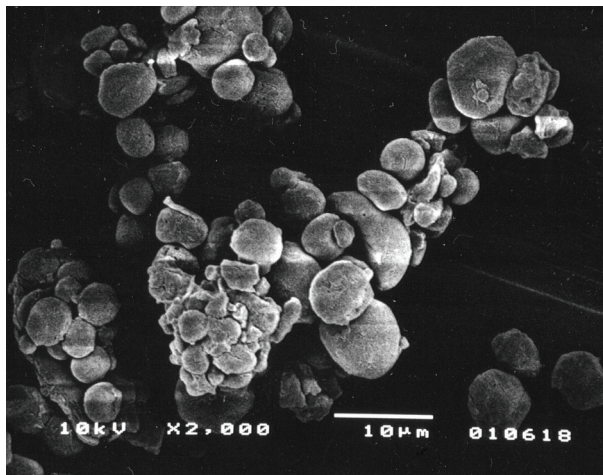
Na polskim rynku dostępne są dwa rodzaje kasz gryczanych: jasna (nieprażona) i ciemna (prażona) [12]. W celu oddzielenia okrywy nasiennej oraz polepszenia walorów smakowych i zapachowych kaszy stosuje się odpowiednio dobrane parametry technologiczne (temperatura, para wodna, ciśnienie, czas). Kaszarnie stosują różne warianty prażenia, procesy te jednak nie pozostają bez wpływu na jakość pokarmową i zawartość przeciwutleniaczy [7].

Analiza obrazów mikrostruktury laboratoryjnej mąki z ziarniaków gryki przed obróbką cieplną (fot. 1) i po jej zastosowaniu (fot. 2) wykazała zmiany w zakresie obu biopolimerów, zarówno białek, jak i skrobi. Granule skrobi przed obróbką cieplną miały kształt sferyczny, poligonalny z widocznymi płaskimi obszarami. Wielkość granul była zróżnicowana i mieściła się w zakresie od 1 do 10  $\mu\text{m}$ , a w obserwowanej próbie mąki gryczanej przeważały struktury skrobi od 3–5 (fot. 1). Zastosowana doświadczalna obróbka termiczna spowodowała widoczne zmiany w mikrostrukturze wewnętrznej części granul skrobi oraz na ich powierzchni (fot. 2). Podobne wyniki uzyskały Stempińska i Soral-Śmietana [20], analizując wyodrębnioną skrobię z mąki gryczanej przed i po prażeniu. Jednak obróbka termiczna w mniejszym stopniu wpłynęła na mikrostrukturę skrobi niż proces hydrotermiczny [18].

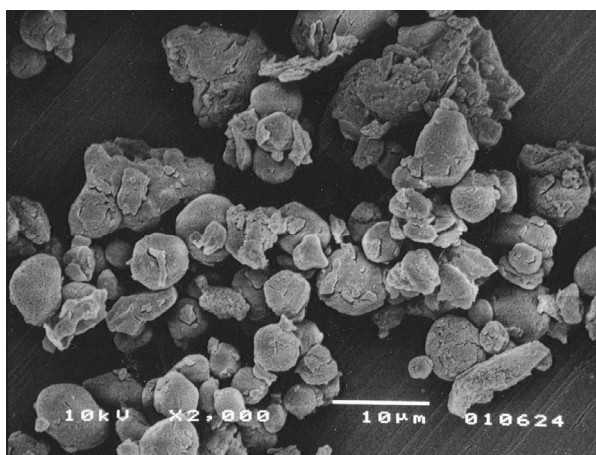
Analizowano wpływ stosowanej obróbki cieplnej na główne składniki chemiczne, a uzyskane wyniki zestawiono w tab. 1.

W obłuszczonych ziarniakach gryki przed obróbką termiczną zawartość związków mineralnych, oznaczonych w postaci popiołu, wyniosła ok. 2% s.m. (tab. 1). Otrzymane wartości są porównywalne z podanymi w literaturze, według których zawartość popiołu w obłuszczonych ziarniakach gryki zawiera się w granicach 2–2,5% s.m. [4, 19].





Fot. 1. Obraz SEM obłuszczonych ziarniaków gryki przed obróbką cieplną.  
Phot. 1. SEM micrograph of dehulled buckwheat grains before thermal treatment.



Fot. 2. SEM obłuszczonych ziarniaków gryki po obróbce cieplnej.  
Phot. 2. SEM micrograph of dehulled buckwheat grains after thermal treatment.

Ziarniak gryki są cennym źródłem białka, a decydujący wpływ na ich wartość odżywczą oraz jakość ma wysoka zawartość kwasu glutaminowego i asparaginowego oraz egzogennej lizyny, gdy porówna się je z najczęściej obecnymi w żywności białkami zbóż [21]. Zawartość białek w ziarniakach gryki Wei i wsp. [22] określają w zakresie od 13 do 15,5% s.m. Analiza ilości białka w ziarniakach gryki przed i po obróbce termicznej wykazała, że zawartość tego biopolimeru wynosiła od ok. 16 do 17% s.m. (tab. 1.) Zaznaczyć należy wysoką stabilność gatunkową gryki, biorąc pod uwagę zawartość białka w ziarniakach określoną na podstawie analizy trzech polskich

odmian gryki [19] i porównując do zawartości białek analizowanych wcześniej w handlowych próbach ziarniaków gryki polskiej oraz brazylijskiej [17].

Tabela 1

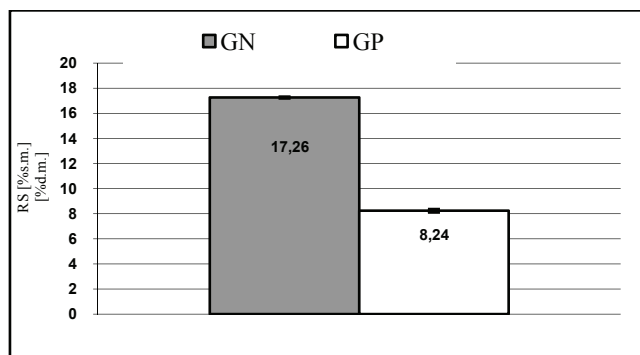
Skład chemiczny badanych ziarniaków gryki.  
Chemical composition of analyzed buckwheat grains.

Próba Sample	Wilgotność Moisture [%]	Zawartość popiołu [% s.m.] Ash [% d.m.]	Zawartość białka [% s.m.] Protein [% d.m.]	Zawartość skrobi [% s.m.] Starch [% d.m.]
Obluszczone ziarniaki gryki Dehulled buckwheat grains	14,47 ± 0,07	2,00 ± 0,03	15,85 ± 0,37	77,29 ± 2,72
Obluszczone ziarniaki gryki po obróbce cieplnej Dehulled buckwheat after thermal treatment	5,02 ± 0,10	2,20 ± 0,01	17,35 ± 0,05	69,60 ± 2,45

Skrobia jest głównym składnikiem zapasowym ziarniaków gryki, a jej zawartość kształtuje się w zakresie od 59 do 79% s.m., [19]. Na koncentrację skrobi w ziarniakach gryki zwyczajnej w niewielkim stopniu wpływa odmiana [19], zaś wahania mogą być bardziej powodowane warunkami klimatycznymi i uprawowymi [11]. Wyniki uzyskane w tym doświadczeniu, na skutek zastosowania procesu cieplnego na ziarniaki przy ograniczonej ilości wody wolnej, wskazują na częściową degradację termiczną skrobi gryczanej (tab. 1). Sugerować to może pojawienie się w tych warunkach procesu termicznej dekstrynizacji tej skrobi.

Wśród składników pełniących funkcje fizjologiczne na szczególną uwagę zasługuje błonnik pokarmowy, w tym skrobia oporna. Są one niezbędnym składnikiem diety stosowanej w profilaktyce chorób cywilizacyjnych i dietozależnych, jak m.in. miażdżyca, cukrzyca i otyłość [4, 11]. Analizując zmiany zawartości frakcji skrobi odpornej na hydrolizę  $\alpha$ -amylazą trzustkową w ziarniakach gryki przed i po obróbce termicznej, odnotowano około dwukrotne zmniejszenie ilości po zastosowaniu tej obróbki (rys. 1). Uzyskane wyniki wskazują, że z jednej strony znaczący udział w tworzeniu frakcji skrobi odpornej w ziarniakach gryki miały trudne do hydrolizy enzymatycznej struktury granule skrobi (RS typu 2) lub fragmenty liścieni (RS typu 1). Natomiast pod wpływem obróbki cieplnej uległy one zmniejszeniu ilościowemu RS 2 z dużym prawdopodobieństwem pojawienia się puli dekstryn, zaliczanych do skrobi odpornej, jako produkty

degradacji skrobi, lecz niemożliwych do oznaczenia za pomocą stosowanej w tych badaniach metody. Analitycznie za pomocą dostępnych metod *in vitro* niemożliwe jest określenie ilościowe dekstryn [6], choć włączone są one do ogólnej puli skrobiowej jako produkty jej degradacji.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

GN- ziarniaki obłuszczone/ dehulled grains; GP- ziarniaki obłuszczone po obróbce cieplnej / dehulled grains after thermal treatment.

Rys. 1. Zawartość RS w badanych ziarniakach gryki.

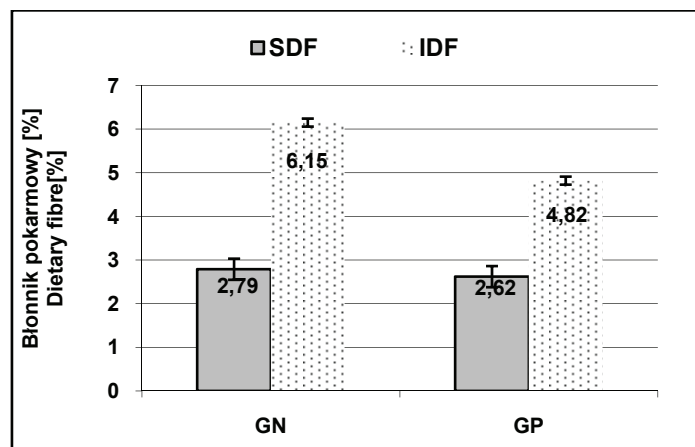
Fig. 1. Content of resistant starch of analyzed buckwheat grains.

Charakteryzując błonnik pokarmowy należy odnotować stabilną frakcję błonnika rozpuszczalnego (SDF) oraz podobną tendencję do zmian skrobi odpornej w obrębie frakcji błonnika nierozpuszczalnego (IDF) na skutek zastosowanego procesu cieplnego (rys. 2). Tłumaczyć to można oddziaływaniem procesu na wrażliwe struktury hemiceluloz oraz pektyn.

Za występowanie chorób cywilizacyjnych odpowiedzialne są wolne rodniki, powstające w nadmiarze w organizmie człowieka. W ostatnich latach do produkcji żywności poszukuje się surowców zawierających metabolity wtórne o działaniu przeciwutleniającym [7]. W ziarniakach gryki szczególną aktywność przeciwutleniającą wykazują przede wszystkim flawonoidy, które występują tylko w surowcach roślinnych. Gryka jest natomiast uboga w kwasy fenolowe występujące głównie w postaci wolnych kwasów hydroksycynamonowych oraz estrów i glikozydów kwasu syringinowego, wanilinowego czy *p*-kumarowego [9].

Wyznaczone wartości potencjału przeciwutleniającego w badanym materiale zestawiono w tab. 2. Po analizie z kationorodnikiem ABTS<sup>+</sup> oraz rodnikiem DPPH zaobserwowano, że gryka po obróbce cieplnej wykazywała istotne zmniejszenie pojemności przeciwutleniającej w stosunku do ziarniaków gryki przed procesem termicznym. Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowany proces termiczny sprzyjać może

obniżeniu pojemności przeciwutleniającej ekstraktów gryczanych uzyskanych w 80% metanolu. Şensoy i wsp. [15] również stwierdzili, że prażenie (200°C, 10 min) obniża aktywność przeciwutleniającą ziarniaków gryki, natomiast prowadzony w temp. 170°C proces ekstruzji nie przyczynia się do jej zmniejszenia.



Objaśnienia jak na rys. 3. / Explanatory notes as in Fig. 3.

Rys. 2. Zawartość błonnika pokarmowego w badanych ziarniakach gryki.

Fig. 2. Content of dietary fibre of analyzed buckwheat grains.

Tabela 2

Potencjał przeciwutleniający badanych ziarniaków gryki.

Antioxidant potential of analyzed buckwheat grains.

Próba Sample	TEAC [Trolox Equivalent Antioxidant Capacity]	
	ABTS <sup>+</sup> [µmol Trolox/g s.m.]	DPPH [µmol Trolox/g s.m.]
Obluszczone ziarniaki gryki Dehulled buckwheat grains	20,22 ± 0,22 <sup>a</sup>	8,13 ± 0,20 <sup>a</sup>
Obluszczone ziarniaki gryki po obróbce cieplnej Dehulled buckwheat grains after thermal treatment	18,02 ± 0,77 <sup>b</sup>	7,62 ± 0,31 <sup>a</sup>

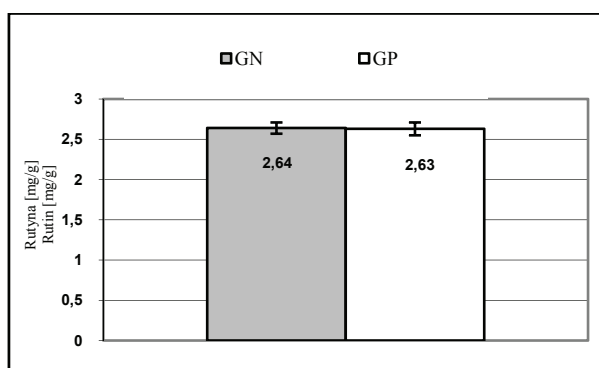
Objaśnienia: / Explanatory notes:

a ,b,... – wartości oznaczone w indeksie tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (P > 0,5),

a ,b,... – those mean values that are followed by the same letter in superscripts are not significantly different (P > 0.5).

Na podstawie wyznaczonej korelacji pomiędzy zawartością polifenoli ogółem (w ziarniakach poddanych i niepoddanych obróbce cieplnej) a ich aktywnością przeciwutleniającą ( $r = 0,95$ ,  $r = 0,99$ ) można stwierdzić, że aktywność przeciwutleniająca jest związana z obecnością związków fenolowych w ziarniakach gryki.

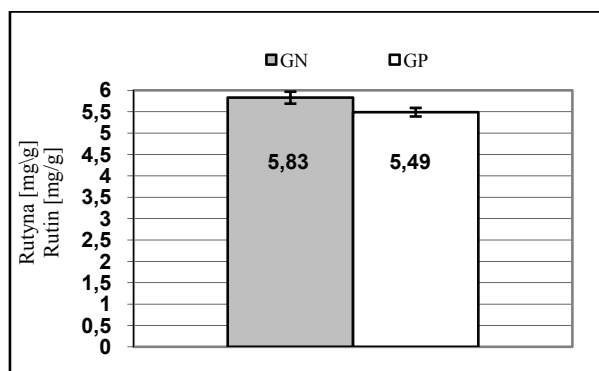
Na podstawie wyników analizy ilościowej związków fenolowych ogółem (rys. 3) oraz flawonoidów (rys. 4) w ziarniakach gryki stwierdzono, że obróbka termiczna w niewielkim stopniu wpłynęła na zmiany ich zawartości. Uzyskane wartości są zbliżone do danych literaturowych [8, 13] i wskazują, że ziarniaki gryki charakteryzują się wysoką zawartością polifenoli.



Objaśnienia jak na rys. 3. / Explanatory notes as in Fig. 3.

Rys. 3. Zawartość związków fenolowych w badanych ziarniakach gryki

Fig. 3. Total polyphenol content of analyzed buckwheat grains



Objaśnienia jak na rys. 3. / Explanatory notes as in Fig. 3.

Rys. 4. Zawartość flawonoidów w badanych ziarniakach gryki.

Fig. 4. Flavonoids content of analyzed buckwheat grains.

Podsumowując uzyskane wyniki badań modelowych, należy stwierdzić, że obróbka termiczna ziarniaków gryki, poza oddziaływaniem na niektóre składniki chemiczne, nie spowodowała znaczącego zmniejszenia właściwości przeciwutleniających, jakkolwiek otrzymane wyniki wymagają dalszej weryfikacji z zastosowaniem surowców i produktów gryczanych uzyskanych w warunkach przemysłowej linii technologicznej.

### Wnioski

1. Ziarniaki gryki odmiany 'Kora' są cennym źródłem substancji o znaczeniu odżywczym i fizjologicznym.
2. Zastosowana obróbka termiczna ziarniaków gryki wpłynęła na mikrostrukturę granul skrobi, zmniejszyła zawartość skrobi ogółem i frakcji skrobi odpornej oraz nierozpuszczalnego błonnika pokarmowego.
3. Ze względu na wysoką pojemność przeciwutleniającą i znaczący udział flawonoidów w ogólnej puli związków fenolowych, produkty gryczane mogą stanowić wartościowy składnik uzupełniający w diecie.

*Pracę wykonano w ramach grantu zamawianego PBZ-KBN-094/P06/2003/13 oraz w ramach wsparcia finansowego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Unii Europejskiej w ramach projektu Z/2.28/II/2.6/00015/06 "Transfer wiedzy pomostem do innowacyjności i konkurencyjności gospodarczej regionu - stypendia doktoranckie". Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] AOAC. Official Methods of Analysis. 12<sup>th</sup> ed., Washington, USA, 1975.
- [2] AOAC. Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed., Arlington, Virginia, 1990.
- [3] Asp N., Johansson C., Hallmer H., Siljeström M.: Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J. Agric. Food Chem.*, 1983, **31**, 476-482.
- [4] Bonafaccia G., Marocchini M., Kreft I.: Composition and technological properties of the flour and bran common and tartary buckwheat. *Food Chem.*, 2003, **80**, 9-15.
- [5] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 1995, **28**, 25-30.
- [6] Champ M., Martin L., Naoh., Gratas M.: Analytical methods for resistant starch. In: *Complex carbohydrates in Food*. Eds. S. Sungsoo Cho, L. Prosky, M. Dreher. Marcel Dekker, Inc. New York 1999.
- [7] Dietrych-Szóstak D., Oleszek W.: Obróbka technologiczna a zawartość antyoksydantów w przetworach gryczanych. *Przem. Spoż.*, 2001, **1**, 42-43.
- [8] Fabjan N., Rode J., Košir I.J., Zhang Z., Kreft I.: Tartary buckwheat (*Fagopyrum tartaricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercetin. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 6452-6455.

- [9] Grajek W., (red.): Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne technologiczne molekularne i analityczne. WNT, Warszawa 2007.
- [10] Jia Z., Tang M., & Wu J.: The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.*, 1998, **64**, 555-559.
- [11] Krkošková B., Mrázová Z., Prophylactic components of buckwheat. *Food Res. Int.*, 2005, **38**, 561-565.
- [12] Mindell E.: Żywność jako lekarstwo. Wyd. Wiedza i Życie, Warszawa 1996.
- [13] Oomah D.B., Mazza G.: Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44** (7), 1746-1750.
- [14] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS Radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 1999, **26**, 1291-1237.
- [15] Şensoy I., Rosen T., Ho C.T., Karwe M.V.: Effect of processing on buckwheat phenolics and antioxidant activity. *Food Chem.*, 2006, **99**, 388-393.
- [16] Shahidi F. Naczek M.: Methods of analysis and quantification of phenolic compounds. In: Shahidi F. Naczek M (eds) *Food Phenolic: Sources, Chemistry, Effects and Applications*. Lancaster / Pennsylvania: Technomic Publishing Company, 1995, pp. 287-293.
- [17] Soral-Śmietana M.: Białka ziarna gryki. *Post. Nauk Roln.*, 1984, **3**, 35-46.
- [18] Soral-Śmietana M., Fornal Ł., Fornal J.: Characteristics of buckwheat grain starch and the effect of hydrothermal processing upon its chemical composition, properties and structure. *Starch/Stärke.*, 1984, **36** (5), 153-158.
- [19] Stępińska K., Soral-Śmietana M.: Składniki chemiczne i ocena fizykochemiczna ziarniaków gryki – porównanie trzech polskich odmian. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47), 348-357.
- [20] Stępińska K., Soral-Śmietana M.: Starch of native and roasted buckwheat grains-structure, chemical composition and functionality. *Acta Biochimica Polonica*, 2007, **54**, 12-13.
- [21] Tomotake H., Yamamoto N., Yanaka N., Ohinata H., Yamazaki R., Kayashita J., Kato N.: High protein buckwheat flour suppresses hypercholesterolemia in rats and gallstone formation in mice by hypercholesterolemic diet and body fat in rats because of its low protein digestibility. *Nutrition*, 2006, **22**, 166-173.
- [22] Wei Y., Hu X., Zhang G., Ouyang S.: Studies on the amino acid and mineral content of buckwheat protein fractions. *Nahrung/Food*, 2003, **47**, 114-116.
- [23] Zieliński H., Kozłowska H.: Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 2008-2016.
- [24] PN-EN ISO 3593:1994. Oznaczanie zawartości azotu metodą Kjeldahla. Metoda spektrofotometryczna.
- [25] PN-EN ISO 3188:1994. Oznaczanie popiołu.

#### EFFECT OF THERMAL TREATMENT ON CHEMICAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BUCKWHEAT GRAINS

##### Summary

The buckwheat grains make valuable material for the food industry to compose functional food and to use it in the prevention and therapy of diseases dependent on diet.

The aim of the researches was to determine the influence of thermal treatment on chemical and antioxidant properties of buckwheat grains. The material was dehulled buckwheat grains (*Fagopyrum esculentum*) of domestic variety Kora of harvest in 2005. The thermal treatment (160°C, 30 min) was carried out

in model laboratory experiments. The thermal process of dehulled buckwheat grains caused a decrease in the content of total starch, resistant starch fraction and dietary fibre. A decrease in total phenolic compounds content by about 5% was also observed. The ability of methanolic extracts to remove free radicals DPPH° and ABTS<sup>+•</sup> decreased by 6.3% and 10.9% in comparison with buckwheat grains not processed, and the TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) values reached respectively 7.6 and 18.0 µmol Trolox/g d.m. The stated drop of ability of buckwheat grains extracts to remove of two types of free radicals (DPPH° and ABTS<sup>+•</sup>) was correlated with the total phenolic compounds content ( $r = 0.95$  and  $r = 0.99$ ).

**Key words:** buckwheat grains, nutrients, antioxidant capacity, thermal treatment ☒



AGNIESZKA ZEMBOLD-GUŁA, JÓZEF BŁAŻEWICZ

## WPŁYW MODYFIKACJI CZASU SŁODOWANIA ZIARNA JĘCZMIENIA NA CECHY BRZECZEK OTRZYMANÝCH Z UDZIAŁEM GRYSU KUKURYDZIANEGO

### Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu cech odmianowych, grubości oraz czasu słodowania ziarna jęczmienia browarnego na wybrane cechy brzeczki laboratoryjnych otrzymanych z 4-, 5- i 6-dniowych sładów typu pilzneńskiego z 20% dodatkiem grysu kukurydzianego. Materiałem badawczym było ziarno 10 odmian jęczmienia browarnego (Class, Blask, Riviera, Lailla, Hanka, Sebastian, Bolina, Philadelphia, Tolar, Stratus), z sezonu wegetacyjnego 2005 oraz grys kukurydziany o granulacji 500–1250  $\mu\text{m}$ . Do produkcji 4-, 5- i 6-dniowych sładów użyto dwie frakcje ziarna o grubości 2,5–2,8 mm oraz ponad 2,8 mm. Słodowanie ziarna jęczmienia przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych, stosowanych przy otrzymywaniu sładów typu pilzneńskiego. Gryś kukurydziany, w ilości 20% zasypu, łączono z wodą w stosunku 1:5 i poddawano kleikowaniu w temp. 90°C przez 10 min. Skleikowany surowiec niesłodowany zacierano wraz ze sładem metodą kongresową. W uzyskanych brzeczki laboratoryjnych oznaczono: zawartość ekstraktu, barwę, lepkość, ostateczny stopień odfermentowania oraz zawartość azotu ogółem i azotu  $\alpha$ -aminowego. Obliczono również ekstraktywność sładów oraz kompozycji sładów z grysem kukurydzianym. Próbkami stanowiącymi obiekt porównawczy były brzeczki wytworzone bez dodatku niesłodowanego. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że cechy odmianowe ziarna jęczmienia browarnego wpływają istotnie na większość cech badanych brzeczki. Dodatek 20% grysu kukurydzianego powoduje zwiększenie ekstraktywności zacierów i lepkości brzeczki, a także zmniejszenie intensywności ich barwy, stopnia ostatecznego odfermentowania oraz zawartości azotu ogółem i azotu  $\alpha$ -aminowego. Brzeczki uzyskane ze sładów wyprodukowanych z ziarna jęczmienia o zróżnicowanej grubości różnią się istotnie tylko pod względem intensywności zabarwienia. Słodowanie 5-dniowe ziarna jęczmienia, w porównaniu z 4- i 6-dniowym, przyczynia się do uzyskania brzeczki o najlepszych parametrach technologicznych.

**Słowa kluczowe:** brzeczka, sład, ziarno jęczmienia, grys kukurydziany

### Wprowadzenie

Warunkiem użycia określonej odmiany jęczmienia w słodownictwie jest odpowiednia jakość ziarna, umożliwiającą otrzymanie w odpowiednio krótkim czasie sła-

dów spełniających wymagania technologiczne browarów. Postęp hodowlany przyczynia się do intensyfikacji przemian enzymatycznych bielma nowych odmian jęczmienia browarnego, co może wpływać zarówno na czas otrzymywania sładów, jak i ich ekstraktywność.

Zastępowanie sładów surowcami niesłodowanymi jest uzasadnione ekonomicznie. Użycie produktów przemiału ziarna kukurydzy umożliwi produkcję piw cenionych przez konsumentów, np. za inny smak lub umiarkowaną cenę [13]. Uważa się, że grys kukurydziany jest jednym z najistotniejszych zamienników sładów w skali światowej. Szczegółowe badania nad jego zastosowaniem w piwowarstwie prowadzi się w różnych ośrodkach naukowych na całym świecie [1, 8, 9, 10, 11, 12].

Celem pracy było określenie wpływu cech odmianowych, grubości oraz czasu słodowania ziarna jęczmienia browarnego na wybrane cechy brzeczki laboratoryjnych otrzymanych z 4-, 5- i 6-dniowych sładów typu pilzneńskiego z 20% dodatkiem grysu kukurydzianego.

### **Materialy i metody badań**

Materiałem badawczym było ziarno 10 odmian jęczmienia browarnego: Class, Blask, Riviera, Lailla, Hanka, Sebastian, Bolina, Philadelphia, Tolar, Stratus, z sezonu wegetacyjnego 2005, pochodzące ze ścisłych doświadczeń polowych, z Rolniczego Zakładu Doświadczalnego w Pawłowicach oraz grys kukurydziany o granulacji 500-1250  $\mu\text{m}$  (85,4% skrobi i 8,3% białka), pobrany z firmy Biocorn.

Do produkcji 4-, 5- i 6-dniowych sładów użyto frakcji ziaren o grubości 2,5–2,8 mm i ponad 2,8 mm. Słodowanie ziarna jęczmienia przeprowadzano w warunkach laboratoryjnych, stosowanych przy otrzymywaniu sładów typu pilzneńskiego [7].

Grys kukurydziany, w ilości 20% zasypu, łączono z wodą w stosunku 1:5 i poddawano kleikowaniu w temp. 90°C przez 10 min. Skleikowany surowiec niesłodowany zacierano wraz ze sładem, postępując zgodnie z procedurą wytwarzania brzeczki kongresowych.

W pracy określano: ekstraktywność sładów i zacierów z 20% udziałem grysu kukurydzianego, lepkość, barwę i stopień ostatecznego odfermentowania brzeczki oraz zawartość związków azotowych ogółem i azotu alfa-aminowego. Ocenę brzeczki laboratoryjnych (kongresowych) otrzymanych z samych sładów oraz z 20% dodatkiem grysu przeprowadzono zgodnie z wymaganiami analityki EBC [2].

Wyniki oznaczeń poddano analizie statystycznej używając w tym celu pakietu *Statistica*.

## Wyniki i dyskusja

W piwowarstwie najczęściej stosowanymi surowcami niesłodowanymi są kukurydza, pszenica i ryż [6, 8, 9, 10, 13]. W niniejszej pracy oceniano wpływ cech odmianowych, dorodności (grubości) ziarniaków oraz czasu ich kiełkowania na cechy brzeczek laboratoryjnych, otrzymanych z 20% dodatkiem grysu kukurydzianego (tab. 1).

Stwierdzono, że cechy odmianowe jęczmienia browarnego powodują istotną statystycznie zmienność cech brzeczek piwnych. Ich wartości mieszczą się jednak w zakresie akceptowanym przez piwowarów [13].

Jednym z ważniejszych wyróżników użytkowych słodu jest jego ekstraktywność. Słód pilzneński dobrej jakości powinien charakteryzować się ekstraktywnością nie mniejszą niż 79,5% [13]. Ektraktywność jest także głównym wyróżnikiem efektywności pracy warzelni. Uzyskane wyniki wskazują, że cechy odmianowe jęczmienia różnicują ekstraktywność sładów zacieranych samodzielnie lub z dodatkiem grysu kukurydzianego w zakresie od 79,9 do 81,6% s.m. Świadczy to o dużym wyrównaniu jakościowym ziarna pobranego z jednorocznego doświadczenia poletkowego, założonego w ramach porejestrowego doświadczalnictwa odmianowego (PDO). Stwierdzono również, że użycie 20% dodatku grysu przyczyniło się do zwiększenia ekstraktywności. W porównaniu z 4-dniowym, 5- i 6-dniowy czas słodowania ziarna, także wpłynął istotnie na zwiększenie ekstraktywności. Wbrew oczekiwaniom nie stwierdzono natomiast wpływu grubości ziarna 2,5–2,8 mm i ponad 2,8 mm na wielkość tego parametru.

Barwa brzeczek informuje o typie słodu użytego do jej wyprodukowania. W przypadku sładów typu pilzneńskiego jej wartość powinna wynosić do 4 jednostek EBC [13]. Barwa brzeczek laboratoryjnej była zależna od odmiany ziarna użytej do otrzymywania sładów. Zaobserwowano również zjawiska: rozcieńczania związków barwnych sładów produktami hydrolizy grysu kukurydzianego (zawierającego mniej substancji barwnych), zwiększania w brzeczkach związków barwnych w wyniku dłuższego (5- i 6-dniowego) słodowania oraz otrzymywania ciemniejszej brzeczek ze sładów wyprodukowanych z ziarna drobniejszego, w którym stosunek okrywy owocowo-nasiennej do bielma był większy niż w ziarnie grubszym.

Lepkość brzeczek zależy od aktywności enzymów cytolitycznych i amylolitycznych ziarna oraz sładów, a także od zawartości polisacharydów nieskrobiowych, głównie  $\beta$ -glukanów. Jej wartość powinna mieścić się w przedziale 1,51–1,63 mPa·s [13]. Duża lepkość jest najczęściej występującą wadą brzeczek pozyskiwanych z nienormalnych sładów lub efektem użycia surowców niesłodowanych, będących źródłem polisacharydów nieskrobiowych [4, 5, 13]. W czasie przerobu surowców niesłodowanych w warzelni rutynowo używane są preparaty zawierające hydrolazy polisacharydów nieskrobiowych, jako środki zmniejszające lepkość i jednocześnie zwiększające wydajność ekstraktu [3, 4]. Lepkość wszystkich brzeczek była mniejsza od 1,53 mPa·s,

Tabela 1

Wybrane cechy zacierów i brzezek w zależności od odmiany ziarna jęczmienia, jego grubości i czasu słodowania oraz udziału grysu kukurydzianego w zasypie.

Selected properties of mashes and worts in dependence on barley grain cultivar, its thickness and malting time and the share of maize grits in charge.

Czynnik różnicujący Differential factor		Ekstraktywność zacieru [% s.m.] Mash extractivity [% d.m.]	Barwa brzezki [j. EBC] Wort's colour [EBC units]	Lepkość brzezki Wort's viscosity [ mPa·s ]	Zawartość z w. azotowych ogółem Total soluble nitrogen content [mg/dm <sup>3</sup> ]	Za wartość azotu $\alpha$ -aminowego Free amino nitrogen content [mg/dm <sup>3</sup> ]	Ostateczny stopień odfer- mentowania Wort's apparent final attenuation [%]
Odmiana jęczmienia Barley cultivar	Class	81,3 <sup>a</sup>	5,14 <sup>c</sup>	1,39 <sup>be</sup>	960 <sup>ac</sup>	207 <sup>a</sup>	69,3 <sup>ab</sup>
	Blask	80,8 <sup>abc</sup>	4,59 <sup>b</sup>	1,41 <sup>cd</sup>	1010 <sup>ab</sup>	236 <sup>b</sup>	68,2 <sup>ade</sup>
	Riviera	80,3 <sup>bc</sup>	5,54 <sup>c</sup>	1,37 <sup>a</sup>	963 <sup>ac</sup>	240 <sup>b</sup>	66,2 <sup>c</sup>
	Lailla	81,0 <sup>ab</sup>	5,45 <sup>c</sup>	1,38 <sup>ab</sup>	991 <sup>ab</sup>	213 <sup>ac</sup>	69,0 <sup>ab</sup>
	Hanka	80,7 <sup>abc</sup>	4,52 <sup>ab</sup>	1,42 <sup>df</sup>	1053 <sup>b</sup>	232 <sup>bc</sup>	68,4 <sup>abe</sup>
	Sebastian	81,6 <sup>a</sup>	6,56 <sup>f</sup>	1,38 <sup>ab</sup>	992 <sup>ab</sup>	235 <sup>b</sup>	69,5 <sup>ab</sup>
	Bolina	80,7 <sup>abc</sup>	4,01 <sup>ae</sup>	1,38 <sup>ab</sup>	972 <sup>a</sup>	198 <sup>a</sup>	69,1 <sup>ab</sup>
	Philadel- phia	81,2 <sup>a</sup>	3,68 <sup>de</sup>	1,40 <sup>ce</sup>	978 <sup>a</sup>	193 <sup>a</sup>	67,2 <sup>cde</sup>
	Tolar	81,0 <sup>ab</sup>	3,23 <sup>d</sup>	1,41 <sup>cd</sup>	871 <sup>d</sup>	199 <sup>a</sup>	69,7 <sup>b</sup>
	Stratus	79,9 <sup>c</sup>	4,24 <sup>ab</sup>	1,43 <sup>f</sup>	908 <sup>cd</sup>	207 <sup>a</sup>	66,8 <sup>cd</sup>
	NIR / LSD	0,79	0,51	0,013	58,5	19,6	1,31
Udział grysu w zacierze The share of maize grits in mash	0%	80,2 <sup>a</sup>	5,30 <sup>b</sup>	1,38 <sup>a</sup>	1063 <sup>b</sup>	249 <sup>b</sup>	70,1 <sup>b</sup>
	20%	81,5 <sup>b</sup>	4,09 <sup>a</sup>	1,41 <sup>b</sup>	877 <sup>a</sup>	183 <sup>a</sup>	66,6 <sup>a</sup>
	NIR / LSD	0,34	0,27	0,006	20,0	0,4	0,50
Grubość ziarna jęczmienia Thickness of barley grains	2,5-2,8 mm	80,8 <sup>a</sup>	4,92 <sup>b</sup>	1,39 <sup>a</sup>	977 <sup>a</sup>	220 <sup>a</sup>	68,2 <sup>a</sup>
	>2,8 mm	81,0 <sup>a</sup>	4,47 <sup>a</sup>	1,40 <sup>a</sup>	962 <sup>a</sup>	212 <sup>a</sup>	68,5 <sup>a</sup>
	NIR / LSD	0,36	0,29	0,007	27,7	9,3	0,63
Czas słodowania ziarna Malting time of barley grain	4 dni 4 day	80,5 <sup>b</sup>	4,28 <sup>b</sup>	1,41 <sup>c</sup>	936 <sup>a</sup>	205 <sup>b</sup>	68,3 <sup>a</sup>
	5 dni 5 day	81,0 <sup>a</sup>	4,79 <sup>a</sup>	1,40 <sup>b</sup>	1007 <sup>b</sup>	226 <sup>a</sup>	67,5 <sup>a</sup>
	6 dni 6 day	81,1 <sup>a</sup>	5,01 <sup>a</sup>	1,38 <sup>a</sup>	966 <sup>a</sup>	218 <sup>a</sup>	69,2 <sup>b</sup>
	NIR / LSD	0,44	0,36	0,008	33,2	11,3	0,75

a, b, c, d, e, f – grupy jednorodne / homogeneous groups ( $\alpha = 0,05$ )

NIR / LSD – najmniejsza istotna różnica / least significant difference ( $p = 0,05$ )

co kwalifikuje je jako dobrze filtrujące się. Zastosowanie 20% dodatku grysu kukurydzianego w technologii otrzymywania brzeczek piwnych nie wymaga zatem stosowania preparatów ułatwiających filtrację brzeczek.

W zacierze składającym się ze słodu i surowca niesłodowanego głównym źródłem produktów hydrolizy związków białkowych jest sól [1]. Zawartość azotu ogółem w brzeczkach z samego słodu powinna mieścić się w granicach od 650 do 1000 mg N/L [13]. Wyniki własne (tab. 1) potwierdzają dane innych autorów, zwracających uwagę na niedobory związków azotowych ogółem i azotu  $\alpha$ -aminowego w brzeczkach otrzymywanych z dużym udziałem surowców niesłodowanych [1, 11, 12]. Substytucja słodu grysem kukurydzianym w dawce 20% zmniejsza w istotny sposób zarówno zawartość azotu ogółem, jak i  $\alpha$ -aminowego, ale do poziomu akceptowanego przy otrzymywaniu brzeczek z dodatkiem surowca niesłodowanego, wynoszącego minimum 650 mg azotu ogółem i 150 mg azotu  $\alpha$ -aminowego w 1 l brzeci [13]. Grubość ziarna jęczmienia użytego do produkcji sładów nie miała wpływu na zawartość produktów hydrolizy enzymatycznej białek w brzeczkach, natomiast wydłużenie do 6 dni czasu kiełkowania ziarna w niewielkim stopniu zwiększało ich zawartość.

Ostateczny stopień odfermentowania charakteryzuje maksymalne wykorzystanie przez drożdże piwowarskie cukrów fermentujących zawartych w brzeczkach. Ostateczny stopień odfermentowania brzeczek otrzymanych z 20% dodatkiem grysu kukurydzianego był niższy. Podobny efekt zaobserwowano przy większych dawkach produktów przemiału kukurydzy [11]. Nie powinno to jednak stanowić zbyt dużego problemu, gdyż korekta odfermentowania brzeczek przeprowadzana jest w browarach rutynowo poprzez dodatek sacharozy lub syropów skrobiowych. Wydłużenie słodowania z 4 do 6 dni przyczyniło się do zwiększenia stopnia ostatecznego odfermentowania brzeczek. Nie stwierdzono natomiast wpływu grubości ziarniaków użytych do słodowania na wielkość tego parametru.

Modyfikacja czasu słodowania ziarna nowych odmian jęczmienia prowadząca do skracania z 6 do 5, a nawet 4 dni etapu ich kiełkowania nie powoduje zasadniczych, negatywnych zmian właściwości brzeczek otrzymywanych z samego słodu lub z 20% udziałem surowca niesłodowanego w formie grysu kukurydzianego.

## Wnioski

1. Stwierdzono, że cechy odmianowe ziarna jęczmienia browarnego wpływały istotnie na większość cech badanych brzeczek.
2. Dodatek 20% grysu kukurydzianego powodował zwiększenie ekstraktywności zacierów i lepkości brzeczek, a także zmniejszenie intensywności ich barwy, stopnia ostatecznego odfermentowania oraz zawartości azotu ogółem i  $\alpha$ -aminowego.

3. Brzeczki uzyskane ze sładów wyprodukowanych z ziarna jęczmienia o zróżnicowanej grubości różniły się istotnie tylko pod względem intensywności zabarwienia.
4. Słodowanie 5-dniowe, w porównaniu z 4- i 6-dniowym, przyczyniło się do uzyskania brzeczki laboratoryjnych o najlepszych parametrach technologicznych.

*Publikacja finansowana z projektu pt. „Drugi program stypendialny dla doktorantów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu”. Projekt współfinansowany przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Społecznego oraz budżet państwa w ramach Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego. Środki Europejskiego Funduszu Społecznego stanowią 75% wartości projektu, natomiast środki budżetu państwa wynoszą 25%. Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Agu R.C.: A comparison of maize, sorghum and barley as brewing adjuncts. J. Inst. Brew., 2002, **108**, 19-22.
- [2] Analytica – EBC: Verlag Hans Carl Getraenke-Fachverlag, Nuernberg 1998.
- [3] Anderson I.W., Dickenson C.J., Anderson P.G.:  $\beta$ -glucan in production malting. Proc. Eur. Brew. Conw., 1989, 213-220.
- [4] Błażewicz J.: Właściwości brzeczki i koncentratów sładowych otrzymanych z użyciem skrobi ziemniaczanej, ziarna pszenżyta i jęczmienia jako zamienników słodu. Zesz. Nauk. AR Wrocław, 2004, **491**, Rozprawy CCXVII, 1-94.
- [5] Błażewicz J.: Wpływ zastosowania w czasie zacierania preparatu enzymatycznego Ultraflo L na właściwości zagęszczonych i wysuszonych ekstraktów sładowych. Acta Sci. Pol., Biotechnologia, 2002, **1 (1-2)**, 19-28.
- [6] Debyser W., Delvaux F., Delcour J.A.: Activity of arabinoxylan hydrolyzing enzymes during mashing with barley malt or barley malt and unmalted wheat. J. Agric. Food Chem., 1998, **46**, 4836-4841.
- [7] Dylkowski W. (red.): Kontrola chemiczno-techniczna produkcji słodu i piwa. WPLiS, Warszawa 1959.
- [8] Hug H., Pfenninger H.: Maize as raw material for brewing. Part 1. Fundamentals. Schweizer Brauerei Rundschau, 1976a, **87**, 65-68.
- [9] Hug H., Pfenninger H.: Maize as raw material for brewing. Part 2. Fundamentals. Schweizer Brauerei Rundschau, 1976b, **87**, 105-108.
- [10] Hug H., Pfenninger H.: Maize as raw material for brewing. Part 3. Fundamentals. Schweizer Brauerei Rundschau, 1976c, **87**, 135-138.
- [11] Jurek K., Błażewicz J., Petrów A.: Właściwości piw wytwarzanych z dodatkiem produktów przemiału ziarna kukurydzy w warunkach uproszczonej technologii. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **3 (40)** Supl., 109-118.
- [12] Jurek K., Petrów A.: Wpływ substytucji słodu przetworami kukurydzianymi na zawartość azotu alfa-aminowego w brzeczki laboratoryjnych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2003, **2 (35)** Supl., 49-60.
- [13] Kunze W.: Technology brewing and malting. VLB, Berlin 1999.

**THE EFFECT OF BARLEY GRAIN MALTING TIME MODIFICATION ON SELECTED PROPERTIES OF WORTS OBTAINED WITH MAIZE GRITS ADDITION**

## S u m m a r y

The purpose of the research was to determine the influence of cultivar, malting time and thickness of brewing barley grains on selected properties of laboratory worts, which were obtained from 4-, 5- and 6-day malts of the Pilsen type with maize grits addition. The materials used in this study were 10 cultivars of barley grain (Class, Blask, Riviera, Lailla, Hanka, Sebastian, Bolina, Philadelphia, Tolar, Stratus), from growing season 2005 and maize grits of 500-1250  $\mu\text{m}$  granulation. For malts produced for 4, 5 and 6 days grain of thickness in the range from 2.5 to 2.8 mm and over 2.8 mm was used. Malting was carried out in laboratory conditions, typical of the production of Pilsen type malts. Maize grits, in the amount of 20% of charge, was gelatinized at the temperature of 90°C for 10 minutes, in the ratio of grain to water 1:5. Gelatinized maize grits was mixed with malt and mashed using congress method. There were determined: extract content, colour, viscosity, apparent final attenuation and total soluble nitrogen content, and free amino nitrogen in laboratory worts. Extractivity of malt and mashing composition of malt and maize grits were calculated. Control wort, produced only from malt, served as a material for comparison. It was stated that cultivar have significant effect on majority properties of worts. The addition of 20% of maize grits caused an increase in mash extractivity and worts viscosity, and also a decrease in colour intensity, degree of apparent final attenuation and content of total soluble nitrogen and free amino nitrogen. Worts obtained from malts, which were produced from barley grains of differential thickness, were differed as regards only colour intensity. 5-days malting time of brewing barley grain was contributed to the best technological parameters of worts, in comparison to 4- and 6-days malting time.

**Key words:** wort, malt, barley grain, maize grits ☒

MAGDALENA SKOTNICKA, PIOTR PALICH

## WPLYW WARUNKÓW PRZECHOWYWANIA NA STOPIEŃ CZERSTWIENIA MROŻONYCH WYROBÓW CIASTKARSKICH

### Streszczenie

Przedmiotem podjętych badań było określenie wpływu temperatury przechowywania na dynamikę procesu czerstwienia mrożonych wyrobów ciastkarskich. Materiałem badawczym były wyroby z ciasta drożdżowego dwóch producentów X i Y. Gotowe wyroby z ciasta drożdżowego zamrożono metodą komorową i przechowywano przez 180 dni w trzech komorach przechowalniczych. W dwóch utrzymywano stałą temperaturę  $-12^{\circ}\text{C}$  i  $-22^{\circ}\text{C}$ , natomiast w trzeciej panowały warunki temperatury zmiennej ( $-12^{\circ}\text{C}$ ;  $-22^{\circ}\text{C}$ ). W zależności od warunków termicznych, badano zmiany stopnia czerstwienia dwiema metodami: wyznaczając wartość liczby niebieskiej oraz określając zdolność pochłaniania i utrzymywania wody przez wyrób.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że wartości liczby niebieskiej i zdolności do utrzymywania wody podczas przechowywania malały, czego konsekwencją było obniżenie jakości produktu, powodowane czerstwieniem wyrobu ciastkarskiego. Zmiany w strukturze miękiszu wywołane starzeniem się wyrobu z ciasta drożdżowego pozostawały w ścisłej zależności z warunkami temperaturowymi otoczenia. Najbardziej korzystnym wariantem przechowywania, była temp.  $-22^{\circ}\text{C}$ . Ponadto zastosowane metody pomiaru stopnia czerstwienia charakteryzowały się wysokimi współczynnikami korelacji, co oznacza, że mogą być stosowane zamiennie.

**Słowa kluczowe:** wyroby ciastkarskie z ciasta drożdżowego, stopień czerstwienia, retrogradacja skrobi, liczba niebieska, zdolność utrzymywania i pochłaniania wody

### Wprowadzenie

Podczas przechowywania, w wyrobach ciastkarskich zachodzą niekorzystne zmiany o charakterze fizycznym, chemicznym, biochemicznym i mikrobiologicznym. Ich przyczyną są najczęściej przemiany skrobi, która z postaci amorficznej przechodzi w uporządkowaną formę krystaliczną. W celu ograniczenia tego procesu stosuje się różne techniki minimalizujące to zjawisko. Jednym ze sposobów ograniczenia dynamiki zachodzących zmian jest zmniejszenie zawartości wody lub przeprowadzenie wody



wolnej w wodę związaną, która nie bierze udziału w przemianach obniżających jakość wypieku. Inną metodą, o coraz większym znaczeniu, jest zamrażanie wyrobów piekarskich i ciastkarskich, głównie ze względu na niewielką stratę cennych składników odżywczych i walorów sensorycznych podczas przechowywania [3, 11].

Zamrażanie jest jedną ze skuteczniejszych metod utrwalania żywności, jednak trwałość produktów zamrożonych ma charakter czasowo ograniczony. Mrożenie nie eliminuje przemian fizykochemicznych, a jedynie spowalnia tempo tych procesów w okresie przechowywania w stałej, niskiej temperaturze [2, 9]. Jednak pomimo wielu zmian, jakim ulegają produkty spożywcze podczas zamrażalniczego przechowywania, mrożenie okazuje się najpopularniejszym i najczęściej stosowanym sposobem utrwalania żywności. Mrożeniu poddaje się prawie wszystkie produkty spożywcze, w tym także wyroby piekarskie i ciastkarskie. Asortyment mrożonych wyrobów ciastkarskich jest dosyć szeroki, jednak dopiero od niedawna pojawiły się na naszym rynku mrożone gotowe wyroby drożdżowe, nadające się do spożycia bezpośrednio po rozmrożeniu.

Stosowanie zamrażania wyrobów ciastkarskich ma przede wszystkim zapobiegać lub minimalizować proces czerstwienia, hamując proces retrogradacji skrobi. Mechanizm czerstwienia pieczywa nie do końca jest poznany. Proces ten związany jest głównie ze zmianami w kompleksach skrobiowo-białkowych. Podczas stygnięcia i w czasie przechowywania zachodzi proces retrogradacji skrobi, powodując zmiany cech jakościowych w mrożonym wyrobie ciastkarskim [1]. Monitorowanie postępującego procesu retrogradacji w czasie jest podstawą do określenia warunków przechowywania oraz trwałości i jakości wyrobów piekarskich i ciastkarskich. Wśród wielu parametrów kształtujących jakość mrożonych wyrobów z ciast drożdżowych podczas przechowywania jest temperatura i jej stabilność. Odpowiednia temperatura wpływa na przedłużenie ich trwałości, a niewłaściwa może przyspieszać niekorzystne przemiany, w szczególności związane ze strukturą miększu [12].

Celem pracy była ocena wpływu warunków przechowywania na stopień i dynamikę czerstwienia gotowego wyrobu ciastkarskiego, wykorzystując oznaczenie liczby niebieskiej i zdolności utrzymywania i pochłaniania wody.

Zakres pracy obejmował:

- określenie zmian wartości liczby niebieskiej, w czasie przechowywania w zróżnicowanych warunkach temperaturowych,
- określenie zmian zdolności utrzymywania wody w czasie przechowywania w zróżnicowanych warunkach temperaturowych,
- określenie korelacji pomiędzy zmianami wartości liczby niebieskiej a zmianami w zdolności utrzymywania i pochłaniania wody przez wyrób ciastkarski.

### Material i metody badań

Materiałem badawczym był gotowy wyrób ciastkarski - placek drożdżowy, produkowany przez dwóch producentów X i Y, składający się z mąki pszennej, tłuszczu roślinnego, cukru, jaj, drożdży, mleka w proszku, cukru wanilinowego, soli, aromatu identycznego z naturalnym i beta-karotenu. Wyroby drożdżowe o masie  $400 \pm 2$  g) zapakowane były w celofan systemem flow-pack i zamrożone metodą komorową. Wyroby z ciasta drożdżowego charakteryzowały się tym samym składem surowcowym. Nie zawierały żadnych innych dodatków mogących wpływać na wynik oznaczenia. Materiał doświadczalny – placek drożdżowy przechowywany był przez sześć miesięcy w trzech różnych komorach przechowalniczych w warunkach:

- zmiennej co 72 h temp. (-12°C; -22°C),
- stałej temp. -12°C,
- stałej temp. -22°C.

Tabela 1

Skład chemiczny wyrobów z ciast drożdżowych producentów X i Y [g/100 g produktu].

Chemical composition of yeast cake produced by X and Y bakers [g/100 g product].

Skład chemiczny Chemical composition	Wyrób producenta X Cake's producer X	Wyrób producenta Y Cake's producer Y
Białko Protein	6,5	7,2
Węglowodany Carbohydrates	53,6	50,5
Tłuszcz Fat	12,3	10,5
Sól NaCl Salt NaCl	0,052	0,065
Woda Water	25,4	30,2

Większość dostępnych na rynku mrożonych wyrobów ciastkarskich ma okres przydatności do spożycia od 4 do 6 miesięcy, dlatego też badania prowadzono przez 180 dni. Przez ten okres, co 30 dni, prowadzono badania stopnia czerstwienia na podstawie liczby niebieskiej. Liczba niebieska jest miarą zawartości skrobi rozpuszczalnej w wodzie. Metoda polega na przygotowaniu roztworu z odczynnikami Carezza I i II i dokonaniu pomiaru absorbancji w spektrofotometrze przy długości fali 580 nm, wobec wody, z dodatkiem 0,004% jodku potasu jako wskaźnika. Liczbę niebieską wyrażano jako bezpośrednio mierzoną absorbancję [6].

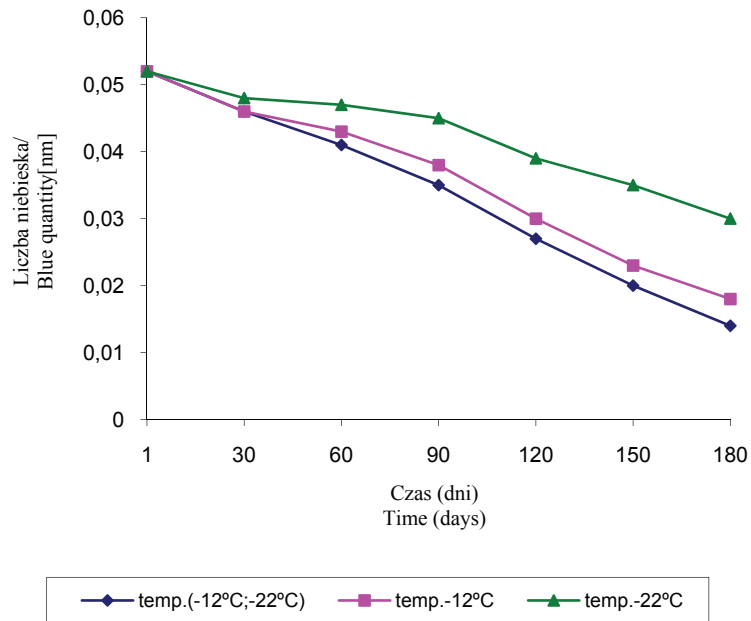
Analizy obejmowały także określenie zdolności wiązania i utrzymywania wody metodą zaproponowaną przez autorów [10]. Oznaczenie polegało na zanurzeniu rozmrożonego kawałka placka drożdżowego o wymiarach 30 x 30 x 30 [mm] w wodzie o temp. 20°C przez 20 s. Następnie pozostawiano kęs ciasta na specjalnym sitku przez 3 min. Z różnicy masy próbki przed zanurzeniem i po zanurzeniu wyznaczano procentowy przyrost zawartości wody w produkcie, który wskazywał na zdolność kawałka placka do pobierania i utrzymywania wody. Każdorazowe badanie przeprowadzono w 7 powtórzeniach.

Kolejnym etapem było wykazanie współzależności między badanymi parametrami oceny stopnia czerstwienia. Porównania dokonano na podstawie współczynników korelacji linowej Pearsona [7]. W celu określenia statystycznej istotności współczynników korelacji zastosowano test t-Studenta. Wnioskowano na poziomie  $\alpha = 0,05$  [7].

### **Wyniki i ich omówienie**

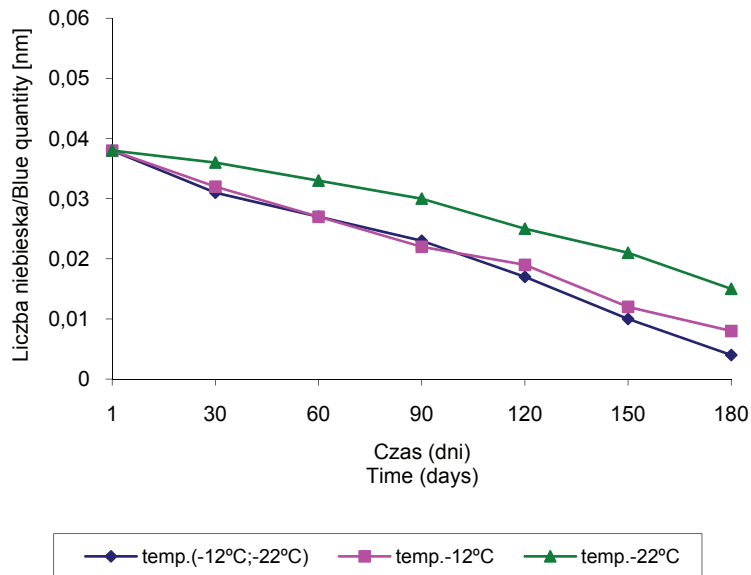
Wyznaczenie stopnia czerstwienia jest podstawowym parametrem w kształtowaniu jakości wyrobu ciastkarskiego w czasie. Na podstawie otrzymanych wyników badań pomiaru liczby niebieskiej (rys. 1 i 2) stwierdzono, że wartość absorbancji malała w czasie we wszystkich badanych wariantach temperaturowych, niezależnie od rodzaju producenta. Dynamika tych zmian pozostawała w ścisłej zależności z warunkami temperaturowymi otoczenia. Najbardziej widoczne zmiany stwierdzono w wyrobach przechowywanych w warunkach fluktuacji (-12°C; -22°C) i w temperaturze stałej -12°C zarówno w wyrobach producenta X, jak i Y. Tak niskie wartości absorbancji zmierzone po 6 miesiącach świadczyły o całkowitym sczerstwieniu placka drożdżowego. Wyroby ciastkarskie, które charakteryzowały się takimi wartościami nie nadawały się do spożycia. Miękkisz był twardy i kruszący się, a skórka matowa. Procesy porządkowania form skrobiowych powodowały, że krystalizująca skrobia stawała się nierozpuszczalna w wodzie. Ponadto woda uwięziona wcześniej w wolnych przestrzeniach na skutek retrogradacji, systematycznie odparowywała, a tym samym była w coraz mniejszym stopniu dostępna dla skrobi [5].

Szybkość czerstwienia pieczywa zależy od wielu czynników wynikających z procesu technologicznego oraz warunków przechowywania. Wyznaczanie stopnia czerstwienia jakąkolwiek z metod jest podstawą do pełnej oceny jakości i trwałości wyrobu ciastkarskiego drożdżowego. Literatura podaje wiele metod pośrednich i bezpośrednich określenia stopnia czerstwienia pieczywa. Zmiany stopnia czerstwienia wyrobu z ciasta drożdżowego obok metody oznaczenia liczby niebieskiej w czasie przechowywania przedstawiono na podstawie zmian zdolności pochłaniania i utrzymywania wody przez wyrób.



Rys. 1. Zmiany liczby niebieskiej w funkcji czasu wyrobu producenta X.

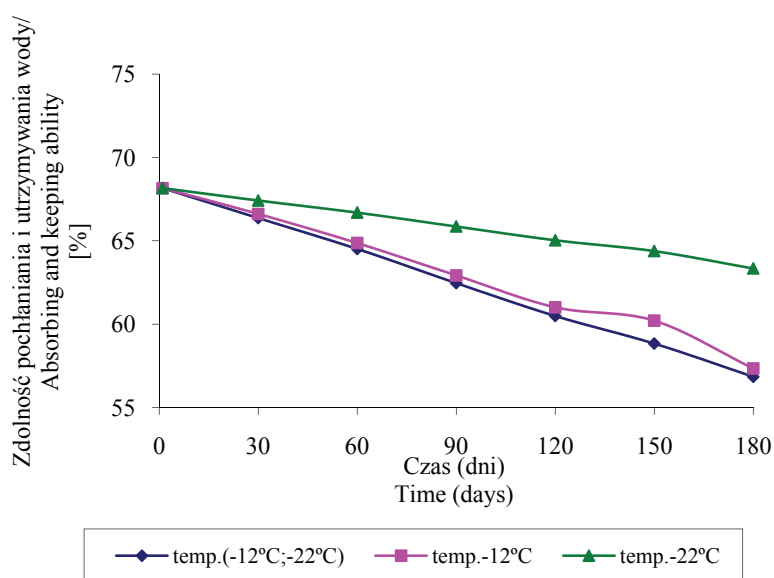
Fig. 1. Changes of blue quantity in a time function for cake of baker X.



Rys. 2. Zmiany liczby niebieskiej w funkcji czasu wyrobu producenta Y.

Fig. 2. Changes of blue quantity in a time function for cake of baker Y.

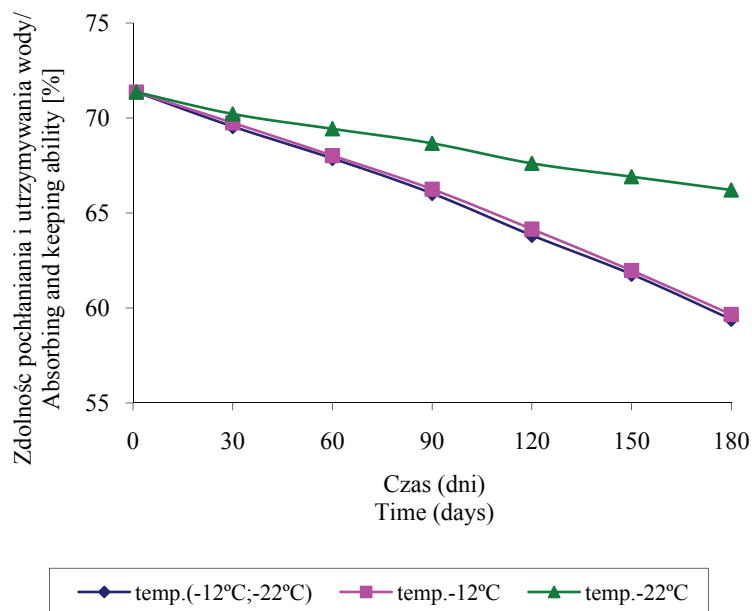
Na rys. 3. i 4. przedstawiono zmiany zdolności wiązania i utrzymywania wody przez kawałek wyrobu w czasie przechowywania. Zdolność wiązania wody była rozumiana jako ilość wody, którą kawałek wyrobu o określonych wymiarach był w stanie wchłonąć i utrzymać. Zmniejszenie zdolności wiązania wody oznacza zazwyczaj obniżenie jakości wyrobu. Podczas przechowywania wyrobów ciastkarskich w warunkach zamrażalniczych zdolność wiązania wody systematycznie się zmniejszała, co mogło być konsekwencją czerstwienia wyrobu, a pośrednio ubytku wody. Dynamika zdolności wiązania i utrzymywania wody pozostawała w ścisłej zależności z warunkami temperaturowymi przechowywania.



Rys. 3. Zależność zdolności pochłaniania i utrzymywania wody w funkcji czasu wyrobu producenta X.

Fig. 3. Dependence of absorbing and keeping ability on the time for cake of baker X.

W komorach, w których utrzymywano temperaturę  $-22^{\circ}\text{C}$ , po 180 dniach składowania stwierdzono nieznaczne zmniejszenie zdolności pochłaniania i utrzymywania wody przez miękisz wyrobu ciastkarskiego. W warunkach stałej niskiej temperatury nastąpiły najmniejsze zmiany w strukturze produktu w stosunku do innych analizowanych warunków temperaturowych. Zastosowana niska temperatura przechowywania placków drożdżowych powodowała, że przez prawie cały okres badane wyroby utrzymywały jakość na poziomie akceptowanym przez konsumenta. Szybkie zamrażanie i utrzymanie stałej niskiej temperatury przechowywania pozwoliło na zachowanie właściwej struktury wyrobów ciastkarskich [4].



Rys. 4. Zależność zdolności pochłaniania i utrzymywania wody w funkcji czasu wyrobu producenta Y.  
 Fig. 4. Dependence of absorbing and keeping ability on the time for cake of baker Y.

Przechowywanie w wyższej temperaturze lub w warunkach fluktuacji temperatury wiązało się ze znacznym zmniejszeniem zdolności wiązania i utrzymywania wody. Po rozmrożeniu wyroby ciastkarskie były suche i twarde, a po zanurzeniu próbek w wodzie kawałki wyrobu rozpadały się. Próbkę placka drożdżowego wchłaniały duże ilości wody, ale nie były w stanie jej utrzymać. Takie zachowanie w dużej mierze mogło być uzależnione od postępującego procesu czerstwienia. Zjawisku temu towarzyszyło wydzielanie wody, która migrowała w kierunku glutenu, a w cząsteczce skrobi powstały wiązania poprzeczne [8]. Fakt ten pozwala sądzić, że wskutek postępującej retrogradacji skrobi w wolnych przestrzeniach było coraz mniej miejsca na wodę, a dostarczona doświadczalnie woda nie była w stanie się związać ani utrzymać żadnymi siłami fizykochemicznymi w czasie przechowywania.

Kolejnym etapem było wyznaczenie współczynników korelacji badanych parametrów. Obliczone współczynniki korelacji liniowej  $r(x,y)$  Pearsona, świadczyły o dużej sile związku między badanymi parametrami. Współczynnik determinacji  $r^2(x,y)$  we wszystkich przypadkach przekraczał 0,98, co oznaczało, że ponad 98% zmienności każdej badanej cechy, było uwarunkowane zmianami drugiej, a współczynnik indeterminacji  $\varphi^2(x,y) = 0,02$ , informował, że 2% zmienności każdego badanego parametru wynikało z działania innych czynników.

W celu określenia istotności statystycznej współczynników korelacji obliczono empiryczne ( $t_{obl.}$ ) i porównano z ( $t_{tab.}$ ) odczytanym z tablic.

Tabela 2

Współczynniki statystyczne badanych parametrów.  
Calculated statistical coefficients for researched results.

Zależności badanych cech Dependence parameters	a	b	R	R <sup>2</sup>	φ <sup>2</sup>	t <sub>obl</sub>	t <sub>tab</sub>
Liczba niebieska (zdolność pochłaniania wody wyrobu producenta X) Blue quantity (absorbing ability of water for baker X)	0,0582	-0,0052	0,9908	0,9817	0,0183	32,0010	2,0930
Liczba niebieska (zdolność pochłaniania wody wyrobu producenta Y) Blue quantity (absorbing ability of water for baker X)	0,0431	-0,0047	0,9936	0,9872	0,0127	38,3183	2,0930

a (y) – współczynnik regresji liniowej / line regression coefficient; b (y) – współczynnik regresji liniowej / line regression coefficient; R – współczynnik korelacji / correlation coefficient; R<sup>2</sup> – współczynnik determinacji / determination coefficient; φ<sup>2</sup> – współczynnik indeterminacji / indetermination coefficient; t<sub>obl</sub> – test t-Studenta / calculated test t-Studenta.

We wszystkich badanych wariantach statystyka  $t_{obl.}$  empirycznie była wyższa od  $t_{tab.}$ , co oznaczało, że obliczone współczynniki korelacji były statystycznie istotne. Wyroby z ciasta drożdżowego są produktami, w których zmiany strukturalne mają decydujące znaczenie w kształtowaniu jakości, dlatego tak ważne jest monitorowanie zmian związanych z reologią produktu. Wykorzystanie zaproponowanych metod pomiaru daje możliwość określenia stopnia czerstwienia w czasie. Ponadto wysokie współczynniki korelacji pozwalają sądzić, że metody mogą być stosowane zamiennie.

### Wnioski

1. Temperatura i jej stałość w czasie przechowywania jest czynnikiem determinującym jakość mrożonego wyrobu ciastkarskiego z ciasta drożdżowego.
2. Najmniejszą dynamikę czerstwienia wyrobu stwierdzono w plackach drożdżowych przechowywanych w temperaturze -22°C.
3. Wyroby z ciasta drożdżowego producenta Y charakteryzowały się większą dynamiką zmian badanych cech i niższymi parametrami wyjściowymi w stosunku do wyrobów producenta X.
4. Zaproponowane metody oznaczania stopnia czerstwienia dobrze opisują proces starzenia drożdżowych wyrobów ciastkarskich i na podstawie obliczonych korelacji mogą być stosowane zamiennie.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura


- [1] Ambroziak Z.: Produkcja piekarsko-cukiernicza. WSiP, Warszawa 1999.
- [2] Barcenas M.E., Rosell C.M.: Effect of frozen time on the bread crumb and aging of par-baked bread. *Food Chem.*, 2006, **95**, 438-445.
- [3] Berliński Ł., Bońca Z.: Wpływ metod zamrażania produktów żywnościowych na ich cechy jakościowe. *Technika Chłodnicza*. 2000, **8**, 335-341.
- [4] Ceglińska A., Cacak-Pietrzak G., Haber T.: Porównanie jakości pieczywa pszenżytniego, pszennego i żytniego. *Przegl. Piek. i Cuk.*, 2003, **11**, 2-6.
- [5] Fik M., Michalczyk M., Surówka K., Maciejaszek I.: Characterisation of the staling process of wholemeal. *Food Nutr. Sci.*, 2000, **2**, 23-28.
- [6] Neukom H. Rutz W.: Observations on starch retrogradation and bread staling. *Lebensm. Wiss und Technol.* 1981, **14**, 292.
- [7] Łomnicki A. Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników. PWN, Warszawa 1999.
- [8] Ottenhof M.A., Farhat.: The effect of gluten on the retrogradation of wheat starch. *Cereal Sci.*, 2004, **40**, 269-274.
- [9] Postolski J., Gruda Z.: Zamrażanie żywności. WNT, Warszawa 1992.
- [10] Skotnicka M., Palich P.: The dependence of frozen yeast cake quality parameters of the thermal conditions of storage. *Acta Agrophysica*. 2007, **146**, **9 (1)**, 235-250.
- [11] Wang Xin, Sung-Gil Choi, Kerr W.L.: Water dynamics in white bread and starch gels as affected by water and gluten content. *Lebensm.-Wiss. u. Technol.*, 2004, **37**, 377-384.
- [12] Vulicevic I.R., Abdel-Aal E.S.M., Mittal G.S., Lu X.: Quality and storage life of par-baked frozen breads. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, Germany*, 2004, **37 (2)**, 205-213.

### INFLUENCE OF STORAGE CONDITIONS ON THE STALING RATE OF FROZEN CAKE PRODUCTS

#### S u m m a r y

The subject of undertaken researches was to determine influence of temperature of storage to the dynamism of staling process in frozen cake products. Yeast products of two producers X and Y were the research material. Ready yeast cakes were frozen with a chamber method and were stored for the period of 180 days in three storage chambers. In two chambers constant temperatures of -12°C and -22°C have been held, however in the third one there were conditions of variable temperature (-12°C;-22°C). Depending on thermal conditions, staling rate changes were researched with two methods: by determining the value of blue quantity and by defining the ability to absorb and hold water in a piece of cake.

On the basis of achieved results it was stated that values of blue quantities and abilities to hold water during the storage have decreased, what resulted in a decrease of product's quality, caused by staling of cake products. Changes in the structure of pulp caused by ageing of the yeast cake remained in a strict dependence with environment temperature conditions. The most beneficial storage version was the temperature of -22°C. Additionally, used methods of staling rate measurement characterized with a high correlation coefficient, what means that they can be used in exchange.

**Key words:** ready yeast cakes, staling rate, starch retrogradation, blue quantity, water absorbing, keeping ability 



DOMINIKA BOGUSZEWSKA

## WPLYW NIEDOBORU WODY NA ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH SKŁADNIKÓW CHEMICZNYCH W BULWACH ZIEMNIAKA

### Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było określenie zawartości wybranych związków chemicznych oraz ich rozkład w bulwach ziemniaka (w części przystolonowej i wierzchołkowej) w warunkach stresu suszy oraz przy zastosowaniu optymalnej dawki nawodnieniowej. W doświadczeniu wazonowym użyto 6 odmian ziemniaka: Cekin, Satina, Saturna, Tajfun, Violet Fleischiege oraz Zebra. W bulwach oznaczano zawartość: skrobi metodą Ewersa, cukrów redukujących metodą spektrofotometryczną z odczynnikiem dinitrofenolowym, a sacharozy metodą spektrofotometryczną z użyciem odczynnika natronowego. Oznaczenia zawartości azotanów(V) wykonywano wykorzystując jonoselektywną elektrodę azotanową. Pomiaru dokonywano przy użyciu wielofunkcyjnego przyrządu CX-721 firmy Elmetron.

Zawartość suchej masy była większa w bulwach roślin poddanych stresowi suszy (średnio 22,59%) w porównaniu z bulwami kontrolnymi (20,11%). Zawartość skrobi pod wpływem stresu suszy zmalała we wszystkich odmianach z wyjątkiem odmiany Tajfun. Zawartość azotanów była większa w bulwach ziemniaków wszystkich badanych odmian poddanych stresowi suszy w porównaniu z bulwami roślin z optymalnym zaopatrzeniem w wodę. We wszystkich badanych odmianach ziemniaków nastąpił wzrost zawartości sacharozy w bulwach pod wpływem działania czynnika stresowego

**Słowa kluczowe:** ziemniak, susza, sucha masa, azotany, skrobia, sacharoza, cukry redukujące

### Wprowadzenie

Ziemniaki jadalne przeznaczone do przetwórstwa spożywczego powinny mieć odpowiednie cechy morfologiczne (głębokość oczek, kształt, regularność), chemiczne (m.in. sucha masa, skrobia, sacharydy) oraz sensoryczne. Jakość ziemniaka uwarunkowana jest wieloma cechami, do których można zaliczyć m.in. cechy odmianowe, warunki klimatyczne w czasie wzrostu bulw, technologię uprawy oraz warunki przechowywania [4, 5, 6, 8, 13, 15].

Zmiany warunków wilgotnościowych odzwierciedlają zmiany składu chemicznego bulwy. Zakłóceniom wzrostu rośliny towarzyszą zakłócenia w przemianach cukrów

w bulwach. Po suszy bulwy mają więcej suchej masy, mniej skrobi, a więcej cukrów redukujących. Po ustąpieniu suszy skrobia zostaje zhydrolizowana do cukrów prostych, które są potrzebne roślinie do zintensyfikowania wzrostu. Następstwem tego zjawiska jest wzrost zawartości cukrów i ich nierównomierny rozkład w bulwie. Wartość technologiczna takiego surowca jest niewielka. Wyższa koncentracja cukrów redukujących (glukozy i fruktozy) wpływa na intensywność przebiegu reakcji Maillarda i powoduje brązowienie produktów. Podczas smażenia cukry redukujące wchodzi w reakcję z wolnymi aminokwasami, tworząc związki o ciemnym zabarwieniu. Ciemne produkty mają gorzki smak, następuje również pogorszenie zapachu. Wynikiem reakcji Maillarda jest nie tylko barwa produktów smażonych, ale również powstawanie szkodliwych dla zdrowia toksycznych akryloamidów [14, 15].

Ziemniaki przeznaczone na produkty smażone i sterylizowane nie powinny zawierać więcej niż 0,5% sumy cukrów w świeżej masie, a poziom powyżej 1% w świeżej masie zmienia smak bulw (słodki posmak) [14].

W warunkach suszy i wysokiej temperatury wzrasta również zawartość azotanów(V) w bulwach, czyli składników zaliczanych do substancji przeciwżywniowych [2, 3, 5, 9].

Celem przeprowadzonych badań było określenie zawartości wybranych związków chemicznych oraz ich rozkład w bulwach ziemniaka (w części przystolonowej i wierzchołkowej) w warunkach stresu suszy oraz przy zastosowaniu optymalnej dawki nawodnieniowej.

### **Materiał i metody badań**

Materiał biologiczny pochodził z doświadczenia wazonowego, prowadzonego w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Jadwisinie. Wazono o pojemności 10–12 l wypełnione były podłożem torfowo-piaskowym o pH około 6,0. Na dnie wazonów znajdowała się kilkucentymetrowa warstwa keramzytu. Zawartość składników podłoża odpowiadała umiarkowanemu, standardowemu nawożeniu roślin w warunkach polowych. Ilość składników nawozowych odpowiadała dawce stosowanej w warunkach polowych N - 80 kg/ha, P- 80 kg/ha, K -120 kg/ha. Sadzeniaki średniej wielkości, pobudzone, wysadzano w III dekadzie kwietnia.

Doświadczenie prowadzono w naturalnych warunkach temperatury i nasłonecznienia z zachowaniem ochrony przed naturalnymi opadami. Rośliny były podlewane wg potrzeb przy przestrzeganiu zasady, że wszystkie rośliny otrzymywały taką samą ilość wody dostosowaną do ich stanu rozwojowego. Po 3 tygodniach od momentu rozpoczęcia tuberyzacji, czyli w okresie największej wrażliwości ziemniaka na niedobór wody, rośliny poddawano 2-tygodniowej suszy. W czasie suszy wstrzymano podlewanie roślin, natomiast rośliny z prób kontrolnych były podlewane regularnie.

W doświadczeniu wazonowym użyto 6 odmian ziemniaka: Cekin, Satina, Saturna, Tajfun, Violet Fleischiege oraz Zebra. Odmiany Saturna i Fiolet Fleischiege należą do odmian średnio późnych, natomiast pozostałe są odmianami średnio wczesnymi. Wszystkie testowane odmiany należą do odmian jadalnych. Sposób ich użytkowania przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Cechy użytkowe odmian ziemniaka.

Usage features of potato cultivars.

Odmiana ziemniaka Potato cultivar	Sposób użytkowania Usage ways of potato cultivars
Tajfun	puree / puree, pyzy / dumplings, kluski / noodle, placki / potato pan cake
Satina	konserwy / cans, mrożonki / frozen food, sałatki / salads
Zebra	ziemniaki gotowane / boiled potatoes
Cekin	puree / puree, pyzy / dumplings, kluski / noodle, placki / potato pan cake
Fiolet Fleischiege	sałatki / salads
Saturna	frytki / chips

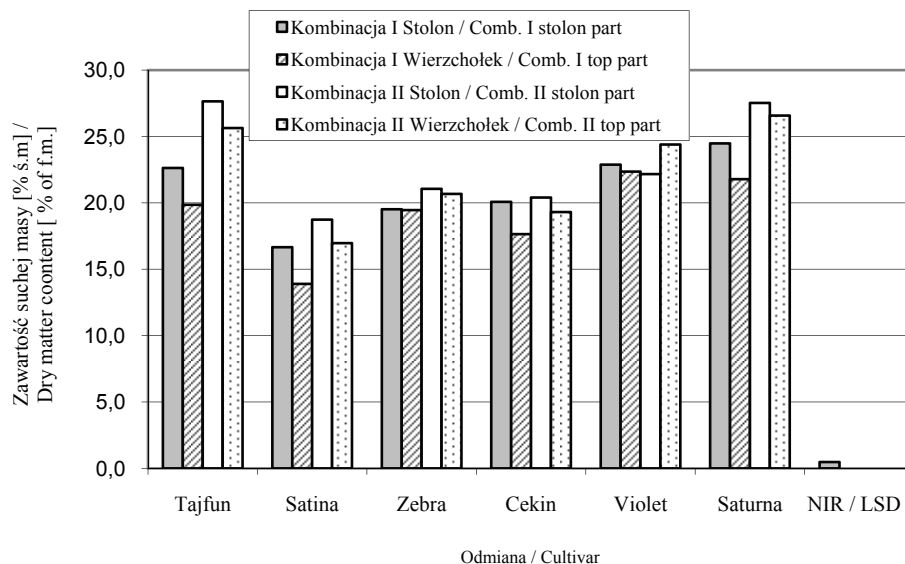
W bulwach ziemniaków oznaczano zawartość następujących składników:

- suchej masy metodą suszarkową (dwustopniowe suszenie w temp 75°C/24 h i 105°C do uzyskania stałej masy),
- skrobi metodą polarymetyczną Ewersa [1],
- sacharozy metodą spektrofotometryczną z użyciem odczynnika antronowego [11],
- cukrów redukujących metodą spektrofotometryczną z odczynnikiem dinitrofenolowym [12],
- azotanów(V) - jonoselektywną elektrodą azotanową. Pomiaru dokonywano przy użyciu wielofunkcyjnego przyrządu CX-721 firmy Elmetron [7].

Zawartość wyżej wymienionych składników badano w dwóch częściach bulw: w części wierzchołkowej i przystolonowej.

## Wyniki i dyskusja

Zawartość suchej masy była większa w bulwach roślin poddanych stresowi suszy (średnio w odmianach 22,59%) w porównaniu z próbami kontrolnymi (średnio 20,11%). Większą zawartością suchej masy charakteryzowała się część wierzchołkowa bulw wszystkich badanych odmian z wyjątkiem odmiany Violet Fleischiege. Największy wzrost tego składnika wystąpił w odmianach Tajfun i Saturna (rys. 1).



\* kombinacja I – rośliny z optymalnym zaopatrzeniem w wodę / plants with optimal water supply kombinacja II – rośliny poddane 2-tygodniowej testowej suszy (dot. rys. 1-5) / plants after 2 weeks drought (Fig. 1-5)

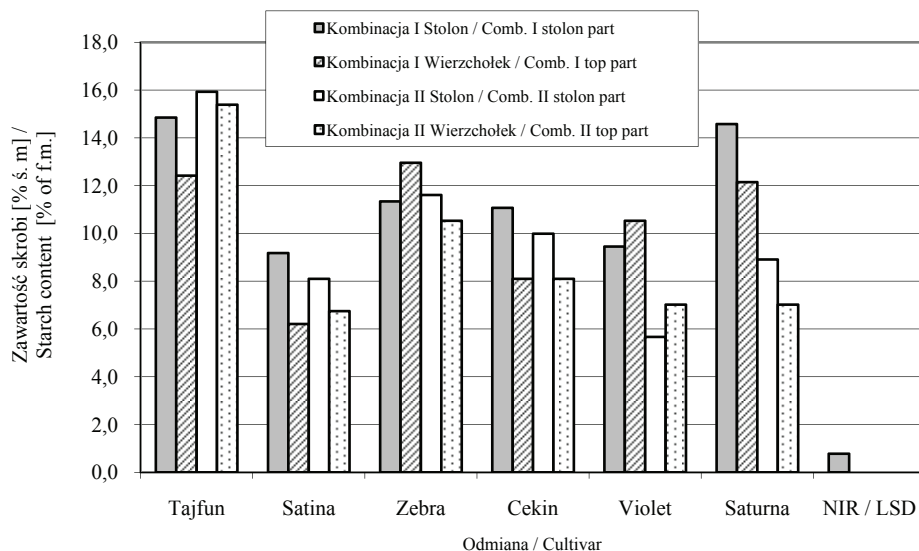
Rys. 1. Wpływ suszy na zawartość suchej masy w części stolonowej i wierzchołkowej bulw ziemniaka [%].

Fig. 1. Drought influence on dry matter content at stolon part of and at top part of tubers.

Zawartość suchej masy wpływa na konsystencję produktów smażonych, suszonych, sterylizowanych i gotowanych oraz na chłonięcie tłuszczu przez frytki i chipsy, jak również zwięzłość i wilgotność miąższu bulw ugotowanych [14]. Wahania zaopatrzenia roślin w wodę powodują również nierównomierny rozkład suchej masy, co ma wpływ na jakość uzyskiwanych produktów z bulw ziemniaka.

Zawartość skrobi pod wpływem stresu suszy zmalała zarówno w części przystolonowej, jak i w wierzchołkowej w bulwach odmian Cekin, Violet Fleishiege oraz Saturna, a tylko w części stolonowej odmiany Satina, i w części wierzchołkowej odmiany Zebra. Zawartość tego składnika wzrosła w bulwach odmiany Tajfun w dwóch badanych częściach, oraz w części wierzchołkowej odmiany Satina i części stolonowej odmiany Zebra. W części przystolonowej bulw ziemniaka stwierdzono więcej skrobi w porównaniu z częścią wierzchołkową bulw – średnio we wszystkich odmianach. Największe zmiany tego składnika wystąpiły w części stolonowej bulw odmiany Saturna, w których zawartość skrobi pod wpływem stresu suszy zmalała z 14,6 do 8,9% a w części wierzchołkowej z 12,1 do 7,0% (rys. 2). Nierównomierne rozłożenie tego składnika wpływa na konsystencję i strukturę miąższu, powodując np. nierównomierne

gotowanie ziemniaków, część bulw rozpada się, podczas gdy pozostałe nie są jeszcze ugotowane.

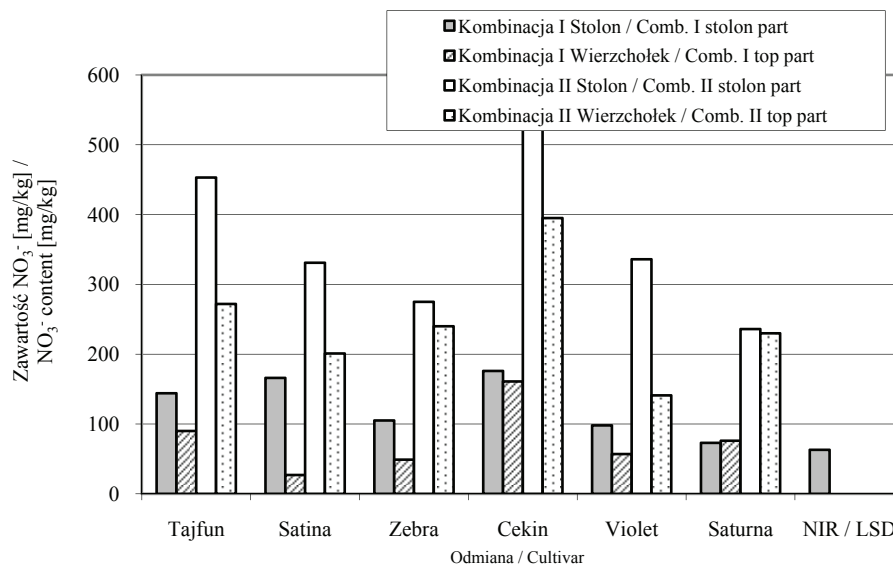


Rys. 2. Wpływ suszy na zawartość skrobi w części stolonowej i wierzchołkowej bulw ziemniaka.

Fig. 2. Drought influence on starch content at stolon part of and at top part of tubers.

Toksyczność azotanów(V) jest niewielka, ale pod wpływem flory bakteryjnej żołądka mogą one ulegać redukcji do azotanów(III). Z tych związków mogą powstawać rakotwórcze nitrozoaminy. Ziemniaki należą do grupy roślin o małej zawartości azotanów(V). Polskie prawo żywnościowe reguluje zawartość azotanów(V) w warzywach rozporządzeniem Ministra Zdrowia [17]. Zgodnie z tym rozporządzeniem zawartość azotanów w bulwach ziemniaków nie może być większa niż 200 mg/kg świeżej masy [17]. Wielu autorów stwierdza, że zawartość azotanów w bulwach ziemniaka w warunkach suszy wzrasta [4, 9]. Przedstawione wyniki również potwierdzają tę tezę. Niedobór wody spowodował zwiększenie zawartości tych związków w bulwach ziemniaków wszystkich badanych odmian, zarówno w części stolonowej, jak i wierzchołkowej bulw (rys. 3).

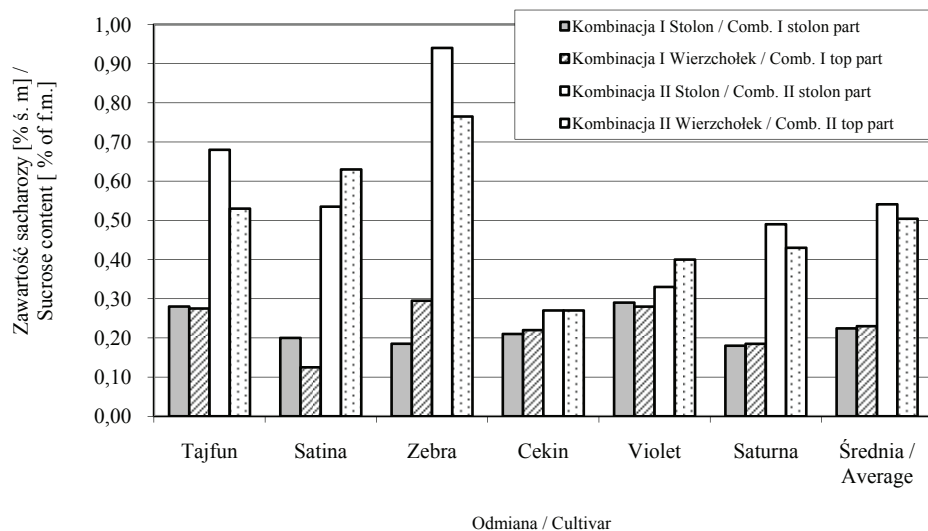
Pod wpływem działania czynnika stresowego suszy największy wzrost badanego składnika stwierdzono w bulwach średnio wczesnej odmiany Cekin zarówno w części stolonowej, jak i wierzchołkowej, natomiast najmniejszy w bulwach średnio późnej odmiany Saturna oraz średnio wczesnej odmiany Zebra. W bulwach wszystkich badanych odmian, którym zapewniono optymalną dawkę wody, dopuszczalna zawartość azotanów nie została przekroczona. Natomiast pod wpływem suszy w bulwach wszystkich badanych odmian wystąpiła bardzo duża kumulacja azotanów, a dopuszczalna ich zawartość została przekroczona. Najintensywniejszy wzrost zawartości tego składnika obserwowano w części przystolonowej bulw ziemniaka.



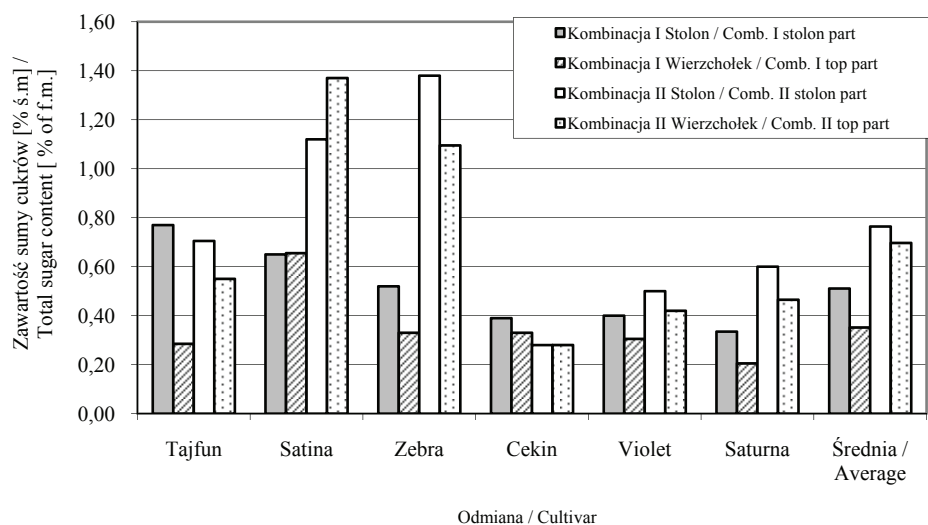
Rys. 3. Wpływ suszy na zawartość azotanów(V) w części wierzchołkowej i stolonowej bulw ziemniaka.  
Fig. 3. Drought influence on nitrate content at stolon part of and at top part of tubers.

Z danych literaturowych wynika, że warunki atmosferyczne i glebowe wpływają na zawartość azotanów w bulwach ziemniaka. Badania Zgórskiej i Gruzińskiej [16] wykazały, że niedobór opadów w czasie tuberyzacji oraz ich nadmiar w ostatnich trzech dekadach poprzedzających zbiorów wpływa na podwyższenie zawartości azotanów w bulwach ziemniaka. Podobne wyniki otrzymała również Cieślak [2].

We wszystkich badanych odmianach nastąpił wzrost zawartości sacharozy pod wpływem działania czynnika stresowego z 0,23 do 0,52% ś.m. (średnio w odmianach). Największym wzrostem zawartości sacharozy charakteryzowały się bulwy odmiany Zebra w części stolonowej z 0,19 do 0,94% ś.m., a w części wierzchołkowej z 0,30 do 0,77% ś.m. Dużym wzrostem sacharozy charakteryzowały się również odmiany Tajfun i Satina, natomiast najmniej tego składnika przybyło w bulwach odmiany Cekin. Największy wzrost tego składnika obserwowano w części stolonowej bulw ziemniaka. (rys. 4). W wyniku nierównomiernego rozłożenia tych związków w bulwach wystąpiły przebarwienia na przekroju chipsów i frytek oraz niejednorodna barwa np. brązowienie przy stolonie, wiązkach przewodzących lub w rdzeniu, co dyskwalifikuje ziemniaki do przetwórstwa [14, 15].



Rys. 4. Wpływ suszy na zawartość sacharozy w części stolonowej i wierzchołkowej bulw ziemniaka.  
 Fig. 4. Drought influence on sucrose content at stolon part of and at top part of tubers.



Rys. 5. Wpływ suszy na zawartość sumy cukrów w części stolonowej i wierzchołkowej bulw ziemniaka.  
 Fig. 5. Drought influence on total sugar content at stolon part of and at top part of tubers.

Suma zawartości cukrów w świeżej masie bulw ziemniaków przeznaczonych na produkty smażone lub sterylizowane nie powinna przekroczyć 0,5%. Poziom powyżej 1% tych związków w świeżej masie zmienia smak bulw, powodując ich słodki posmak

[14]. W odmianach Satina, Zebra oraz Violet Fleishiege nastąpił wzrost sumy cukrów pod wpływem działania suszy, przy czym w bulwach odmian Satina i Zebra został przekroczony dopuszczalny poziom tych związków powyżej 1%. Wzrost zawartości sumy cukrów był spowodowany zarówno wzrostem sacharozy, jak i cukrów redukujących (rys. 5).

Badania dotyczące rozmieszczenia suchej masy i sacharydów w różnych częściach bulw ziemniaka po zbiorze, a także po okresie przechowywania były podejmowane przez Zgórską i Frydecką-Mazurczyk. Otrzymały one istotne różnice poziomu zawartości sacharozy i cukrów redukujących w poszczególnych częściach bulw ziemniaka, a ich zawartość była większa w części przystolonowej bulw [14].

### Wnioski

1. Pod wpływem suszy nastąpił wzrost zawartości suchej masy, azotanów i sacharozy w bulwach ziemniaka niezależnie od odmiany.
2. Susza spowodowała nierównomierny rozkład suchej masy, skrobi, azotanów, sacharozy i sumy cukrów w bulwach ziemniaka.
3. Najintensywniejsze zwiększenie zawartości azotanów(V) i sacharozy pod wpływem suszy obserwowano w części przystolonowej bulw ziemniaka.
4. Warunki suszy mogą powodować przekroczenie dopuszczalnej zawartości azotanów w bulwach ziemniaka.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Adler G.: Kartoffeln und Kartoffelerzeugnisse. Paul Parey, Berlin 1971.
- [2] Cieślik E.: Czynniki kształtujące zawartość azotanów i azotynów w ziemniakach. Postępy Nauk Rolniczych, 1995, 6, 67-71.
- [3] Cieślik E.: Zawartość związków azotowych w bulwach ziemniaka w aspekcie żywieniowym i toksykologicznym. Zesz. Nauk. AR Kraków, 1995, 203, 5-45.
- [4] Dmowski L., Nowak L., Chmura K.: Reakcja odmian ziemniaka o różnej długości wegetacji na zróżnicowane warunki wodno-nawozowe. Biul. Inst. Hodowli i Aklimat. Roślin, 2004, 232, 141-148.
- [5] Frydecka-Mazurczyk A., Zgórska K.: Czynniki wpływające na zawartość azotanów w bulwach ziemniaka. Biuletyn Instytutu Ziemniaka, 1996, 47, 111-126.
- [6] Głuska A., Nawadnianie jako czynnik kształtujący jakość plonów ziemniaka. Biul. Inst. Hodowli i Aklimat. Roślin. 2000, 213, 179-184.
- [7] Kunsch U., Schärer h., Temperli A.: Eine Schnellmethode zur Bestimmung von Nitrat in Frischgemusen mit Hilfe der ionosensitiven Elektrode w: Mitt. Der Eidgenössischen Forschungsanstalt für Obst-Wein und Gertenbau Wädenswill Schweiz. Flugschrift, 1986, 106.




- [8] Lisińska G., Pęska A., Leszczyński W.: Wpływ czynników uprawowych i warunków przechowywania na skład chemiczny bulw i jakość otrzymanych z nich chipsów. *Zesz. Nauk AR Wrocław*, 1991, 244.
- [9] Mazurczyk W., Lis B.: Zawartość azotanów i glikoalkaloidów w dojrzałych bulwach ziemniaka jadalnego. *Roczn. PZH*, 2000, **51**, **1**, 37-41.
- [10] Nowacki W.: Uprawa ziemniaków a wartość konsumpcyjna i technologiczna bulw. *Zeszyty Probl. Post. Nauk Roln.*, 2000, **467**, 23-32.
- [11] Sowokinos J. R.: Relationship of harvest sucrose content to processing maturity and storage life of potatoes. *Am Potato J*, 1978, **55**, 333-336.
- [12] Talburt W.F., Smith: *Potato processing*. Publ. Westport 1959.
- [13] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk A.: Przydatność nowych polskich odmian ziemniaka do przetwórstwa spożywczego. *Zeszyty Probl. Post. Nauk Roln.*, 2002, **489**, 347-354.
- [14] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk A.: Rozmieszczenie suchej masy i sacharydów w różnych częściach bulw ziemniaka. *Zeszyty Probl. Post. Nauk Roln.*, 2002, **489**, 327-334.
- [15] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk A.: Wpływ warunków w czasie wegetacji oraz temperatury przechowywania na cechy jakości ziemniaków przeznaczonych do przetwórstwa. *Biul. Inst. Hodowli i Aklimat. Roślin*. 2000, **213**, 239-252.
- [16] Zgórska K., Grudzińska M.: Zawartość azotanów (V) w bulwach ziemniaka po obróbce wstępnej i termicznej. *Zeszyty Probl. Post. Nauk Roln.*, 2004, **500**, 475-481
- [17] Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności. Dz. U. 2004 r. Nr 120, poz. 1257 z późniejszymi zmianami.

#### CHANGES OF CHEMICAL COMPOUNDS IN POTATO TUBERS UNDER DROUGHT CONDITIONS

##### Summary

The aim of this study was to estimate content of chemical compounds and their distributions in potato tubers (at stolon part of and at top part of tubers) harvested under drought conditions and with optimal water supply. There were used 6 potato cultivars: Cekin, Satina, Saturna, Tajfun, Violet Fleischiege and Zebra in the experiment. Starch content was determined using Ewers method, reducing sugar using spectrophotometry method with dinitrophenyl reagent, sucrose using spectrophotometry method with anthrone reagent. Nitrate V content was determined using ionoselective nitrate electrode by multi-purpose equipment CX-721 Elmetron.

Dry matter content increased in tubers of all tasted cultivars due to stress factor (av. 22,59%) comparing to control sample (20.11%). Starch content under drought condition decreased at all tubers of tested cultivars except from Tajfun cultivar. Water deficit caused increase of nitrate (V) in all cultivars at stolon part of tubers as well as at top part of tubers.(-) At all tested cultivars sucrose increase was observed under stress factor.

**Key words:** potato, drought conditions, dry matter, starch, sucrose, reducing sugar content 

DARIUSZ KOWALCZYK, MAŁGORZATA STRYJECKA,  
BARBARA BARANIAK

## **CHARAKTERYSTYKA WŁAŚCIWOŚCI FUNKCJONALNYCH NIEMODYFIKOWANYCH I ACYLOWANYCH KONCENTRATÓW BIAŁEK SOCZEWICY I ICH TRYPSYNOWYCH HYDROLIZATÓW**

### Streszczenie

Celem pracy było scharakteryzowanie wybranych właściwości funkcjonalnych niemodyfikowanych i acylowanych koncentratów białek nasion soczewicy, otrzymanych metodą koagulacji kwasowej lub flokulacyjno-kwasowej oraz ocena wpływu hydrolizy trypsyną na badane właściwości.

Z nasion soczewicy ekstrahowano białka słabym roztworem ługu z jednoczesną ich chemiczną modyfikacją bezwodnikiem kwasu octowego (acylacja). Następnie białka wydzielano z ekstraktu, stosując dwa sposoby agregacji cząsteczek: koagulację poprzez zakwaszenie ekstraktu 2M HCl do punktu najmniejszej rozpuszczalności białek ( $pH = pI$ ) bądź kwasową koagulację połączoną z flokulacją białek przy użyciu polielektrolitów Magnafloc LT22S (kationowy) lub Magnafloc LT27 (anionowy). Preparaty białek niemodyfikowanych otrzymano w analogiczny sposób, z pominięciem w trakcie ekstrakcji czynnika modyfikującego. Uzyskane koncentraty poddawano hydrolizie trypsyną, a produkty hydrolizy liofilizowano. W koncentratkach oraz ich hydrolizatach określono zawartość białka, rozpuszczalność, absorpcję wody i tłuszczu, aktywność emulgowania, trwałość emulsji, wydajność pienienia oraz trwałość piany.

Zarówno modyfikacja, jak i sposób agregacji białka spowodowały zmianę poszczególnych właściwości funkcjonalnych. Koncentraty białek niemodyfikowanych wykazywały dobrą zdolność absorpcji wody wynoszącą, w zależności od sposobu wytrącenia białek, od 184 do 234% oraz absorpcję tłuszczu na poziomie od 61 do 70%. Acylowanie istotnie ( $\alpha=0,05$ ) zwiększyło wodochłonność koncentratów, w największym stopniu o 136% (przy agregacji białek z udziałem flokulanta anionowego), a w przypadku koncentratów otrzymanych z wykorzystaniem flokulacji nastąpiło również istotne zwiększenie zdolności pochłaniania tłuszczu (od 8 do 15%). Aktywność emulgowania i trwałość emulsji nie uległy istotnym zmianom po modyfikacji białka, a ich maksymalną wartość (odpowiednio 42 i 39%) uzyskano w przypadku koncentratów otrzymanych przy udziale flokulanta Magnafloc LT 22S. Koncentraty te odznaczały się również dziesięciokrotnie lepszą zdolnością do tworzenia piany. Wydajność pienienia pozostałych preparatów była niewielka i w obu przypadkach wyniosła 2 ml. Acylacja poprawiła właściwości pianotwórcze białek soczewicy, jednakże wzrost trwałości piany zaobserwowano jedynie w przypadku białek koagulowanych kwasem. W wyniku chemicznej modyfikacji nastąpił wzrost rozpuszczalności białek w pH powyżej punktu izoelektrycznego. Natomiast w silnie kwaśnym środowisku rozpuszczalność acylowanych białek uległa zmniejszeniu. Hydroliza wszystkich badanych koncentratów białkowych spowodowała

---

*Mgr inż. D. Kowalczyk, dr inż. M. Stryjecka, prof. dr hab. B. Baraniak, Katedra Biochemii i Chemii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Akademia Rolnicza, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin*

zwiększenie ich rozpuszczalności w zakresie pH od 3,5 do 6,5. Hydrolizaty w porównaniu z koncentratami charakteryzowały się na ogół wyższą absorpcją wody i trwałością emulsji. Hydroliza białek spowodowała istotną poprawę ich właściwości pianotwórczych.

**Słowa kluczowe:** właściwości funkcjonalne, nasiona soczewicy, acylacja, koncentraty i hydrolizaty białkowe

## Wprowadzenie

Spośród roślin strączkowych uprawianych na cele spożywcze w naszym kraju najpopularniejsze są groch oraz fasola [17], jednak stale dąży się do zwiększenia arealu innych gatunków takich, jak: soczewica, ciecierzycza, lędźwian czy łubin. Spowodowane jest to ogólnym światowym deficytem plonów wysokobiałkowych, rosnącymi cenami surowca mięsnego, jak również niesłabnącym zainteresowaniem bezpieczną i ekologiczną żywnością. Nasiona roślin strączkowych stanowią cenny wysokobiałkowy składnik diety o dużej wartości biologicznej, jednocześnie są bogate w witaminy, węglowodany i składniki mineralne. Soczewica ze względu na jej walory kulinarne takie, jak krótki czas gotowania, smakowitość i sytość potraw zajmuje czołową pozycję w grupie roślin wykorzystywanych w kuchni wegetariańskiej. Oprócz przygotowania posiłków nasiona strączkowych tradycyjnie znajdują zastosowanie w przemyśle spożywczym, gdzie wykorzystywane są pod postacią preparatów białkowych o różnym stopniu przetworzenia. Powszechnie dostępne koncentraty oraz izolaty białka soi i grochu cieszą się dużym uznaniem, aczkolwiek także inne rośliny strączkowe mogą być potencjalnie wykorzystane do ich otrzymywania. Rodzaj surowca, metoda i warunki izolacji oraz stopień oczyszczenia białka z substancji towarzyszących mają kluczowy wpływ na jakość otrzymanego produktu [36]. Wywołanie zmian w charakterystyce funkcjonalnej preparatów, w celu osiągnięcia określonych korzyści technologicznych, może być również uzyskane poprzez modyfikację białek czyli przemiany, jakim podlegają w procesach fizycznych, chemicznych i enzymatycznych.

Celem pracy było scharakteryzowanie wybranych właściwości funkcjonalnych niemodyfikowanych i acylowanych koncentratów białek nasion soczewicy, otrzymanych metodą koagulacji kwasowej lub flokulacyjno-kwasowej oraz ocena wpływu hydrolizy trypsyną na badane właściwości.

## Material i metody badań

Z rozdrobnionych na mąkę nasion soczewicy odm. Anita ekstrahowano białka 0,02M roztworem NaOH (pH~9,2, temp. 20°C, czas 1 godz.) przy użyciu mieszadła mechanicznego. Po odwirowaniu zawiesiny (4000 x g, 20 min) z ekstraktu wydzielano białka, stosując dwa sposoby agregacji cząsteczek: koagulację poprzez zakwaszenie ekstraktu 2M HCl do punktu najmniejszej rozpuszczalności białek (pI = 3,6) bądź

kwasową koagulację połączoną z flokulacją białek przy użyciu polielektrolitów o charakterze kationowym - Magnafloc LT22S lub anionowym - Magnafloc LT27 (Ciba Speciality Chemicals). Flokulanty dodawano przed obniżeniem pH, w ilości 30 mg/dm<sup>3</sup> ekstraktu. Po upływie ~12 godz. wytrącone osady wirowano (4000 x g, 20 min), przemywano dwukrotnie wodą destylowaną, suszono i mielono. Preparaty białek modyfikowanych otrzymano acylując białka w trakcie ich ekstrakcji. Proces prowadzono poprzez wprowadzenie bezwodnika kwasu octowego w ilości 0,2 cm<sup>3</sup> na 1 g białka zawartego w mące. Modyfikacja trwała 1 godz. w temp. 25°C, przy pH 7,5-8,0. Uzyskane koncentraty poddano hydrolizie trypsyną (1240 j./mg, Sigma T-4799; stosunek enzym/substrat 1: 1000) przez 3 godz., w temp. 37°C i pH = 7,5. Hydrolizaty oczyszczano z nierozpuszczalnej frakcji metodą wirówkową i zagęszczano przez liofilizację.

W koncentratkach oraz hydrolizatach oznaczano zawartość białka metodą Kjeldahla (N x 6,25) i wybrane właściwości funkcjonalne. Rozpuszczalność białka oznaczano metodą podaną przez Betschart [7]. Do 100 mg preparatu dodawano 50 cm<sup>3</sup> buforu o pH od 2,5 do 9,5 i wytrząsano 1 godz. W przesączu oznaczano zawartość białka metodą Lowry'ego. Absorpcję wody, absorpcję tłuszczu, aktywność emulgowania, trwałość emulsji, wydajność pienienia oraz trwałość piany oznaczano wg metodyki podanej przez Rutkowskiego i Kozłowską [31].

#### *Oznaczenie absorpcji wody*

Próbkę o masie 1 g mieszano (homogenizator MPW typ 309, 1000 obr./min, 1 min) z 30 cm<sup>3</sup> wody destylowanej, a następnie wirowano (9000 x g) przez 15 min. Po zlaniu niezwiązanej wody próbki z osadem pozostawiano na 10 min do góry dnem, po czym je ważono. Absorpcję wody obliczano z równania:

$$WA = a/W \cdot 100\%$$

gdzie: WA – absorpcja wody [%], a – masa mokrego osadu [g], W – naważka [g]

#### *Oznaczenie absorpcji tłuszczu*

Próbkę o masie 5 g mieszano z 25 cm<sup>3</sup> oleju w ten sam sposób jak opisano w metodzie oznaczenia absorpcji wody. Próbkę odstawiano na 5 min i ponownie mieszano, a następnie wirowano (280 x g, 5 min). Niezwiązany olej zlewano do cylindra miarowego. Absorpcję tłuszczu obliczano z równania:

$$FA = (25-b)/W \cdot 100\%$$

gdzie: FA – absorpcja tłuszczu [%], 25 – liczba cm<sup>3</sup> oleju użyta do oznaczenia b – objętość zdekantowanego oleju [cm<sup>3</sup>], W – naważka [g].

*Oznaczenie aktywności emulgowania i trwałości emulsji*

Próbkę o masie 2,5 g rozpuszczano w 50 cm<sup>3</sup> wody destylowanej, dodawano 50 cm<sup>3</sup> oleju i homogenizowano jak we wcześniejszych oznaczeniach. Wytworzoną emulsję rozdzielano do probówek miarowych, wirowano (3000 x g) przez 5 min i odczytywano objętość poszczególnych warstw. Aktywność emulgowania obliczano z równania:

$$EA = c/d \cdot 100\%$$

gdzie: EA – aktywność emulgowania [%], c – objętość warstwy zemulgowanej [cm<sup>3</sup>], d – objętość całkowita [cm<sup>3</sup>].

W celu oznaczenia trwałości otrzymanej emulsji ogrzewano ją w łaźni o temp. 80°C przez 30 min. Po schłodzeniu przez 15 min w naczyniu z lodem, całość mieszano bagietką, rozdzielano do probówek miarowych i dalej (łącznie z obliczeniami) postępowano jak przy oznaczeniu aktywności emulgowania.

*Oznaczenie wydajności pienienia i trwałości piany*

Próbkę o masie 1 g homogenizowano, jak w poprzednich oznaczeniach z 99 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Spienioną ciecz szybko przenoszono do cylindra miarowego i odczytywano objętość piany (cm<sup>3</sup>) wyrażającą wydajność pienienia. Trwałość piany wyrażano jako objętość piany po 30 min.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie (trójczynnikowa analiza wariancji) przy użyciu programu Statistica 6.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi (n = 3) wykonano testem Tukeya przy  $\alpha = 0,05$ .

**Wyniki i dyskusja**

Zarówno modyfikacja, jak i sposób agregacji białka spowodowały statystycznie istotne zmiany poszczególnych właściwości funkcjonalnych preparatów, nie wpływając na istotne różnice zawartości białka w koncentratkach (tab. 1). W zależności od metody agregacji białka zdolność absorpcji wody przez koncentraty niemodyfikowanych białek kształtowała się na poziomie 184 do 234%, natomiast absorpcja tłuszczu od 61 do 70% (tab. 2). Przydatność flokulantów w procesie otrzymywania białkowych preparatów była już przedmiotem badań Baraniak i wsp. [4, 5, 6]. W pracach tych, wykorzystanie syntetycznych polielektrolitów do separacji faz różnicowało skład chemiczny uzyskiwanych preparatów, z reguły powodowało zmniejszenie zawartości białka [4, 5] i zmiany w jego składzie aminokwasowym [6]. Zaobserwowane w niniejszej pracy zmiany badanych cech należy powiązać z rezultatami przytoczonych prac, właściwości funkcjonalne są bowiem odzwierciedleniem naturalnych cech białek, m.in. profilu aminokwasowego, ale wynikają też z czynników zewnętrznych takich, jak obecność

Tabela 1

Zawartość białka ogółem w preparatach białkowych otrzymanych różnymi metodami z nasion soczewicy.  
The total protein content in preparations obtained by various methods from lentil seeds.

Metoda agregacji białek Method of proteins aggregation	Zawartość białka (N x 6,25) [% s.m.] Total protein [% d.m.]			
	K		H	
	N	A	N	A
HCl	83,14 <sup>a</sup>	80,70 <sup>a</sup>	71,30 <sup>d</sup>	72,30 <sup>d</sup>
LT 22S + HCl	81,55 <sup>a</sup>	82,32 <sup>a</sup>	66,70 <sup>cd</sup>	57,95 <sup>b</sup>
LT 27 + HCl	84,89 <sup>a</sup>	83,88 <sup>a</sup>	61,85 <sup>b</sup>	61,70 <sup>bc</sup>

Objaśnienia:/ Explanatory notes:

K- koncentraty / concentrates; H- hydrolizaty / hydrolysates; N- niemodyfikowane / native; A- acylowane / acetylated;

a-d - wartości średnie oznaczone tą samą literą, nie różnią się między sobą statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha = 0,05$  / mean values denoted by the same letter, do not statistically significantly at  $\alpha = 0.05$  level.

Tabela 2

Właściwości funkcjonalne koncentratów i hydrolizatów białek nasion soczewicy, determinowane metodą agregacji i acylacji.

The functional properties of lentil seed proteins concentrates and hydrolysates determined by method of aggregation and acylation.

Metoda agregacji białek Method of proteins aggregation	Modyfikacja Modification	Absorpcja wody Water absorption [%]		Absorpcja tłuszczu Oil absorption [%]		Aktywność emulgowania Emulsifying activity [%]		Trwałość emulsji Emulsion stability [%]		Wydajność pienienia Foam capacity [ml]		Trwałość piany Foam stability [ml]	
		K	H	K	H	K	H	K	H	K	H	K	H
		HCl	N	234 <sup>c</sup>	321 <sup>bc</sup>	62 <sup>ab</sup>	61 <sup>a</sup>	38,5 <sup>a</sup>	40 <sup>ab</sup>	30,5 <sup>a</sup>	32,5 <sup>a</sup>	2 <sup>c</sup>	57 <sup>a</sup>
	A	304 <sup>c</sup>	354 <sup>a</sup>	65 <sup>ab</sup>	66 <sup>ab</sup>	38 <sup>a</sup>	43 <sup>bc</sup>	30 <sup>a</sup>	39 <sup>bc</sup>	30 <sup>c</sup>	59 <sup>ab</sup>	26 <sup>g</sup>	50 <sup>f</sup>
LT 22S + HCl	N	184 <sup>d</sup>	342 <sup>ab</sup>	61 <sup>a</sup>	65 <sup>ab</sup>	42 <sup>ab</sup>	47 <sup>d</sup>	34 <sup>ac</sup>	44 <sup>bd</sup>	20 <sup>d</sup>	62 <sup>ab</sup>	0 <sup>a</sup>	41 <sup>dc</sup>
	A	234 <sup>c</sup>	397 <sup>f</sup>	76 <sup>d</sup>	69 <sup>abc</sup>	42 <sup>ab</sup>	50 <sup>d</sup>	39 <sup>bc</sup>	46 <sup>d</sup>	30 <sup>c</sup>	65 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	32 <sup>b</sup>
LT 27 + HCl	N	192 <sup>d</sup>	337 <sup>ab</sup>	70 <sup>bc</sup>	63 <sup>a</sup>	39 <sup>ab</sup>	43 <sup>bc</sup>	31 <sup>a</sup>	40 <sup>b</sup>	2 <sup>c</sup>	58 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	45 <sup>ef</sup>
	A	328 <sup>abc</sup>	353 <sup>a</sup>	79 <sup>d</sup>	68 <sup>ac</sup>	40,5 <sup>ab</sup>	49 <sup>d</sup>	32 <sup>a</sup>	45,5 <sup>d</sup>	14 <sup>d</sup>	62 <sup>ab</sup>	0 <sup>a</sup>	35 <sup>bc</sup>

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

a-g -wartości średnie oznaczone w obrębie tej samej właściwości funkcjonalnej tą samą literą, nie różnią się między sobą statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha = 0,05$  / mean values denoted by the same letter, and included in the same functional properties, do not statistically significantly at  $\alpha=0.05$  level.

składników niebiałkowych czy warunki środowiska [36]. Oceny właściwości funkcjonalnych koncentratów białkowych z nasion soczewicy podejmowali się również inni autorzy. Lee i wsp. [25] analizowali wpływ warunków ekstrakcji białek z dwóch au-

stralijskich odmian soczewicy. Wykazali, że wzrost pH oraz temperatury podczas ekstrakcji wpływa na wzrost wydajności izolowania białka, zwiększa wodochłonność i stabilność piany, obniża natomiast aktywność emulgowania, stabilność emulsji i zdolność pienienia. Wartości liczbowych nie można jednak porównywać z wynikami niniejszej pracy ze względu na odmienne warunki badań. Właściwości funkcjonalne acetylowanych oraz sukcynowanych białek soczewicy były badane przez Bora [9, 10]. Autor określił wpływ stopnia modyfikacji na analizowane cechy. Acylowane białka, w porównaniu z niemodyfikowanymi, miały przesunięty punkt izoelektryczny (pI) w kierunku niższego pH, co zwiększyło ich rozpuszczalność w obszarze powyżej pI. W silnie kwaśnym środowisku rozpuszczalność acylowanych białek zmalała [9, 10] na skutek niedoboru protonowanych grup aminowych. Zmniejszenie w cząsteczce udziału ładunku dodatniego uniemożliwia zrównoważenie hydrofobowych oddziaływań reszt alkilowych i aromatycznych, wywołujących agregację białka [33]. Jest to typowy efekt acylacji, który znalazł potwierdzenie również w niniejszej pracy (rys. 1). Zmiany ładunku spowodowane są podstawieniem grup  $\epsilon$ -aminowych lizyny, imidazolowych histydyny, ferulowych tyrozyny i tiolowych cysteiny resztami bezwodnika. Siły elektrostatyczne między grupami aminowymi i karboksylowymi białek są wówczas niwelowane i w rezultacie dochodzi do ograniczenia reakcji typu białko-białko, a ułatwienia oddziaływań białko-woda [23]. Powoduje to jednoczesny wzrost zdolności wiązania i utrzymywania wody, co zaobserwowano w cytowanych badaniach, jak też w niniejszej pracy (tab. 2). Przyrost wodochłonności może być również spowodowany dysocjacją białkowych oligomerów po modyfikacji, co zwiększa ich powierzchnię absorpcji wody [24]. Bora [9] wykazał ponadto, że wraz ze wzrostem stopnia acetylacji (w zakresie od 62,5 do 93%) zwiększa się wodochłonność białka, aktywność emulgowania i wydajność pienienia, a zmniejszeniu ulega zdolność absorpcji tłuszczu. W przedstawionej pracy, na skutek inkorporacji dodatkowych grup hydrofilowych, wodochłonność koncentratów uległa istotnej poprawie, maksymalnie o 136% (przy agregacji białek z udziałem flokulanta anionowego). Odmienne niż w pracy Bora [9], zdolność absorpcji tłuszczu przez koncentraty wytrącone kwasem nie zmieniła się istotnie po przeprowadzeniu chemicznej modyfikacji. Z kolei koncentraty otrzymane z wykorzystaniem flokulacji miały istotnie, o 8 do 15% większą zdolność chłonięcia tłuszczu. Wzrost absorpcji tłuszczu obserwowano także w przypadku acetylowanych preparatów białka fasoli złocistej (*Phaseolus aureus*) [15], fasoli *Canavalia ensiformis* [23], słonecznika [18]. Aktywność emulgowania i trwałość emulsji nie uległy istotnym zmianom po modyfikacji białka, a ich największą wartość (odpowiednio 42 i 39%) uzyskały koncentraty otrzymane przy udziale flokulanta Magnafloc LT 22S. Koncentraty te odznaczały się również dziesięciokrotnie lepszą zdolnością do tworzenia piany. Wydajność pienienia pozostałych preparatów była znikoma i w obu przypadkach wyniosła 2 ml. Acylacja istotnie poprawiła właściwości pianotwórcze białek soczewicy,



jednak wzrost trwałości piany zaobserwowano jedynie w przypadku białek koagulowanych kwasem.

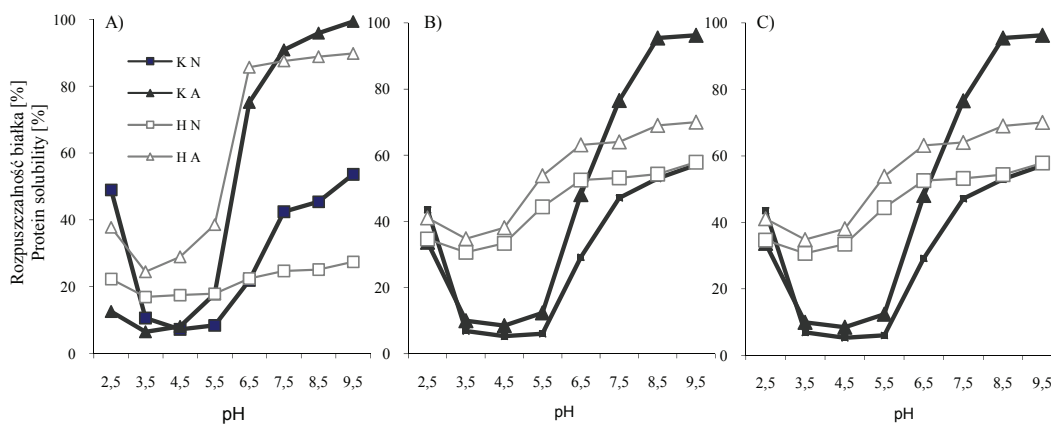
Chemiczne modyfikacje, takie jak: alkilowanie, estryfikacja, utlenianie czy acylowanie, pomimo że pozwalają na znaczną poprawę niektórych właściwości funkcjonalnych, to jednak budzą obawy i jak dotąd nie znajdują zastosowania w produkcji żywności. Częściej do modyfikacji surowców białkowych wykorzystywane są metody enzymatyczne. Hydroliza z udziałem enzymów stwarza możliwości kształtowania właściwości funkcjonalnych białek poprzez dobór proteaz, warunków i stopnia hydrolizy [27]. Produktami rozpadu białek są produkty o niższej masie cząsteczkowej: polipeptydy, oligopeptydy i aminokwasy, dzięki czemu hydrolizaty wykazują większą rozpuszczalność w wodzie [1, 11]. Spowodowane jest to wzrostem hydrofilności na skutek zwiększenia liczby grup zdolnych do jonizacji ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{COOH}$ ) [27]. W zakresie pH od 3,5-6,5 hydrolizaty otrzymane zarówno z białek natywnych, jak i acylowanych charakteryzowały się wyższą rozpuszczalnością w stosunku do materiału wyjściowego (rys. 1). Hydrolizowane białka na ogół miały również istotnie wyższą (od 9 do 163%) wodochłonność i trwałość emulsji (od 2 do 13,5%) (tab. 2). Hydroliza spowodowała istotną poprawę właściwości pianotwórczych białek. Wydajność piany wzrosła z 30 do 55 ml, jednocześnie uzyskane piany były dużo trwalsze.

Badania strawności sukcylinowanych białek wykazały, że wiązania utworzone pomiędzy bezwodnikiem a resztami aminokwasowymi są odporne na działanie trzustkowych, jak i gastrycznych proteaz [32]. Wprowadzenie grup acetylowych do białka spowodowało istotne polepszenie wodochłonności uzyskanych koncentratów, lecz po ich proteolizie tylko hydrolizaty białek wytraconych kwasem i/lub przy użyciu flokulanta LT22S wykazywały statystycznie istotnie wyższą wodochłonność w porównaniu z hydrolizatami białka niemodyfikowanego (tab. 2).

Zdolność tworzenia układów dyspersyjnych (emulsji i pian) przez białka i peptydy wynika z amfipatyczności tych cząsteczek, co umożliwia ich gromadzenie na granicy faz. Uważa się, że częściowa proteoliza korzystnie modyfikuje właściwości związane z aktywnością powierzchniową. Ochiai i wsp. [26] poddali hydrolizie trypsyną białka soi i stwierdzili, że proces ten powoduje poprawę właściwości emulgujących, a peptydy o wysokich masach cząsteczkowych oraz te pochodzące z glicyniny mają pod tym względem najlepsze właściwości. Adler-Nissen i wsp. [2] wykazali, że proteoliza białka sojowego do  $\text{DH} = 5\%$ , zwiększa wydajność emulgowania, ale jej pogłębienie do  $\text{DH} = 9\%$  powoduje wyraźne pogorszenie tej cechy. Poprawa właściwości emulgujących w rezultacie ograniczonej proteolizy spowodowana jest odsłonięciem reszt aminokwasów hydrofobowych, usytuowanych wewnątrz molekuł natywnego białka, co zwiększa i ułatwia adsorpcję na granicy faz [19]. Właściwości pianotwórcze białek zależą od zdolności cząsteczek do szybkiego dyfundowania na powierzchnię międzyfazową, jak i zdolności reorganizacji na niej [20]. Po adsorpcji na granicy po-



wietrze/woda polarne reszty aminokwasów znajdujące się na powierzchni cząsteczek białek zwracają się w stronę cieczy, a niepolarne w kierunku gazu. Wokół pęcherzyków powietrza powstaje spójny, elastyczny film międzyfazowy [12]. Uzyskana w pracy niska wydajność pienienia koncentratów białkowych może być spowodowana zwartą, globularną strukturą białek, która hamuje ich zdolność do efektywnej reorientacji. Hydroliza zmniejsza masę cząsteczkową i zwiększa elastyczność struktur białkowych umożliwiając powstanie elastycznego filmu [3]. Możliwość łatwiejszego rozfałdowania molekuł białka z odsłonięciem wielu reszt lipo- i hydrofilowych stwarza również acylacja [23]. Tłumaczyć to może istotny wzrost wydajności pienienia koncentratów białkowych po przeprowadzeniu modyfikacji (tab. 2). Limitowana hydroliza najczęściej poprawia zdolność pienienia białek, ale zmniejsza stabilność pian [3, 22, 28]. Peptydy są lepiej rozpuszczalne w wodzie, dlatego szybko osiągają powierzchnię międzyfazową. Z drugiej strony zbyt krótkie peptydy nie są efektywne w obniżaniu napięcia powierzchniowego, gdyż nie są w stanie rozwinąć się i utworzyć stabilnego filmu [16, 29]. Powstanie mocnych, kohezyjnych i elastycznych błon zdolnych do ochrony utworzonej piany przed działaniem sił grawitacji i mechanicznymi interakcjami [13], umożliwiają jedynie wysokocząsteczkowe peptydy lub częściowo hydrolizowane białka [8, 30]. Podobnie, jak w niniejszej pracy, wzrost trwałości piany po hydrolizie obserwowano w przypadku preparatów białek glutenowych [35], rzepaku [34], białek mięśni rekina (*Squalus acanthias*) [14] i globin krwi [21].



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

Rys. 1. Rozpuszczalność białka preparatów otrzymanych różnymi metodami agregacji: A) HCl, B) LT22S + HCl, C) LT27 + HCl.

Fig. 1. Protein solubility of preparations received by various methods of aggregation: A) HCl, B) LT22S + HCl, C) LT27 + HCl.

## Wnioski

1. Wykorzystanie polielektrolitów w procesie agregacji białek soczewicy różnicuje właściwości funkcjonalne otrzymanych koncentratów, bez istotnego wpływu na zawartość białka.
2. Acylacja bezwodnikiem kwasu octowego polepsza absorpcję wody i wydajność pienienia białkowych koncentratów oraz zwiększa ich rozpuszczalność w zakresie pH powyżej punktu izoelektrycznego.
3. Trypsynowe hydrolizaty białek soczewicy w porównaniu z koncentratami charakteryzują się na ogół lepszą rozpuszczalnością w zakresie pH 3,5–6,5, większą wodorochłonnością i trwałością emulsji oraz ulepszonymi właściwościami pianotwórczymi.

*Pracę wykonano w ramach PBZ/KBN/021/P06/99 finansowanego przez KBN w latach 2001-2004. Była ona prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

## Literatura

- [1] Adler-Nissen J.: Enzymic hydrolysis of food proteins. Elsevier Applied Science Publishers, London 1986, pp. 1-427.
- [2] Adler-Nissen J., Olsen H.S.: The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. In: Functionality and protein structure - ed. A. Pour-Ei, ACS, Washington, DC, 1979, p. 125-146.
- [3] Aluko R.E., Monu E.: Functional and bioactive properties of quinoa seed protein hydrolysates. *J. Food Sci.*, 2003, **68** (4), 1254-1258.
- [4] Baraniak B., Niezabitowska M., Pielecki J., Wójcik W.: Evaluation of usefulness of Magnafloc M-22S flocculant in the process of obtaining protein concentrates from peas. *Food Chem.*, 2004, **85**, 251-257.
- [5] Baraniak B., Niezabitowska M., Porzucek H.: Zawartość białka ogółem, inhibitorów trypsyny i stachiozy w preparatach białkowych uzyskiwanych z mąki grochu za pomocą różnych metod koagulacji. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3** (40), 87-97.
- [6] Baraniak B., Niezabitowska M.: Jakość białka koncentratów otrzymanych różnymi metodami z nasion grochu odmiany Piast. *Annales UMCS, Sec. E*, 2004, **59** (4), 1557-1566.
- [7] Betschart A.A.: Nitrogen solubility of alfaalfa protein concentrate as influenced by various factors. *J. Food Sci.*, 1974, **39**, 1110-1115.
- [8] Bombara N., Pilosof A.M.R., Añón M.C.: Mathematical model for formation rate and collapse of foams from enzyme modified wheat flours. *J. Food Sci.*, 1994, **59** (3), 626-628.
- [9] Bora P.S.: Effect of acetylation on the functional properties of lentil (*Lens culinaris*) globulin. *J. Sci. Food Agric.*, 2003, **83** (2), 139-141.
- [10] Bora P.S.: Functional properties of native and succinylated lentil (*Lens culinaris*) globulins. *Food Chem.*, 2002, **77** (2), 171-176.
- [11] Chobert J.M., Briand L., Guéguen J., Popineau Y., Larré C., Haertlé T.: Recent advances in enzymatic modifications of food proteins for improving their functional properties. *Nahrung*, 1996, **40**, 177-182.

- [12] Darewicz M., Dziuba J.: Struktura a właściwości funkcjonalne białek mleka. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **2** (43), 47-60.
- [13] Dickinson E.: Protein adsorption at liquid interfaces and the relationship to foam stability. In: Foams: physics, chemistry and structure - ed. A.J. Wilson Springer, London 1989, pp. 39-53.
- [14] Diniz F.M., Martin A.M.: Effects of the extent of enzymatic hydrolysis on functional properties of shark protein hydrolysate. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 1997, **30**, 266–272.
- [15] El-Adawy T.A.: Functional properties and nutritional quality of acetylated and succinylated mung bean protein isolate. Food Chem., 2000, **70**, 83-91.
- [16] Gbogouri G. A., Linder M., Fanni J., Parmentier M.: Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon by product hydrolysates. J. Food Sci., 2004, **69**, 615–622.
- [17] <http://faostat.fao.org/site/336/DesktopDefault.aspx?PageID=336>.
- [18] Kabirullah M., Wills R.B.H.: Functional properties of acetylated and succinylated sunflower protein isolate. J. Food Technol., 1982, **17**, 235-249.
- [19] Kim (Lee) S.Y., Park P.S.-W., Rhee K.C.: Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein. J. Agric. Food Chem., 1990, **38**, 651-656.
- [20] Kinsella J.E.: Functional properties of proteins: possible relationships between structure and function in foams. Food Chem., 1981, **7**, 273-288.
- [21] Konieczny P., Uchman W., Krysztofiak K., Przyborski J.: Some selected properties of protein preparations made by enzymatic treatments of animal blood red cell fraction. Acta Sci.Pol., Technol. Aliment. **4** (2), 111-118.
- [22] Kuehler C.A., Stine M.C.: Effect of enzymatic hydrolysis on some functional properties of whey protein. J. Food Sci., 1974, **39**, 379-382.
- [23] Lawal O.S., Adebawale K.O.: The acylated protein derivatives of *Canavalia ensiformis* (jack bean): A study of functional characteristics. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. LWT - Food Sci. Technol., 2006, **39**, 918-929.
- [24] Lawal O.S.: Functionality of native and succinylated Lablab bean (*Lablab purpureus*) protein concentrate. Food Hydrocolloids, 2005, **19**, 63-72.
- [25] Lee H.C., Htoon A.K., Uthayakumaran S., Paterson J.L.: Chemical and functional quality of protein isolated from alkaline extraction of Australian lentil cultivars: Matilda and Digger. Food Chem., 2007, **102**, 1199-1207.
- [26] Ochiai K., Kamata Y., Shibasaki K.: Effect of tryptic digestion on emulsifying properties of soy protein. Agric. Biol. Chem., 1982, **46** (4), 91-96.
- [27] Panyam D., Kilara A.: Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. Trends Food Sci. Technol., 1997, **7**, 120-125.
- [28] Pedroche J., Yust M.M., Lqari H., Girón-Calle J., Alaiz M., Vioque J., Millán F.: *Brassica carinata* protein isolates: chemical composition, protein characterization and improvement of functional properties by protein hydrolysis. Food Chem., 2004, **88**, 337–346.
- [29] Rahali V., Chobert J.M., Haertle T., Guéguen J.: Emulsification of chemical and enzymatic hydrolysates of  $\beta$ -lactoglobulin: characterization of the peptides adsorbed at the interface. Nahrung, 2000, **44**, 89–95.
- [30] Rahali V., Guéguen J.: Foaming characteristics of chemical and enzymatic hydrolysates of bovine  $\beta$ -lactoglobulin. Nahrung, 2000, **44** (5), 309-317.
- [31] Rutkowski A., Kozłowska H.: Preparaty żywnościowe z białka roślinnego. WNT, Warszawa 1981.
- [32] Shukla T.P.: Chemical modification of food protein. In: Food protein deterioration: mechanism and functionality - ed. J.P. Chery. ACS, Washington, DC, 1982, p. 275.
- [33] Sikorski Z.E.: Chemiczne i enzymatyczne modyfikowanie białek. W: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności - pod red. Z.E. Sikorskiego. WNT, Warszawa 1994, s. 278.

- [34] Vioque J., Sánchez-Vioque R., Clemente A., Pedroche J., Millán F.: Partially hydrolyzed rapeseed protein isolates with improved functional properties. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2000, **77** (4), 447-450.
- [35] Xiangzhen K., Huiming Z., Haifeng Q.: Enzymatic preparation and functional properties of wheat gluten hydrolysates. *Food Chem.*, 2007, **101**, 615-620.
- [36] Zaborska Z., Krysztofiak K., Uchman W.: Zastosowanie preparatów białkowych. W: *Substancje dodatkowe w przetwórstwie mięsa - pod red. W. Uchmana*. Wyd. AR Poznań 2001, s. 121-127.


### THE PROFILE OF FUNCTIONAL PROPERTIES OF NATIVE AND ACYLATED LENTIL PROTEIN CONCENTRATES AND THEIR TRYPSIN HYDROLYSATES

#### S u m m a r y

The purpose of this study was to characterize the chosen functional properties of native and acylated protein concentrates received from lentil seeds by acidic or flocculation-acidic coagulation and estimate of effect trypsin hydrolysis on studied proprieties.

From the lentil seeds, proteins were extracted by weak solution of lye and chemically modified with acetic anhydride (acylation) at the same time. Then protein in extract were exuded applying two ways of aggregation of particles: coagulation by souring the extract 2M HCl to the point of the smallest solubility of proteins (pH = pI) or acidic coagulation joint from the flocculation of proteins using polyelectrolytes 'Magnafloc LT22S' (kationic) or 'Magnafloc LT27' (anionic). Unmodified protein concentrates were prepared analogically, except no acylating agent witch was added during extraction. Protein concentrates were hydrolyzed with trypsin and than desiccated by lyophilisation. Protein content, solubility, water and oil absorption, emulsifying activity, emulsion stability, foam capacity and foam stability were determined in concentrates and their hydrolysates.

Both the modification and the way aggregation of proteins caused changes of individual functional proprieties. Native protein concentrates possessed good ability to water absorption, carrying out from 184 to 234% in dependence from the way precipitation of protein, and oil absorption in range 61–70%. Acylation essentially ( $\alpha=0,05$ ) increased water absorption of concentrates, in largest degree about 136% (in case aggregation of proteins by anionic flocculant) and significantly increased ability to oil absorption (in range 8-15%) in the case of concentrates received with utilization of flocculation. The emulsifying activity and emulsion stability did not change significantly after protein modification, achieving maximum value (42 and 39% respectively), for concentrates received with flocculant 'Magnafloc LT 22S'. These concentrates were also characterizing by ten times better ability to foam creating. The foam capacity remaining preparations was small and achived 2ml in both cases. Acylation improved foam proprieties of lentil proteins, yet the growth of foam stability was observed only in the case proteins coagulated by the acid. The chemical modification caused of highest protein solubility in range above isoelectric point. However solubility of acylated proteins decreased in the strong acid medium. The hydrolysis of studied protein concentrates caused increased their solubility in range pH 3,5-6,5. Hydolysates in comparison with concentrates were characterizing higher water absorption and emulsion stability. The hydrolysis of proteins caused the significant improvement of their foam proprieties.

**Key words:** functional properties, legume seeds, acylation, protein concentrates and hydrolysates 

BEATA DRUŻYŃSKA, AGNIESZKA JEŻAK

## WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE POLIFENOLI ZAWARTYCH W OKRYWIE NASIENNEJ NASION BOBU

### Streszczenie

Celem pracy było określenie właściwości przeciwutleniających preparatów polifenoli uzyskanych z okrywy nasiennej nasion bobu dwóch odmian: Windsor Biały i Bartom. Preparaty otrzymano przez ekstrakcję polifenoli 0,5% roztworem HCl w metanolu, zagęszczanie pod próżnią i liofilizację.

Charakterystyka chemiczna otrzymanych preparatów polegała na określeniu zawartości polifenoli ogółem, tanin skondensowanych i antocyjanów. W badaniach właściwości przeciwutleniających preparatów polifenoli oznaczano zdolności preparatów do unieczynniania stabilnych, syntetycznych rodników DPPH i rodników wodorotlenowych. Zbadano również zdolność preparatów do chelatowania jonów żelaza II.

Stwierdzono, że badane preparaty wykazywały aktywność przeciwrodnikową zarówno wobec rodników wodorotlenowych (od 48 do 50%), jak i rodników DPPH (od 65 do 70%). Badane preparaty chelatowały również jony żelaza II. Większą aktywnością charakteryzował się preparat z bobu odmiany Windsor Biały, co spowodowane było prawdopodobnie większą zawartością polifenoli w tym preparacie.

**Słowa kluczowe:** nasiona bobu, polifenole, właściwości przeciwutleniające, rodniki wodorotlenowe, rodniki DPPH

### Wprowadzenie

Jednym z najważniejszych kierunków badań w technologii żywności jest poszukiwanie nowych metod zabezpieczania produktów przed zachodzeniem niekorzystnych zmian zarówno podczas produkcji, jak i przechowywania żywności. Do najbardziej niekorzystnych zmian w produktach żywnościowych zalicza się reakcje utleniania. Powodują one zarówno obniżenie wartości żywieniowej, jak i pogorszenie smaku oraz powstawanie toksycznych produktów reakcji, do których zalicza się wolne rodniki i produkty ich rozpadu [7]. Naukowcy ciągle poszukują naturalnych przeciwutleniaczy, uważanych za bezpieczne, a jednocześnie dobrze akceptowanych przez konsumentów.

---

*Dr inż. B. Drużyńska, mgr inż. A. Jeżak, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

Najliczniejszą grupą wśród naturalnych przeciwutleniaczy są polifenole. Związki te należą do wtórnych metabolitów roślinnych. Są potrzebne do prawidłowego wzrostu i reprodukcji roślin. Występują powszechnie w owocach, warzywach, zbożach, a także w roślinach strączkowych [3, 18]. Ich przeciwutleniające właściwości (zwłaszcza flawonoidów i kwasów fenolowych) są w literaturze dobrze udokumentowane [1, 4]. Wśród roślin strączkowych dotyczy to przede wszystkim polifenoli zawartych w nasionach soi [20]. Niewiele jest prac opisujących działanie przeciwutleniające polifenoli występujących w krajowych nasionach roślin strączkowych, a szczególnie w nasionach bobu.

Celem niniejszej pracy było określenie składu i właściwości przeciwutleniających polifenoli zawartych w okrywie nasiennej bobu.

### **Material i metody badań**

Materiałem badawczym były preparaty otrzymane z okrywy nasiennej dwóch odmian nasion bobu: Windsor Biały i Bartom. Nasiona bobu moczone w wodzie przez 24 godz., a następnie ręcznie obłuszczano. Okrywę suszono w temperaturze pokojowej i mielono. Polifenole ekstrahowano 0,5% roztworem kwasu solnego w metanolu, wytrząsając przez 24 godz. w temperaturze pokojowej. Otrzymany ekstrakt zagęszczano pod próżnią w temp. 50°C i poddawano liofilizacji [17]. Przed każdym oznaczeniem odpowiednią naważkę preparatu rozpuszczano w metanolu.

Charakterystyka chemiczna otrzymanych preparatów obejmowała określenie zawartości: polifenoli ogółem [13], tanin skondensowanych [5] i antocyjanów [15]. Polifenole ogółem oznaczano na podstawie reakcji barwnej zachodzącej pod wpływem dodania odczynnika Folina-Ciocalteu'a i węgla sodu. Absorbancję barwnego kompleksu mierzono przy  $\lambda = 700$  nm w spektrofotometrze Shimadzu UV-160A w 1 cm kuwetach. Wynik wyrażano w przeliczeniu na kwas galusowy.

Taniny skondensowane oznaczano na podstawie reakcji z odczynnikiem wanilinowym. Odczynnik ten otrzymywano przez zmieszanie w stosunku 50 : 50 roztworów: 1% waniliny w metanolu i 8% HCl w metanolu. Absorbancję mierzono przy  $\lambda = 500$  nm w spektrofotometrze Shimadzu UV-160A w 1 cm kuwetach. Wynik wyrażano w przeliczeniu na (+)katechinę.

Antocyjany oznaczano metodą Sodheimera-Kertesza w modyfikacji Swaina i Hillisa, stosując 1,5 M roztwór HCl i bufor cytrynianowy (pH 3,4). Absorbancję mierzono przy  $\lambda = 520$  nm w spektrofotometrze UV-160A w 1 cm kuwetach. Zawartość antocyjanów obliczano na podstawie krzywej wzorcowej, do wykonania której użyto czerwieni kongo.

Właściwości przeciwutleniające preparatów polifenoli oznaczano przez pomiar ich zdolności do unieczynniania stabilnych, syntetycznych rodników DPPH. Metoda polega na dodaniu związków przeciwrodnikowych do metanolowego roztworu DPPH<sup>•</sup>,

który w formie rodnikowej wykazuje absorpcję przy  $\lambda = 517$  nm. Wartość tej absorpcji obniża się po dodaniu związku antyrodnikowego [14]. Dla porównania dokonano pomiaru inhibicji tych rodników przez syntetyczny przeciwutleniacz BHT. Aktywność przeciwutleniającą wobec DPPH obliczano z równania:

$$A = [(A_K - A_{W1}) / A_K] \times 100\%,$$

gdzie: A – aktywność przeciwrodnikowa [%],  $A_K$  – absorpcja próby kontrolnej,  $A_{W1}$  – absorpcja próby właściwej.

Przeciwrodnikowe właściwości polifenolowych preparatów oznaczano również przez pomiar fluorescencji wywołanej formowaniem rodników wodorotlenowych generowanych z nadtlenku wodoru i benzoesu sodu w obecności jonów miedzi (II) i DTET (dithioerytrol) w buforze fosforanowym o pH 7,2. DTET stosowano w celu przyspieszenia reakcji rodnikowej. Fluorescencję pochodnych hydroksylowych mierzono spektrofotometrycznie [2]. Aktywność przeciwrodnikową (A) obliczano z równania:

$$A = [(F_K - F_{W1}) / F_K] \times 100\%,$$

gdzie:  $F_K$  – absorpcja próby kontrolnej,  $F_{W1}$  – absorpcja próby właściwej.

Badanie zdolności chelatowania jonów żelaza (II) przez polifenole prowadzono w wodnych roztworach preparatów polifenoli, dodając chlorek żelaza(II) i ferrozynę. Absorbancję barwnego kompleksu mierzono po 10 min od dodania ferrozyny przy długości fali 562 nm w spektrofotometrze Shimadzu UV-160A [6]. Zdolność preparatów do chelatowania jonów żelaza II (CH) obliczano z równania:

$$CH = [(A_K - A_{W1}) / A_K] \times 100\%,$$

gdzie:  $A_K$  – absorpcja próby kontrolnej,  $A_{W1}$  – absorpcja próby właściwej

Wszystkie oznaczenia wykonywano w co najmniej trzech powtórzeniach. Wartości średnich i odchyłeń standardowych obliczano korzystając z programu Microsoft Office Excel 2003. Analizę statystyczną doświadczenia dwuczynnikowego oraz współczynniki korelacji wyliczano za pomocą programu Statgraphics Plus 4.1.

## Wyniki i dyskusja

W preparacie z bobu odmiany Windsor Biały stwierdzono więcej polifenoli ogółem (71,2 mg/100 mg s.m.) niż w preparacie z okrywy nasion bobu 'Bartom' (60,3 mg/100 mg s.m.) (tab. 1).

W obu preparatach stwierdzono dużą zawartość tanin skondensowanych w stosunku do polifenoli ogółem (tab. 1). Większą ich zawartością (61,2 mg/100 mg s.m.) charakteryzował się preparat z nasion 'Windsor Biały'. Zawartość tanin skondensowanych w preparacie otrzymanym z okrywy bobu 'Bartom' była mniejsza i wynosiła 54,6 mg/100 mg s.m. Należy jednak zauważyć, że zawartość tanin skondensowanych



zależy w dużym stopniu od sposobu ekstrakcji (temperatury, czasu, rodzaju rozpuszczalnika) oraz od odmiany nasion [10, 11]. Zastosowany w pracy sposób ekstrakcji według Tsudy i wsp. [17] powinien zapewniać efektywną izolację związków polifenolowych z roślin strączkowych. Według Siddhuraju i Beckera [12], którzy porównywali skuteczność ekstrakcji różnych mieszanin (woda, etanol-woda, metanol-woda, metanol-kwas solny, aceton-woda), największą wydajność procesu ekstrakcji uzyskuje się za pomocą mieszaniny metanolu z 1% kwasem solnym w przypadku izolowania polifenoli z roślin strączkowych i zbóż. Podobną metodę ekstrakcji zastosowano również w pracy Duenas i wsp. [1] do ekstrakcji polifenoli z okrywy nasiennych groszku.

Tabela 1

Zawartość polifenoli ogółem, antocyjanów i tanin skondensowanych w preparatach z okrywy nasion bobu. The content of total polyphenols, anthocyanins and condensed tannins in the preparations made of the broad bean seed coat.

Preparat Preparation	Polifenole ogółem Total polyphenols [mg/100 g s.m.] [mg/100 g d.m.]	Antocyjany Anthocyanins [mg/100 g s.m.] [mg/100 g d.m.]	Taniny skondensowane Condensed tannins [mg/100 g s.m.] [mg/100 g d.m.]
Windsor Biały	71,2 ± 0,1 b*	0,9 ± 0,6 a	61,2 ± 0,3 b
Bartom	60,3 ± 0,1 a	0,7 ± 0,1 a	54,6 ± 0,2 a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / In the Table, mean values ± standard deviations are shown.

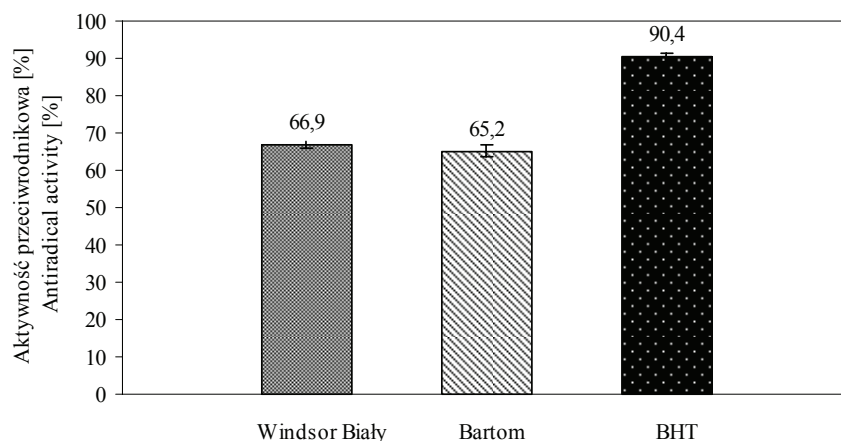
\* - wartości średnie w tej samej kolumnie oznaczone różnymi indeksami różnią się statystycznie istotnie między sobą ( $\alpha = 0,05$ ) / mean values in the same column, which are denoted by different superscripts, differ statistically significant among each other ( $\alpha = 0.05$ ).

Zawartość tanin skondensowanych oznaczana metodami chemicznymi może być często obarczona błędem, co spowodowane jest chociażby ich stopniem polimeryzacji. Z tego względu należy zachować dużą ostrożność przy porównywaniu ogólnej zawartości tanin skondensowanych oznaczanych różnymi metodami chemicznymi, podawanych przez różnych autorów [19].

Antocyjany występowały w małej ilości w preparatach z obu odmian bobu. Nieco więcej antocyjanów stwierdzono w preparacie z odmiany Windsor Biały (0,9 mg/100 mg s.m.). Tak mała zawartość tych związków wynika z niewielkiej intensywności zabarwienia okrywy nasiennej.



Najwyższą zdolność do inhibicji rodników DPPH (90%) uzyskał przeciwutleniacz syntetyczny (BHT), natomiast aktywność przeciwrodnikowa preparatów zawierała się w granicach od 65 do 70% (rys. 1). Oba preparaty charakteryzowały się wysoką aktywnością przeciwrodnikową i dezaktywowały ponad 50% rodników DPPH, przy czym większą zdolnością do inaktywacji syntetycznych rodników DPPH charakteryzował się preparat otrzymany z okryw nasiennych bobu odmiany Windsor Białą (66,9%).



Rys. 1. Aktywność przeciwrodnikowa preparatów z nasion bobu wobec stabilnych rodników DPPH.  
Fig. 1. Antiradical activity of preparations made of broad bean seeds against the stable DPPH radicals.

W pracy stwierdzono dobrą korelację pomiędzy zawartością tanin skondensowanych a zdolnością preparatów okryw nasiennych bobu do wygaszania rodników DPPH (współczynniki korelacji powyżej  $r = 0,96$ ). Można więc sądzić, że związki te mają silne działanie inhibycyjne wobec rodników DPPH. Wniosek ten znajduje potwierdzenie także w badaniach innych autorów. Rocha-Guzman i wsp. [8] również stwierdzili wysoką korelację między zawartością tanin skondensowanych a inaktywacją rodników DPPH w fasoli zwykłej. Badania Saint-Cricq de Gaulejac i wsp. [9] również dowiodły, że taniny skondensowane najskuteczniej wiążą rodniki DPPH. Cytowani autorzy prowadzili badania z okrywkami czerwonych winogron, identyfikując polifenole za pomocą rezonansu paramagnetycznego i stwierdzili, że to właśnie taniny są odpowiedzialne za efekt wygaszania stabilnych rodników DPPH w tym materiale roślinnym.

Otrzymane w niniejszej pracy preparaty dezaktywowały również rodniki hydroksylowe, jedne z najbardziej reaktywnych form tlenu. Tworzą się one zarówno w organizmie, jak i w żywności [16].

Podobnie, jak w przypadku rodników DPPH, stwierdzono, że wyższą aktywnością wobec rodników wodorotlenowych charakteryzował się preparat z okryw bobu odmiany Windsor Białą (50,4%). Aktywność drugiego preparatu była nieznacznie

niższa (49,8%). Polifenole zawarte w preparatach wykazywały aktywność przeciwutleniającą wobec rodników hydroksylowych zaraz po zapoczątkowaniu reakcji, a także po 10, 20 i 30 min jej trwania (tab. 2). W przypadku obu preparatów stwierdzono najwyższą aktywność po 30 min reakcji. Aktywność ta malała po dalszym przedłużeniu czasu reakcji. Z przedstawionych danych wynika, że w pierwszym okresie pomiarów inaktywacja rodników wodorotlenowych zachodziła w największym stopniu, natomiast w miarę upływu czasu reakcje te zachodziły coraz wolniej. Po 30 min inkubacji próbka bez dodatku preparatu osiągnęła maksymalną wartość fluorescencji.

W pracy stwierdzono nieznacznie lepszą efektywność przeciwutleniającą preparatu z okrywy nasiennej bobu 'Windsor Biały'. Można sądzić, że ma to związek z wyższą zawartością tanin skondensowanych w tym preparacie. W literaturze mało jest danych dotyczących zdolności naturalnych przeciwutleniaczy do wygaszania rodników wodorotlenowych. Saint-Cricq de Gaulejac i wsp. [9] wykazali, że w etanolowych ekstraktach z winogron zdolność do inaktywacji rodników wodorotlenowych związana jest ściśle z zawartością tanin skondensowanych. W niniejszej pracy nie stwierdzono takiej korelacji.

Tabela 2

Zdolność polifenoli zawartych w preparatach z nasion bobu do inibicji rodników wodorotlenowych.  
The ability of polyphenols contained in the preparations made of broad bean seeds to inhibit hydroxyl radicals.

Mieszanina reakcyjna Reaction mixture	Fluorescencja w jedn. umownych Fluorescence in conventional units			
	0 min	10 min	20 min	30 min
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Cu <sup>+2</sup> /DTET	398,55 ± 7,72	516,67 ± 2,82	901,87 ± 1,31	1003 ± 0,00
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Cu <sup>+2</sup> /DTET + Windsor Biały	267,54 ± 5,45	367,56 ± 7,66	489,05 ± 8,45	505,47 ± 7,42
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Cu <sup>+2</sup> /DTET + Bartom	299,15 ± 7,92	349,24 ± 4,23	491,10 ± 4,74	499,89 ± 8,67

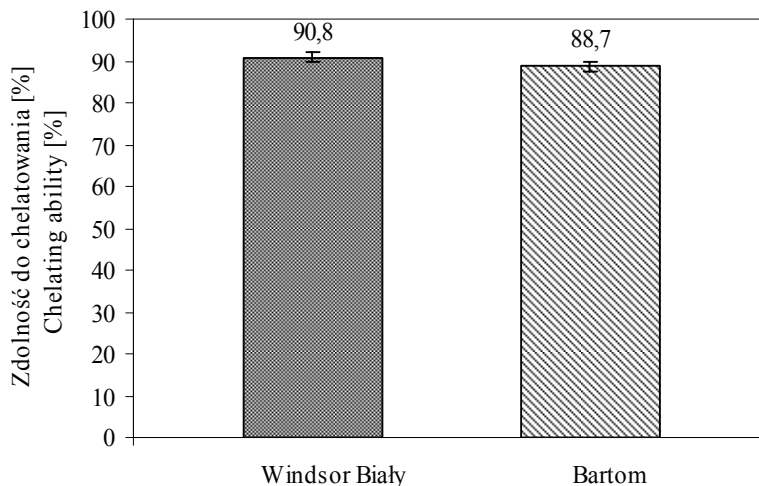
Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / In the Table, mean values ± standard deviations are shown.

Właściwości wiązania jonów metali przejściowych mają duży udział w aktywności przeciwutleniającej polifenoli, dlatego w pracy oznaczono zdolność preparatów z okryw nasion bobu do chelatowania jonów żelaza (II) (rys. 2).

Preparat z okrywy nasion bobu odmiany Windsor Biały wykazywał nieco większą zdolność do chelatowania jonów żelaza (ok. 91%). W preparacie tym stwierdzono również większą zawartość tanin skondensowanych. Z przeprowadzonej analizy regresji wynika, że współczynnik korelacji pomiędzy zawartością tanin skondensowanych a aktywnością preparatów do chelatowania jonów żelaza wynosi  $r = 0,86$ . Korelacja

okazała się statystycznie istotna ( $\alpha = 0,05$ ). Podobną korelację uzyskał Siddhuraju [11], oznaczając zdolność do chelatowania jonów żelaza przez ekstrakty uzyskane z nasion fasoli (*Phaseolus aconitifolius*).



Rys. 2. Zdolność do chelatowania jonów żelaza(II) przez polifenole zawarte w preparatach z nasion bobu.

Fig. 2. The ability of polyphenols contained in the preparations made of broad bean seeds to chelate the Fe(II) ions.

### Wnioski

1. Preparaty polifenoli otrzymane z okrywy nasion bobu 'Windsor Biały' i 'Bartom' wykazywały właściwości przeciwutleniające w badanych układach modelowych.
2. Preparaty otrzymane z okrywy nasion bobu 'Windsor Biały' wykazywały lepszą zdolność do dezaktywacji rodników niż preparat z okrywy nasion odmiany Bartom. Było to prawdopodobnie związane z większą zawartością w nim polifenoli ogółem i tanin skondensowanych.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Duenas M., Estrella I., Hernandez T.: Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). *Eur Food Res Technol.*, 2004, **219**, 116-123.
- [2] Hunt J.V., Simpson J.A., Dean R.T.: Hydroperoxide-mediated fragmentation of proteins. *Biochem. J.*, 1988, **250**, 87-93.
- [3] Karakaya S.: Bioavailability of phenolic compounds. *Food Sci.*, 2004, **44**, 453-464.

- [4] Luthria D.L., Pastor-Corrales M. A.: Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. J Food Comp. Anal., 2006, **19**, 205-211.
- [5] Price M.L., Van Scoyoc S., Butler L.G.: A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. J. Agric. Food Chem., 1978, **26**, 1214-1218.
- [6] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS<sup>•+</sup> radical cation decolorization assay. Free Rad. Biol. Med, 1999, **26**, 1231-1237.
- [7] Rice-Evans C.A., Miller N.J., Panganga G.: Trends in plant sciences. Reviews., 1997, **2**, 152-159.
- [8] Rocha\_Guzman N.E., Gonzalez-Laredo R.F., Ibarra-Perez F.J., Berumen C.A., Gallegos-Infante J-A.: Effect of pressure cooking on the antioxidant activity of extracts from three common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. Food Chem., 2007, **100**, 31-35.
- [9] Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N.: Comparative Study of Polyphenol Scavenging Activities Assessed by Different Methods. J. Agric. Food Chem., 1999, **47**, 425-431.
- [10] Shahidi F., Naczki M.: Effect of processing on the content of condensed tannins in rapeseed meals. J. Food Sci., 1989, **4**, 1082-1083.
- [11] Siddhuraju P.: The antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of phenolics of raw and dry heated moth bean (*Vigna aconitifolia*) Marechal seed extracts. Food Chem., 2006, **99**, 149-157.
- [12] Siddhuraju P., Becker K.: Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera*) leaves. J. Agric. Food Chem., 2003, **51**, 2144-2155.
- [13] Slinkard K., Singleton V.L.: Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol. Vitic., 1977, **28**, 49-55.
- [14] Song T.T., Hendrich S., Murphy P.A.: Estrogenic activity of glycitein, a soy isoflavone. J. Agric. Food Chem., 1999, **47**, 1607-1610.
- [15] Swain T., Hillis W.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. J. Sci. Food Agric., 1959, **1**, 63-68.
- [16] Thomas M.J.: The role of free radicals and antioxidant. Nutr., 2000, **16**, 716-718.
- [17] Tsuda T., Ohshima K., Kawakishi S., Osawa T.: Antyoxydative pigments isolated from the seeds of *Phaseolus vulgaris* L. J. Agric. Food Chem., 1994, **42**, 248-251.
- [18] Wang S.Y., Lin H-S.: Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivars and developmental stage. J. Agric. Food Chem., 2000, **48**, 140-146.
- [19] Wilska-Jeszka J.: Struktura i właściwości antyoksydacyjne polifenoli. II Konf. Nauk. „Żywność a Zdrowie”, Łódź, 1999, s. 27-36.
- [20] Wilska-Jeszka J., Stasiak A.: Polyphenol compounds in grain legumes. Bioactive substances in food of plant origin – Materials of the International Euro Food Tox IV Conference, Olsztyn 1994, **1**, 126-130.


#### ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF POLYPHENOLS CONTAINED IN THE SEED COATS OF BROAD BEAN

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

The objective of this thesis was to determine the antioxidative properties of the polyphenol preparations obtained from the seed coats of broad bean ('Windsor Biały' and 'Bartom'). The preparations were prepared by extracting polyphenols using a 0.5% HCl solution in methanol, condensing them under the vacuum conditions, and lyophilizing them.

In order to provide a chemical profile of the preparations obtained, the content of total polyphenols, condensed tannins, and anthocyanins were determined. While determining the antioxidative properties of the polyphenol preparations, their capacities to deactivate stable, synthetic DPPH radicals and hydroxyl radicals were identified and estimated. Additionally, the ability of the preparations produced to chelate the ions of iron II was studied.

It was found that the preparations studied exhibited antiradical activity both against the DPPH radicals (65-70%) and the hydroxyl radicals (48-50%). The preparations investigated also chelated the ions of iron (II). The preparation extracted from Windsor Biały was characterized by a stronger antiradical activity, and this could be probably caused by the higher content of polyphenols in this preparation.

**Key words:** seeds of broad bean, polyphenols, antioxidative properties, hydroxyl radicals, DPPH radicals 

URSZULA SAMOTYJA, TOMASZ ZDZIEBŁOWSKI,  
MIROSLAWA SZLACHTA, MARIA MAŁECKA

## PRZECIWUTLENIAJĄCE WŁAŚCIWOŚCI EKSTRAKTÓW Z KIEŁKÓW ROŚLIN

### Streszczenie

Celem pracy była ocena właściwości przeciwutleniających etanolowych ekstraktów z kielków pszenicy, soczewicy, słonecznika, rzodkwi i fasoli mung. W ekstraktach oznaczono zawartość związków fenolowych metodą Folina-Ciocalteu'a oraz oceniono właściwości przeciwutleniające testem FRAP oraz z rodnikiem DPPH. Zawartość związków fenolowych w badanych ekstraktach była zróżnicowana i mieściła się w przedziale od 4,1 do 31,7 mg/g s.m. ekstraktu (w przeliczeniu na kwas kawowy). Największą zawartość związków fenolowych stwierdzono w ekstrakcie z kielków słonecznika, a następnie z rzodkwi, które jednocześnie charakteryzowały się najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi. Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie wysokiej korelacji pomiędzy zawartością związków fenolowych a właściwościami przeciwutleniającymi badanych ekstraktów.

**Słowa kluczowe:** pszenica, soczewica, słonecznik, rzodkiew, fasola mung, kielki, naturalne przeciwutleniacze, aktywność przeciwutleniająca, DPPH, FRAP

### Wprowadzenie

Wiele uwagi poświęcono przeciwutleniającym właściwościom różnych części roślin. Powszechnie dostępne preparaty roślinne są akceptowane ze względu na naturalne pochodzenie surowca, a ich możliwe korzystne oddziaływanie na zdrowie człowieka jest związane m.in. ze wspomaganie sił obronnych organizmu przeciw stresowi oksydacyjnemu. Przypuszcza się, że szkodliwe oddziaływanie wolnych rodników przyczynia się do wystąpienia zmian miażdżycowych, schorzeń układu sercowo-naczyniowego oraz wielu innych stanów chorobowych [1].

Związki wykazujące działanie przeciwutleniające występują w wielu częściach roślin – owocach, nasionach, skórkach, liściach, korzeniach [15]. Naturalnym źródłem

---

*Dr inż. U. Samotyja, mgr inż. T. Zdziebłowski, mgr inż. M. Szlachta, dr hab. M. Malecka, prof. AE, Katedra Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Towaroznawstwa, Akademia Ekonomiczna, al. Niepodległości 10, 60-967 Poznań*

przeciwutleniaczy są także kielki roślin, cenione ponadto jako źródło witamin, składników mineralnych i błonnika [3, 6]. Ze względu na dostępność oraz łatwość i niewielki koszt hodowania, kielki mogą być częścią składową codziennej diety, a obecność dodatkowych składników wykazujących korzystny wpływ na zdrowie człowieka pozwala zaliczyć je do żywności funkcjonalnej.

Asortyment nasion, które można poddać kiełkowaniu jest bardzo szeroki. Hodować można np. kielki pszenicy, owsa, prosa, jęczmienia, rzodkwi, fasoli mung, gryki, lucerny, rzeżuchy, dyni, słonecznika, groszku zielonego, soczewicy, żyta, ryżu, soi, kapusty, kukurydzy. Poszczególne ziarna charakteryzują się zróżnicowanym czasem oraz wydajnością kiełkowania, różne są też walory sensoryczne kielków. Stwierdzono, że w czasie kiełkowania wzrasta zawartość tokoferoli, kwasu askorbinowego oraz związków fenolowych, w tym wolnych kwasów fenolowych [5, 7, 16]. Aktywność przeciwutleniająca kielków zależy od warunków hodowli [8, 17]. Zróżnicowanie składu chemicznego nasion poszczególnych odmian sugeruje, że po skiełkowaniu będą one stanowiły zróżnicowane źródło związków wykazujących działanie przeciwutleniające.

Celem pracy było porównanie właściwości przeciwutleniających ekstraktów uzyskanych z kielków wybranych roślin.

### **Material i metody badań**

Przedmiotem badań były etanolowe ekstrakty kielków pszenicy, soczewicy, słonecznika, rzodkwi i fasoli mung. Zakres badań obejmował oznaczenie zawartości związków fenolowych oraz ocenę właściwości przeciwutleniających w teście z rodniakiem DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylhydrazyl) i w teście oceny siły redukującej FRAP (ang. Ferric-Reducing Antioxidant Power).

Nasiona zakupiono w sklepie z żywnością naturalną w Poznaniu. Przy wyborze nasion kierowano się ich popularnością oraz walorami smakowymi. Kielki hodowano w kiełkownicy, nawadniano dwa razy dziennie i zbierano w trzecim, czwartym albo piątym dniu, tj. w czasie osiągnięcia optymalnych właściwości konsumpcyjnych kielków. Zebrane kielki liofilizowano, rozdrabniano w młynku laboratoryjnym i poddawano 3-krotnej ekstrakcji etanolem [10].

Zawartość związków fenolowych ogółem w ekstraktach kielków oznaczano metodą Folina-Ciocalteu'a, przy użyciu odczynnika firmy Sigma-Aldrich, przy długości fali 725 nm [14]. Krzywą wzorcową wykonano z użyciem kwasu kawowego (Sigma-Aldrich).

Aktywność przeciwrodnikową ekstraktów badano według Sanchez–Moreno i wsp. [13] przy długości fali 515 nm, z modyfikacją polegającą na użyciu etanolowego roztworu DPPH (Sigma-Aldrich, 0,025 g/1000 cm<sup>3</sup> 96% etanolu). Procent niewygaszonego rodniaka DPPH obliczano na podstawie krzywej wzorcowej. Miarę aktywności przeciwrodnikowej stanowił parametr AE, wyznaczony zgodnie z równaniem:

$$AE = \frac{1}{EC_{50} \cdot T EC_{50}}$$

w którym:

AE – aktywność przeciwrodnikowa,

EC<sub>50</sub> – stężenie przeciwutleniacza potrzebne do obniżenia początkowej zawartości rodnika DPPH o połowę,

T EC<sub>50</sub> – czas potrzebny do osiągnięcia stałego stężenia rodnika DPPH przy stężeniu ekstraktu wynoszącym EC<sub>50</sub>.

Właściwości redukujące ekstraktów oceniono na podstawie testu FRAP przy długości fali 725 nm [2]. Tripyridylotriazyna (TPTZ) pochodziła z firmy Fluka. Wyniki wyrażono w przeliczeniu na aktywność Troloxu (Sigma-Aldrich).

Pomiary absorbancji dokonywano za pomocą spektrofotometru Genesys 6 (Thermo Spectronic).

Wyniki stanowią średnią arytmetyczną z trzech powtórzeń testów przeprowadzonych na dwóch równoległych próbkach.

## Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono zawartość związków fenolowych oraz aktywność przeciwutleniającą etanolowych ekstraktów kielków. Badane ekstrakty znacznie różniły się zarówno pod względem ogólnej zawartości związków fenolowych, jak również właściwości przeciwutleniających. Najbogatsze źródło przeciwutleniaczy stanowił ekstrakt z kielków słonecznika. Zawierał on największą ilość związków fenolowych spośród badanych ekstraktów, prawie dwukrotnie więcej niż ekstrakt z kielków rzodkwi i kilkakrotnie (5,5-7,7) razy więcej niż ekstrakty z kielków fasoli mung, pszenicy i soczewicy. Ekstrakt z kielków słonecznika charakteryzował się również najwyższymi właściwościami przeciwutleniającymi, ocenionymi w teście FRAP oraz z rodnikiem DPPH. Drugi pod względem właściwości przeciwutleniających był ekstrakt z kielków rzodkwi. Pozostałe ekstrakty wykazały relatywnie niską, zbliżoną do siebie aktywność w teście FRAP, zaś przeciwrodnikowo w najniższym stopniu działał ekstrakt z kielków soczewicy, który po 40 min inkubacji wygasił zaledwie 5,5% rodnika DPPH.

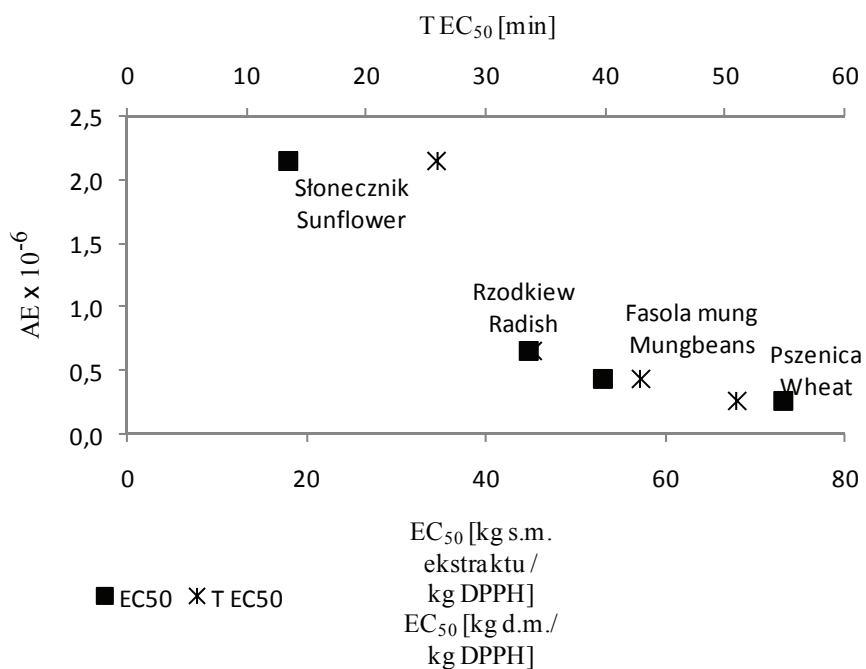
Parametr aktywności przeciwrodnikowej (AE) uwzględnia zarówno siłę (EC<sub>50</sub>), jak i szybkość działania (T EC<sub>50</sub>) przeciwutleniaczy. Ekstrakt z kielków słonecznika najsilniej i w najkrótszym czasie dezaktywował rodnik DPPH, co w ogólnej klasyfikacji AE umiejscawia go na pierwszym miejscu (rys. 1). W pozostałych badanych ekstraktach stwierdzono podobną zależność siła-szybkość działania.



Tabela 1

Zawartość związków fenolowych oraz właściwości przeciwutleniające ekstraktów kielków.  
Phenolic compounds content and antioxidant properties of sprouts extracts.

Pochodzenie ekstraktu Extract origin	Związki fenolowe ogółem [mg/g s.m.] Total phenolics [mg/g d.m.]	FRAP [ $\mu\text{mol Troloxu/g s.m.}$ ] [ $\mu\text{mol of Trolox/g d.m.}$ ]	[%] wygaszonego DPPH po 40 min inkubacji [%] of DPPH scavenged after 40 min of incubation
Słonecznik Sunflower	31,7 $\pm$ 0,6	23,8 $\pm$ 0,1	84,1 $\pm$ 0,0
Rzodkiew Radish	16,5 $\pm$ 0,5	9,0 $\pm$ 0,0	69,6 $\pm$ 0,1
Fasola mung Mungbeans	5,7 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1	18,1 $\pm$ 0,3
Pszenica Wheat	5,1 $\pm$ 0,1	1,6 $\pm$ 0,1	19,7 $\pm$ 0,2
Soczewica Lentil	4,1 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1	5,5 $\pm$ 0,1



Rys. 1. Parametry aktywności przeciwrodnikowej ekstraktów kielków.

Fig. 1. Parameters of antiradical activity of sprouts extracts.

W celu oceny aktywności przeciwutleniającej związków fenolowych zawartych w ekstraktach, parametr  $EC_{50}$  wyrażono również z uwzględnieniem ich zawartości jako ilość związków fenolowych (a nie ekstraktu) potrzebna do obniżenia początkowej zawartości DPPH o połowę (tab. 2).

Tabela 2

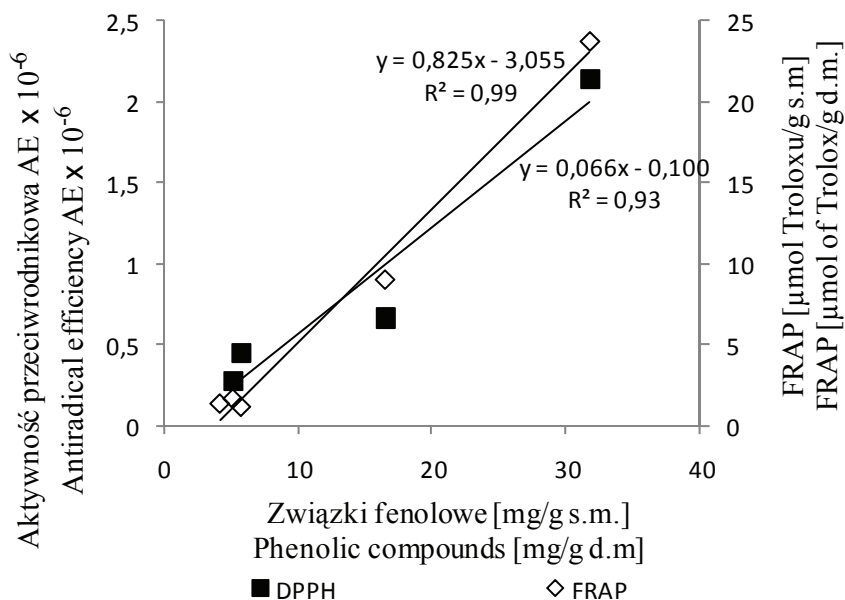
Parametry aktywności przeciwrodnikowej przeciwutleniaczy w ekstraktach kiełków.

Parameters of antiradical activity of antioxidant present in sprouts extracts.

Pochodzenie ekstraktu Extract	$EC_{50}$ [g związków fenolowych /kg DPPH] $EC_{50}$ [g phenolic compounds /kg DPPH]	$TEC_{50}$	$AE \times 10^{-3}$
Słonecznik Sunflower	569	26	0,47
Rzodkiew Raphanus	735	34	0,53
Fasola mung Mungbeans	303	43	1,73
Pszenica Wheat	374	51	1,62

W takim ujęciu, najwyższą aktywność przeciwrodnikową wykazały czynne związki ekstraktu z kiełków fasoli mung ( $1,73 \times 10^{-3}$ ) i pszenicy ( $1,62 \times 10^{-3}$ ), porównywalną z aktywnością kwasu kawowego ( $1,72 \times 10^{-3}$ ) i ferulowego ( $1,80 \times 10^{-3}$ ) [12], a aktywność przeciwutleniaczy z kiełków słonecznika i rzodkwi można porównać do aktywności tokoferolu ( $0,52 \times 10^{-3}$ ) [13] i czynnych składników ekstraktu z rozmarynu ( $0,25-0,45 \times 10^{-3}$ ) [11]. Odwrócona sekwencja ekstraktów (w porównaniu z przedstawioną na rys. 1) świadczy o wysokiej aktywności związków zawartych w pszenicy i fasoli mung.

Wyniki badań wskazują na istnienie pozytywnej korelacji między zawartością związków fenolowych a aktywnością przeciwrodnikową (AE) badanych ekstraktów (rys. 2), która może świadczyć o wpływie tych związków na właściwości przeciwutleniające kiełków roślin. Badania prowadzone przez innych autorów dowiodły znaczącego udziału związków fenolowych w całkowitej pojemności przeciwutleniającej kiełków sojowych [18] i aktywności przeciwutleniającej kozieradki [4].



Rys. 2. Zależność między zawartością związków fenolowych i właściwościami przeciwutleniającymi ekstraktów z kielków roślin.

Fig. 2. Relationship between content of phenolic compounds and antioxidant properties of extracts of germinated seeds.

### Wnioski

1. Ekstrakty kielków wykazują właściwości przeciwutleniające, które zależą od rodzaju surowca.
2. Istnieje dodatnia korelacja między właściwościami przeciwutleniającymi badanych ekstraktów a zawartością związków fenolowych.
3. Kielki badanych roślin, a zwłaszcza słonecznika i rzodkwi, mogą stanowić cenne uzupełnienie diety w substancje o działaniu przeciwutleniającym.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Aruoma O.I.: Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 1999, **8**, 53-63.
- [2] Benzie I.F., Strain J.J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measurement of "antioxidant power": The Frap assay. *Anal. Biochem.*, 1996, **239**, 70-76.
- [3] Chen L.H., Wells C.E., Fordham J.R.: Germinated seeds for human consumption. *J. Food Sci.*, 1975, **40**, 1290-1294.

- [4] Dixit P., Ghaskadbi S., Mohan H., Devasagayam T.P.: Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. *Phytother Res.*, 2005, **19**, 977-983.
- [5] Doblado R., Frias J., Vidal-Valverde C.: Changes in vitamin C content and antioxidant capacity of raw and germinated cowpea (*Vigna sinensis* var. carilla) seeds induced by high pressure treatment. *Food Chem.*, 2007, **101**, 918-923.
- [6] Hanninen O., Kaartinen K., Rauma A.-L., Nenonen M., Torronen R., Hakkinen S., Adlercreutz H., Laakso J.: Antioxidants in vegan diet and rheumatic disorders. *Toxicology*, 2000, **155**, 45-53.
- [7] Kozłowska H., Zieliński H., Buciński A., Piskula M.K.: Składniki biologicznie czynne w kielkach nasion rzepaku. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, 2003, **XXIV**, **1**, 23-32.
- [8] McCue P., Kalidas S.: Clonal herbal extracts as elicitors of phenolic synthesis in dark-germinated mungbeans for improving nutritional value with implications for food safety. *J. Food Biochem.*, 2002, **26**, 209-232.
- [10] Pacholek B., Małecka M.: Pestki z czarnej porzeczki jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, 2000, **XXI**, **2**, 675-682.
- [11] Samotyja U., Małecka M.: Effects of blackcurrant seeds extract and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrates. *Food Chemistry*, 2007, **104** (1), 317-323.
- [12] Samotyja U., Małecka M., Klimczak I.: Skład i właściwości przeciwdrobnikowe fenolokwasów słodu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **3**, 67-76.
- [13] Sanchez -Moreno C., Larrauri J. A., Saura – Calixto F.: A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, **76**, 270 – 276.
- [14] Singleton V.L., Rossi J.A. jr.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, **16**, 144-158.
- [15] Schwarz K., Bertelsen G., Nissen L.R., Gardner P.T., Heinonen M.I., Hopia A., Huynh – Ba T., Lambelet P., McPhail D., Skibsted L.H., Tijburg L.: Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *Eur. Food Res. Technol.*, **212**, 2001, 319.
- [16] Tian S., Nakamura K., Kayahara H.: Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice and germinated brown rice. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 4808-4813.
- [17] Yang F., Basu T.K., Ooraikul B.: Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2001, **52**, 319-330.
- [18] Zieliński H., Contribution of low molecular weight antioxidants to the antioxidant screen of germinated soybean seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2003, **58**, 1-20.

## ANTIOXIDANT PROPERTIES OF EXTRACTS OF GERMINATED SEEDS

### S u m m a r y

The aim of investigation was the evaluation of antioxidant activity of extracts of germinated seeds of wheat, lentil, sunflower, radish and mungbeans. Total phenolics content was measured by Folin-Ciocalteu method and the antiradical (in test with DPPH<sup>·</sup> radical) and reducing properties (in test FRAP) of extracts were investigated. The content of phenolic compounds content in extracts was various and covered from 4,1 do 31,7 mg/g of d.m. of extract (in caffeic acid equivalent). The extracts from sunflower and radish contained the highest amounts of phenolics and exhibited the highest antioxidant activity. The results show that there is high correlation between phenolic compounds and antioxidant properties of extracts.

**Key words:** wheat, lentil, sunflower, radish, mungbeans, sprouts, germinated seeds, natural antioxidants, antioxidant activity, DPPH, FRAP ☒

EWA SOSIŃSKA, MIECZYSLAW W. OBIEDZIŃSKI

## BADANIA NAD BIOAKTYWNYMI GLUKOZYNOLANAMI W WYBRANYCH ODMIANACH WARZYW KRZYŻOWYCH TECHNIKĄ HPLC

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zawartości glukozyzolanów w wybranych odmianach brokuła i kalafiora. Analizę jakościową i ilościową desulfoglukozyzolanów wykonano przy użyciu chromatografu cieczowego zaopatrzonego w detektor UV. Glukozyzolany ekstrahowano ze zliofilizowanych próbek gorącym meta-nolem, ekstrakty oczyszczano w kolumnkach z żywicą jonowymienną i przeprowadzano desulfatację. Stosowano glukotropeolinę jako standard wewnętrzny, a zawartość poszczególnych glukozyzolanów przeliczano, uwzględniając współczynniki korekcyjne. Analizy confirmacyjne glukozyzolanów przeprowadzano techniką LC-ESI/MS.

Spośród zidentyfikowanych w wybranych warzywach glukozyzolanów dominowały: glukorafanina, glukobrassylicyna oraz neoglukobrassylicyna. Poszczególne odmiany brokułów (Cezar, Tiburon, Milady oraz Chevalier) i kalafiorów, pochodzące z pól uprawnych Wydziału Ogrodniczego SGGW, zbieranych między lipcem a październikiem 2006 r. różniły się między sobą zarówno pod względem profilu, jak i ilości glukozyzolanów. Stwierdzono różnice zawartości i składu glukozyzolanów w odmianie wysianej i zbieranej w różnym okresie czasu, a także pomiędzy poszczególnymi częściami morfologicznymi tej samej rośliny np. szczytu róży oraz łodygi.

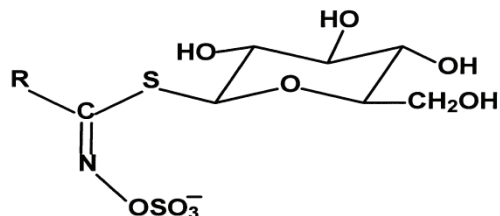
**Słowa kluczowe:** brokuł, kalafior, glukozyzolany, HPLC, identyfikacja

### Wprowadzenie

Glukozyzolany to roślinne siarkowe glikozydy, zawierające cząsteczkę glukozy (wiązaną  $\beta$ -D-tioglukozydowo), siarkę oraz łańcuch boczny, pochodną aminokwasową (rys. 1) [2, 6]. Glukozyzolany można podzielić na trzy podstawowe grupy, w których łańcuch boczny pochodzi od następujących aminokwasów: alifatyczne – metionina, alanina, walina, leucyna i izoleucyna; aromatyczne – tyrozyna i fenyloalanina oraz indolowe – tryptofan.

---

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



Rys. 1. Ogólna struktura glukozynolanów (R – boczny łańcuch, pochodna aminokwasu).

Fig. 1. Basic structure of glucosinolates (R – side chain, aminoacid's derivative).

Spośród roślin zawierających glukozynolany największe znaczenie w żywieniu mają: kapusta biała, czerwona, włoska, pekińska, brukselska, rzepak, rzepik oraz kalafior, brokuł, rzodkiew, rzodkiewka, kalarepa, jarmuż, rzeżucha, rukola, rukiew, gorczyca i chrzan, należące do rodziny *Brassicaceae* [2, 6].

Uważa się, że występowanie glukozynolanów w żywności nadaje jej funkcjonalny, prozdrowotny charakter, a warzywa kapustne uzyskały status żywności wspomagającej walkę z nowotworami. Wynika to z faktu, że glukozynolany ulegając degradacji enzymatycznej (przy udziale myrozynazy), termicznej lub przy udziale mikroflory jelitowej są prekursorami szerokiej gamy związków, które mogą wykazywać wielokierunkowe przeciwnowotworowe oddziaływanie. Profil glukozynolanów, a także ich zawartość jest różna w poszczególnych roślinach i ich odmianach. Ponadto na zawartość glukozynolanów mają wpływ warunki uprawy m.in. dostępność składników odżywczych, klimat czy termin zbioru [6].

Glukozynolany stanowią czynnik obronny roślin przed trawożnymi zwierzętami, patogenami i insektami, stąd nazywane są naturalnymi pestycydami [4, 5]. Niektóre z produktów ich hydrolizy wykazują działanie przeciwwirusowe, przeciwgrzybiczne oraz przeciwbakteryjne w odniesieniu do wielu ludzkich patogenów np. przeciwko *Helicobacter pylori*, zwiększającej ryzyko wystąpienia nowotworów żołądka [2, 8, 9].

Dieta odgrywa ogromną rolę w profilaktyce nowotworowej. Modyfikacja diety człowieka, prowadząca do dostarczenia związków biologicznie czynnych indukujących odpowiedni poziom ochrony, staje się najbardziej obiecującą strategią w tej profilaktyce. Stąd uwzględnianie w diecie roślin zawierających glukozynolany jest wskazane.

Celem pracy było określenie zawartości glukozynolanów w wybranych odmianach brokuła i kalafiora.

### Material i metody badań

Materiał do badań stanowiły warzywa pochodzące z upraw Wydziału Ogrodniczego SGGW w Warszawie; zebrane w okresie lipiec - październik 2006 r. w stadium dojrzałości konsumpcyjnej. Wybrano następujące odmiany brokuła: Cezar – zbiór lipiec oraz październik, Tiburon i Chevalier – zbiór sierpień, Milady – zbiór wrzesień.

Analizowane też odmiany kalafiora: zielony Amfora – zbiór sierpień i październik, pomarańczowy – zbiór październik. Cyfrą rzymską, podawaną za nazwą odmiany, oznaczono miesiąc zbioru. Oznaczenia wykonywano w trzech powtórzeniach, wyniki podano jako wartości uśrednione.

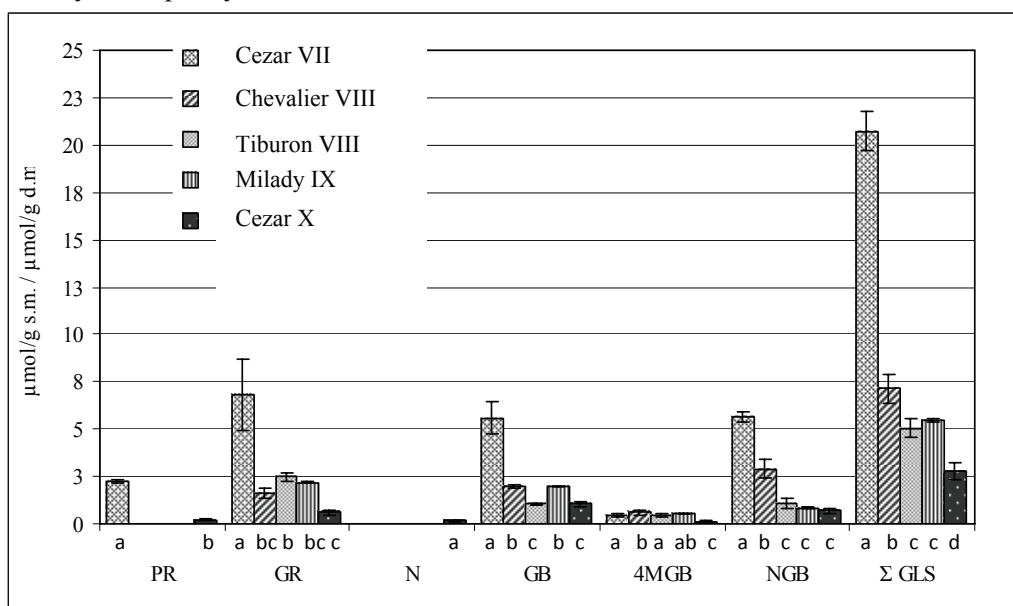
Podczas oznaczeń kierowano się zaleceniami zawartymi w PN-EN ISO 9167-1 [7]. Materiał do badań zamrażano, następnie liofilizowano i rozdrabniano. Glukozynolany ekstrahowano ze zliofilizowanych próbek gorącym 70% metanolem (75°C) po uprzednim dodatku standardu wewnętrznego – glukotropeoliny. Ekstrakty oczyszczano w kolumnkach z żywicą jonowymienną (Sephadex DEAE A25), przeprowadzano desulfatację, a desulfoglukozynolany wymywano wodą. Oznaczenie wykonywano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), stosując chromatograf cieczowy firmy Shimadzu z detektorem UV, współpracujący z programem obróbki danych LCMS Solution. Rozdział prowadzono w układzie faz odwróconych, kolumna Hypersil 5 µm C18 (10 mm x 4,6 mm) w temp. 30°C. Zastosowano elucję gradientową: woda (rozpuszczalnik A) oraz acetonitryl:woda (20:80) (rozpuszczalnik B) przy przepływie 0,5 ml/min. Program gradientowy: warunki początkowe 100% A do 1,5 min, zmniejszanie jego udziału do 60% do 8 min, a następnie do 40% do 10 min, natomiast w 18 min osiągnęto 100% B, utrzymując ten stan do 25 min, po czym stabilizowano układ w warunkach początkowych. Spektrofotometryczne oznaczenie desulfoglukozynolanów prowadzono przy długości fali  $\lambda = 229$  nm. Identyfikację desulfoglukozynolanów prowadzono na podstawie porównania czasu ich retencji z wzorcami, a zawartość obliczano, wykorzystując standard wewnętrzny oraz uwzględniając przeliczniki korekcyjne. W obliczeniach uwzględniano jedynie te glukozynolany, których powierzchnia pod pikiem przekraczała 1% sumarycznej powierzchni wszystkich pików w badanej próbce. Dodatkowo prowadzono analizy confirmacyjne glukozynolanów za pomocą techniki LC-ESI/MS z zachowaniem warunków chromatografowania jak opisano wyżej, stosując dodatek octanu amonu (0,1%, v/v) do fazy ruchomej. Analizę statystyczną wyników wykonano za pomocą programu Statgraphics 4.1., testem LSD, przy poziomie istotności  $p < 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

W badanych odmianach brokuła i kalafiora zidentyfikowano następujące glukozynolany alifatyczne: glucoiberyna (GI), progoitryna (PR), sinigryna (S), glukorafanina (GR), napoleiferyna (N), glukobrassicapina (GBN) oraz indolowe: 4-hydroksyglukobrassicyna (4HGB), glukobrassicyna (GB), 4-metoksyglukobrassicyna (4MGB) i neoglukobrassicyna (NB).

Spośród poszczególnych odmian brokuła największą, sumaryczną zawartością glukozynolanów charakteryzował się Cezar (20,7 µmol/g s.m.), zbierany pod koniec lipca, natomiast najmniejszą Cezar X (2,8 µmol/g s.m.), przy obserwowanym zróżnicowaniu glukozynolanów w brokułach (rys. 2). W przypadku pozostałych odmian bro-

kuła, które uzyskały dojrzałość konsumpcyjną w sierpniu i wrześniu, zawartość sumaryczna glukozynolanów kształtowała się na poziomie ok. 5-7  $\mu\text{mol/g s.m.}$  Powyższe obserwacje są zgodne z innymi badaniami wykazującymi, że odmiana czy warunki uprawy mogą mieć wpływ na zawartość składników biologicznie aktywnych, w tym również glukozynolanów [1, 3, 4]. Jak wykazano (na przykładzie odmian brokułów Cezar VII i Cezar X), większy wpływ na zawartość tych glukozydów miały warunki klimatyczne uprawy niż odmiana.



Objaśnienia: PR – progoitryna, GR – glukorafanina, N – napoleiferyna, GB – glukobrassycyna, 4MGB - 4-metoksyglukobrassycyna, NGB – neoglukobrassycyna,  $\Sigma$ GLS – sumaryczna zawartość glukozynolanów. a, b, c, d – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w obrębie danego glukozynolanu nie różnią się statystycznie istotnie. Cyfry rzymskie po nazwie odmiany oznaczają miesiąc zbioru w 2006 r.

Explanatory notes: PR – progoitrin, GR – glucoraphanin, N – napoleiferin, GB – glucobrassicin, 4MGB - 4-methoxyglucobrassicin, NGB – neoglucobrassicin,  $\Sigma$ GLS – total glucosinolates content. a, b, c, d – mean values marked with the same letter for particular glucosinolate indicate lack of statistical significant differences. Roman numeral after name of variety means the month of harvest in 2006.

Rys. 2. Zawartość glukozynolanów: poszczególnych i ogółem w badanych odmianach brokuła.

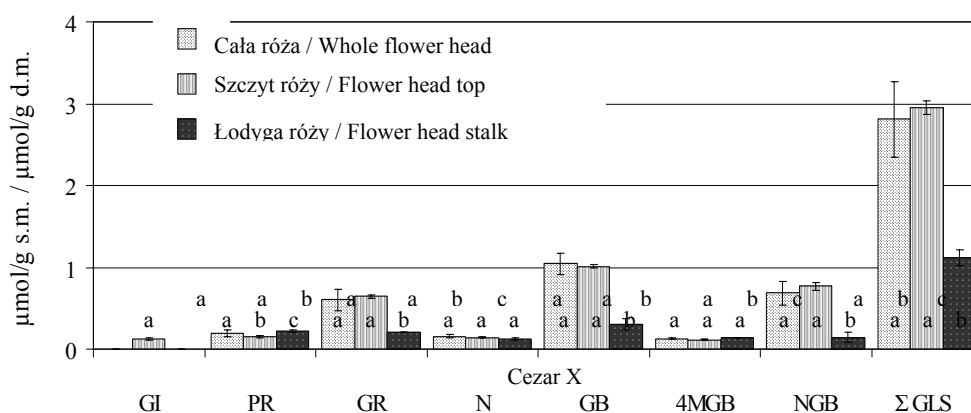
Fig. 2. Individual and total glucosinolates content in tested broccoli varieties.

Najbardziej pożądanymi glukozynolanami w warzywach kapustnych są glukorafanina oraz glukobrassycyna, prekursorzy odpowiednio sulforafanu oraz indolo-3-karbinolu. Tym produktom rozpadu przypisywana jest największa aktywność w zmniejszaniu ryzyka wystąpienia nowotworów [8]. Wśród badanych brokułów po-



nad połowę glukozynolanów stanowiły właśnie glukorafanina i glukobrassycyna, od 51% w odmianie Chevalier VIII do ponad 75% w przypadku Milady IX.

Wykazano wyższą sumaryczną zawartość glukozynolanów w szczycie róży niż w jej łodydze w odmianach brokuła Chevalier VIII oraz Cezar X, stąd nasuwa się wniosek, że poszczególne odmienne morfologicznie części rośliny produkują i/lub kumulują glukozynolany w różny sposób (rys. 3). Statystycznie istotne różnice między zawartością poszczególnych glukozynolanów stwierdzono we wszystkich przypadkach między szczytem róży a łodygą (oprócz napoleiferyny oraz 4-metoksyglukograssycyny w brokule odmiany Cezar X).



Objaśnienia: jak pod rys. 2 oraz GI – glucoiberyna.  
Explanatory notes: as in Fig. 2 and GI – glucoiberin.

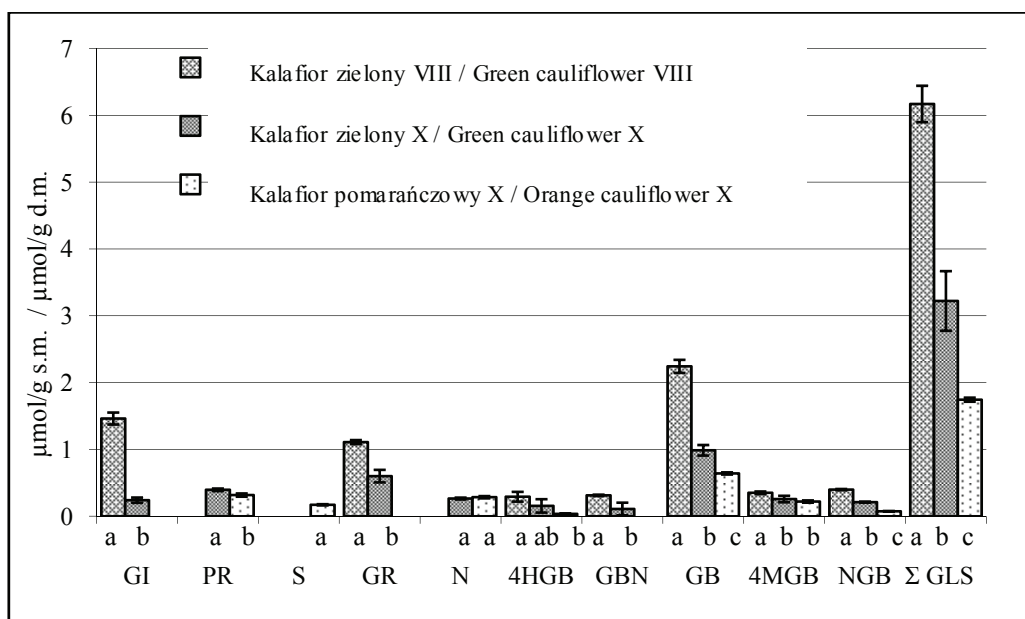
Rys. 3. Zawartość glukozynolanów, poszczególnych i ogółem, w różnych morfologicznie częściach dwóch odmian brokuła.

Fig. 3. Individual and total glucosinolates content in different morphological part in two broccoli varieties

Profil glukozynolanów badanych odmian kalafiora był bogatszy niż odmian brokuła (rys. 2 i 4). Wśród badanych odmian najbardziej zróżnicowany pod względem profilu glukozynolanów był kalafior zielony, który osiągnął dojrzałość w październiku, natomiast najmniej – pomarańczowy X, który charakteryzował się również najmniejszą ich zawartością (1,7 μmol/g s.m.) (rys. 4). Największą sumaryczną zawartość glukozynolanów oznaczono w kalafiorze zielonym VIII (6,2 μmol/g s.m.). Glukobrassycyna we wszystkich badanych odmianach stanowiła ponad 30% sumarycznej zawartości glukozynolanów.

Porównując zawartość sumaryczną glukozynolanów we wszystkich badanych warzywach można wnioskować, że zarówno odmiana, warunki uprawy, jak i część morfologiczna rośliny determinują nie tylko zawartość glukozynolanów, ale także ich profil.

Ponadto w przypadku brokuła ‘Cezar’ oraz zielonego kalafiora zaobserwowano, że warzywa wysiane na wiosnę i zbierane w lecie charakteryzowały się wyższą zawartością glukozynolanów, od tych wysianych latem, osiągających dojrzałość jesienią (rys. 2 i 4). Niezbędne jest przeprowadzenie dalszych badań dotyczących nie tylko zmienności zawartości glukozynolanów, ale także ich wzajemnych relacji z innymi składnikami warzyw.



Objaśnienia: jak pod rys. 2 i 3 oraz S – sinigrina, 4HGB – 4-hydroksyglukobrassicyna, GBN – glukobras-sicanapina.

Explanatory notes: as in fig. 2 and 3, and S – sinigrin, 4HGB – 4-hydroxyglucobrassicin, GBN – glucobrassicinapina.

Rys. 4. Zawartość glukozynolanów, poszczególnych i ogółem, w odmianach kalafiora.

Fig. 4. Individual and total glucosinolates content in cauliflower varieties.

## Wnioski

1. Spośród zidentyfikowanych glukozynolanów, w brokułach i kalafiorach domino-wały: glukorafanina, glukobrassicyna oraz neoglukobrassicyna.
2. Poszczególne odmiany brokułów czy kalafiorów zbieranych między lipcem a październikiem 2006 r. różniły się między sobą zarówno pod względem profilu, jak i zawartości glukozynolanów. Największą zawartością glukozynolanów charakteryzował się brokuł odmiany Cezar zebrany w lipcu.

3. W przypadku brokuła 'Cezar' oraz zielonego kalafiora stwierdzono, że warzywa wysiane na wiosnę i zbierane w lecie charakteryzowały się większą zawartością glukozynolanów niż wysiane latem, a osiągające dojrzałość jesienią.
4. Zaobserwowano większą zawartość glukozynolanów w szczycie róży niż w jej łodydze w odmianach brokuła: Chevalier, który dojrzałość konsumpcyjną osiągnął w sierpniu, oraz Cezar, którego zbiór przypadł na październik.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura


- [1] Van Doorn J.E., van der Kruk G.C., van Holst G.J., Schoofs M., Broer J.B., de Nijs J.J.M.: Quantitative inheritance of progoitrin and sinigrin content in Brussels sprouts. *Euphytica*, 1999, **108**, 41-52.
- [2] Fahey J.W., Zalcmann A.T., Talalay P.: The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 2001, **56**, 5-51.
- [3] Heaney R.K., Fenwick G.R.: Glucosinolates in Brassica vegetables: analysis of 22 varieties of Brussels sprouts. *J. Sci. F. Agri.*, 1980, **31**, 785-793.
- [4] McNaughton S.A., Marks G.C.: Development of a food composition database for the estimation of dietary intakes of glucosinolates, the biologically active constituents of cruciferous vegetables. *Br. J. Nutr.*, 2003, **90**, 687-697.
- [5] Mikkelsen M.D., Petersen B.L., Olsen C.E., Halkier B.A.: Biosynthesis and metabolic engineering of glucosinolates. Review Article. *Amino Acids*, 2002, **22**, 279-295.
- [6] Mithen R.F., Dekker M., Verkerk R., Rabot S., Johnson I.T.: The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. *J. Sci. F. Agric.*, 2000, **80**, 967-984.
- [7] PN-EN ISO 9167-1. Nasiona rzepaku. Oznaczanie zawartości glukozynolanów. Metoda z zastosowaniem wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej.
- [8] Vaughn S.F., Berhow M.A.: Glucosinolate hydrolysis products from various plant sources: pH effects, isolation, and purification. *Industrial Crops and Products*, 2005, **21** (2), 193-202.
- [9] Verhoeven D.T.H., Verhagen H., Goldbohm R.A., van den Brandt P.A., van Poppel G.: A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by Brassica vegetables. *Chemico-Biological Interactions*, 1997, **103**, 79-129.

### INVESTIGATION ON BIOACTIVE GLUCOSINOLATES IN CHOSEN CRUCIFEROUS VEGETABLES VARIETIES BY HPLC

#### S u m m a r y

The aim of this paper was the determination of glucosinolates in chosen broccoli and cauliflower varieties. Qualitative and quantitative analysis has been carried using liquid chromatograph with UV detector. Glucosinolates were extracted from lyophilized samples with hot methanol, extracts were purified on ion exchange columns and desulfation was carried. Glucotropaeolin was used as an internal standard, and content of individual glucosinolate has been calculated taking into consideration relative response factor. Confirmation of glucosinolates were conducted using LC-ESI/MS.

Among identified glucosinolates in chosen vegetables most abundant were: glucoraphanin, glucobrassicin and neoglucobrassicin. Each broccoli varieties (Cezar, Tiburon, Milady and Chevalier) as cauliflower varieties, cultivated on Horticultural Faculty of Warsaw Agricultural University fields, harvested between July and October 2006, were different both profile as content of glucosinolates. The differences were in glucosinolates' content and composition for the same variety sew and harvested in varied time period, moreover differences between particular morphological parts of the same plant as flower head top or stalk.

**Key words:** broccoli, cauliflower, glucosinolates, HPLC, identification 

EWA JABŁOŃSKA-RYŚ

## PORÓWNANIE ZAWARTOŚCI POLIACETYLENÓW W 18 ODMIANACH SELERA KORZENIOWEGO

### Streszczenie

Głównymi przedstawicielami poliacetylenów w rodzinie *Apiaceae* są falkarinol i falkarindiol. Związki te zostały umieszczone przez National Cancer Institute w Stanach Zjednoczonych na liście naturalnych związków o działaniu przeciwnowotworowym. Poliacetyleny w największej ilości występują w korzeniach roślin. Seler, jako warzywo korzeniowe, jest mniej znany w Europie i na świecie. W wielu krajach cenione są jedynie jego odmiany liściowe, stąd doniesienia o poliacetylenach występujących w selerze nie są liczne.

Celem podjętych badań było określenie zawartości poliacetylenów w dostępnych na rynku krajowym odmianach selera korzeniowego (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum*). Materiałem do badań było 18 odmian selera korzeniowego: Jabłkowy, Odrzański, Makar, Brilliant, Diamant, Gol, Luna, Mentor, Monarch, Cascade, Feniks, Edward, President, Prinz, Snehvide, Cisko, Dukat oraz Talar.

Do analizy zawartości poliacetylenów w badanym materiale roślinnym zastosowano metodę chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią masową (GC/MS).

Wśród poliacetylenów zidentyfikowano dwa związki – falkarinol i falkarindiol. Największą zawartość falkarinolu wykryto w zgrubieniach korzeniowych selera odmian Makar i Jabłkowy, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 25,34 oraz 22,37 mg·100 g<sup>-1</sup>. Największą zawartość falkarindiolu zidentyfikowano w zgrubieniach korzeniowych selera odmian Odrzański oraz Luna, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 10,13 oraz 12,55 mg·100 g<sup>-1</sup>.

**Słowa kluczowe:** poliacetyleny, falkarinol, falkarindiol, seler korzeniowy, GC/MS

### Wprowadzenie

Falkarinol i falkarindiol to związki należące do poliacetylenów, naturalnie występujące w roślinach z rodzaju *Apiaceae*, w tym także w selerze korzeniowym. Przeprowadzone liczne badania naukowe wykazują korzystny wpływ tych związków na organizm człowieka [3, 4, 8, 9]. Ze względu na właściwości cytotoksyczne w stosunku do komórek rakowych zostały one wpisane przez National Cancer Institute w Stanach

Zjednoczonych na listę naturalnych związków o działaniu przeciwnowotworowym [1]. Prowadzone od lat 80. XX w. badania nad zastosowaniem falkarinolu i falkarindiolu w leczeniu raka wykazały ich wysoką skuteczność w przypadku raka nerki [17], gruczolakoraka żołądka [14] oraz raka okrężnicy [11]. Falkarinol poprzez wpływ na katabolizm prostaglandyn wykazuje właściwości przeciwzapalne i przeciwzkrzepowe [18]. Ponadto ma działanie antybakteryjne, szczególnie w stosunku do *Staphylococcus aureus*, *Bacillus lentus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* [12] oraz przeciwgrzybiczne [7]. Naturalnym źródłem pozyskiwania poliacetylenów jest żeń-szeń i rośliny z rodzaju dzięgiel. Doniesienia i prace badawcze na temat tych związków dotyczą głównie tych właśnie roślin [10, 14, 16, 18, 21]. Żeń-szeń zawiera przeciętnie w 100 g suszonego sproszkowanego surowca 25 mg falkarinolu oraz 29,7 mg falkarindiolu [14]. Korzenie rośliny *Angelica japonica* (dzięgiel japoński) zawierają 1,04 mg falkarinolu oraz 53,45 mg falkarindiolu w 100 g s.s. [6]. Seler, jako warzywo korzeniowe, jest mniej znany w Europie i na świecie. W wielu krajach cenione są jedynie jego odmiany liściowe, stąd doniesienia o poliacetylenach występujących w selerze nie są liczne.

Celem podjętych badań było określenie zawartości poliacetylenów w dostępnych na rynku krajowym odmianach selera korzeniowego (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum*).

### **Material i metody badań**

Materiałem do badań były zgrubienia korzeniowe 18 odmian selera korzeniowego: Jabłkowy, Odrzański, Makar, Brilliant, Diamant, Gol, Luna, Mentor, Monarch, Cascade, Feniks, Edward, President, Prinz, Snehvide, Cisko, Dukat oraz Talar. Doświadczenie założono w Stacji Hodowli i Nasiennictwa Ogrodniczego PlantiCo Zielonki. Selery wysadzone były na poletkach doświadczalnych, po 300 roślin w rozstawie 40 x 40 cm.

Do analiz pobierano losowo po 30 roślin z każdej odmiany. Analizy w świeżym surowcu prowadzono bezpośrednio po zbiorze. W tym celu zdrowe korzenie selera myto, obierano i krojono w kostki o wymiarach 1x1x1 cm, liofilizowano, a następnie rozdrabniano w młynku laboratoryjnym WZ-1 przez 1 min.

Suchą substancję oznaczano metodą wagową [15], natomiast przygotowanie próbek do oznaczania poliacetylenów przeprowadzono metodą podaną przez van Wassenhove'a i wsp. [19]. Naważki 2 g liofilizowanych próbek poddawano dwukrotnej ekstrakcji chlorkiem metylenu. Połączone ekstrakty sączono przez watę szklaną silanizowaną i dwukrotnie płukano nasyconym roztworem NaCl w ilości 30 ml. Oczyszczone ekstrakty zagęszczano w wyparce próżniowej, dodawano 10 µl 8% roztworu salicylanu metylu w metanolu (wzorzec wewnętrzny) i uzupełniano dichlorometanem do objętości 4 ml.

Analizę przeprowadzono w Zakładzie Fizyki Chemicznej i Fizykochemicznych Metod Rozdzielania Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, stosując metodę GC/MS (chromatografia gazowa połączona ze spektrometrią mas) do analizy ekstraktów.

Zastosowano układ ITS-40 firmy Finnigan MAT, USA (chromatograf gazowy Varian 3400 sprzężony ze spektrometrem masowym), kolumna kapilarna z fazą DB-5 firmy J&W Scientific, 30 m x 0,25 mm, grubość filmu 0,25  $\mu\text{m}$ ; dozownik typu Split-Splitless, pracujący w systemie Splitless; gaz nośny hel, szybkość przepływu 1,5 ml/min; temp. dozownika 300°C, temp. linii łączącej chromatograf ze spektrometrem 300°C, temp. pracy MS: 220°C; jonizacja elektronowa (70 eV); zakres analizowanych mas 35-550 amu; częstotliwość skanowania 1 s.

Do identyfikacji substancji w analizowanych ekstraktach stosowano porównanie widm związków badanych z widmami z literatury [5].

Badania przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Analizę statystyczną wyników opracowano metodą jednoczynnikowej analizy wariancji oraz wielokrotnych testów Tukey'a.

## Wyniki i dyskusja

Wyniki przeprowadzonych analiz przedstawiono w tab. 1. Zawartość poliacetylenów podano w przeliczeniu na suchą substancję.

Największą zawartość falkarinolu wykryto w zgrubieniach korzeniowych selera odmian Makar i Jabłkowy, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 25,34 oraz 22,37 mg $\cdot$ 100 g<sup>-1</sup>. Największą zawartość falkarindiolu miały odmiany Odrzański oraz Luna, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 10,13 oraz 12,55 mg $\cdot$ 100 g<sup>-1</sup>.

O zawartości poliacetylenów w selerze wspominają nieliczni autorzy. Bohlmann i wsp. [2] wymieniają jako przedstawicieli tej grupy związków występujących w selerze korzeniowym: falkarindiol, falkarinol oraz falkarinolon. Machado i wsp. [13] podają, że falkarinol występujący m.in. w selerze, jest związkiem mogącym wywoływać alergie kontaktowe. Autorzy nie podają jednak zawartości tych związków.

Zidorn i wsp. [22] zajmowali się analizą HPLC metanolowych ekstraktów roślin z rodziny *Apiaceae* występujących w Nowej Zelandii. Między innymi badali gatunek selera *Apium prostratum* subsp. *prostr.* var. *filiforme*. Gatunek ten zawierał 92 mg falkarinolu w 100 g s.s. oraz 57 mg falkarindiolu w 100 g s.s.

Znane są prace na temat zawartości poliacetylenów w marchwi. W przeciwieństwie do selera korzeniowego, marchew jest warzywem dogłębniej badanym pod względem składu chemicznego. Pierwsze doniesienia o zawartości poliacetylenów w marchwi pochodzą jeszcze z lat 70. XX w. Wulf i wsp. [20] przy użyciu HPLC badali cztery odmiany marchwi pod względem zawartości falkarinolu i myrystycyny. Analizy wykazały, że w badanych odmianach falkarinol występował na poziomie od

3,2 do 4,7 mg·100 g<sup>-1</sup> świeżego surowca. Badania przeprowadzone w 2003 r. przez Czepa [5], przy użyciu GC/MS, potwierdzają występowanie falkarinolu i falkarindiolu w marchwi w ilościach odpowiednio 1,52 oraz 3,69 mg·100 g<sup>-1</sup> świeżego surowca.

Tabela 1

Zawartość suchej substancji oraz poliacetylenów w 18 odmianach selera korzeniowego.

The dry matter and polyacetylenes content in 18 cultivars of celeriac.

Odmiana selera Celeriac varietety	Sucha substancja (s.s.) Dry matter (d.m.)		Poliacetyleny / Polyacetylenes			
			Falkarinol / Falcarinol		Falkarindiol / Falcarindiol	
	[%]	SD	[mg·100g <sup>-1</sup> s.s.] [mg·100g <sup>-1</sup> d.m.]	SD	[mg·100g <sup>-1</sup> s.s.] [mg·100g <sup>-1</sup> d.m.]	SD
Jabłkowy	14,32 <sup>a,b,c</sup>	0,26	22,37 <sup>a,b</sup>	3,01	6,34 <sup>b</sup>	2,35
Odrzański	14,96 <sup>a</sup>	0,17	17,48 <sup>a,b,c,d,e</sup>	2,96	10,13 <sup>a</sup>	2,48
Makar	13,37 <sup>d</sup>	0,28	25,34 <sup>a</sup>	4,03	0,87 <sup>d,e,f</sup>	0,28
Brilliant	10,40 <sup>g,h</sup>	0,18	4,63 <sup>g,h,i</sup>	1,70	0,30 <sup>f</sup>	0,18
Diamant	9,24 <sup>i</sup>	0,19	5,08 <sup>g,h,i</sup>	2,19	0,54 <sup>e,f</sup>	0,46
Gol	14,46 <sup>a,b</sup>	0,33	12,52 <sup>c,d,e,f,g,h</sup>	3,44	5,84 <sup>b</sup>	1,47
Luna	11,19 <sup>f,g</sup>	0,34	17,92 <sup>a,b,c,d</sup>	4,02	12,55 <sup>a</sup>	0,98
Mentor	12,40 <sup>e</sup>	0,47	6,65 <sup>g,h,i</sup>	1,54	1,38 <sup>c,d,e,f</sup>	0,73
Monarch	11,01 <sup>f,g</sup>	0,25	2,60 <sup>i</sup>	1,42	0,40 <sup>f</sup>	0,23
Cascade	11,17 <sup>f,g</sup>	0,30	10,16 <sup>d,e,f,g,h,i</sup>	3,48	1,25 <sup>c,d,e,f</sup>	0,53
Feniks	11,68 <sup>e,f</sup>	0,16	17,09 <sup>a,b,c,d,e</sup>	3,09	2,22 <sup>c,d,e,f</sup>	0,43
Edward	13,48 <sup>c,d</sup>	0,16	2,15 <sup>i</sup>	1,27	0,00 <sup>f</sup>	0,00
President	11,21 <sup>f,g</sup>	0,59	6,95 <sup>f,g,h,i</sup>	1,01	0,84 <sup>d,e,f</sup>	0,48
Prinz	10,47 <sup>g,h</sup>	0,31	4,12 <sup>h,i</sup>	1,83	1,04 <sup>d,e,f</sup>	0,11
Snehvide	11,82 <sup>e,f</sup>	0,33	15,19 <sup>b,c,d,e,f</sup>	3,34	1,35 <sup>c,d,e,f</sup>	0,65
Cisko	9,60 <sup>h,i</sup>	0,22	20,26 <sup>a,b,c</sup>	4,41	4,52 <sup>b,c</sup>	1,62
Dukat	13,91 <sup>b,c,d</sup>	0,32	13,00 <sup>c,d,e,f,g</sup>	1,30	3,94 <sup>b,c,d</sup>	0,82
Talar	10,36 <sup>g,h</sup>	0,16	9,08 <sup>e,f,g,h,i</sup>	2,35	3,88 <sup>b,c,d,e</sup>	1,39

Objaśnienia: / Explanatory notes:

SD – Odchylenie standardowe / Standard deviation;

Wartości średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha = 0,05$  / Mean values in columns denoted by the same letter do not statistically significantly differ at  $\alpha = 0.05$  level.

Zidorn i wsp. [23] porównali metodą HPLC zawartość poliacetylenów w wybranych warzywach korzeniowych. Badania te wykazały, że seler korzeniowy zawiera największe ilości badanych związków: 1,62 mg falkarinolu i 4,58 mg falkarindiolu w 1 g liofilizowanego materiału. Dla porównania w marchwi wielkości te wynoszą odpowiednio 0,29 oraz 0,24 mg·g<sup>-1</sup> liofilizowanego materiału.

Jak wynika z danych literaturowych, istnieje duże zróżnicowanie zawartości poliacetylenów nawet w obrębie jednego gatunku. Wynikać to może z różnych metod



przygotowywania próbek oraz oznaczania tych związków. Należy też zaznaczyć, że autorzy w swoich badaniach zazwyczaj nie podają odmian roślin warzywnych. Niniejsza praca jest pierwszą porównującą zawartość tych związków w tak dużej liczbie odmian w obrębie jednego gatunku. Jak wykazały przeprowadzone badania poszczególne odmiany selera korzeniowego różniły się istotnie pod względem zawartości falkarinolu i falkarindiolu.

### Wnioski

1. W zgrubieniach korzeniowych selera zidentyfikowano dwa związki należące do poliacetylenów – falkarinol i falkarindiol.
2. Stwierdzono istotne zróżnicowanie odmianowe pod względem zawartości poliacetylenów.
3. Największą zawartość falkarinolu oznaczono w zgrubieniach korzeniowych selera odmian Makar i Jabłkowy, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 25,34 oraz 22,37 mg·100 g<sup>-1</sup>.
4. Największą zawartość falkarindiolu oznaczono w zgrubieniach korzeniowych selera odmian Odrzański oraz Luna, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 10,13 oraz 12,55 mg·100 g<sup>-1</sup>.
5. Uzyskane wyniki prowadzonych badań pozwalają na stwierdzenie, że wybrane odmiany selera korzeniowego mogą być dobrym źródłem poliacetylenów.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Bernart M.W., Cardellina J.H., Balaschak M.S., Alexander M.R., Shoemaker R.H., Boyd M.R.: Cytotoxic falcarinol oxylipins from *Dendropanax arboreus*. J. Nat. Prod., 1996, **59**, 748-753.
- [2] Bohlmann F., Burkhardt T, Zdero C.: Naturally occurring acetylenes. Academic Press, London 1973.
- [3] Brandt K., Christensen L.P. Hansen-Møller, J., Hansen S.L., Haraldsdottir J., Jespersen L., Purup S., Kharazmi A., Barkholt V., Frøkiaer H., Kobaek-Larsen M.: Health promoting compounds in vegetables and fruits: a systematic approach for identifying plant components with impact on human health. Trends Food Sci. Technol., 2004, **15**, 384-393.
- [4] Christensen L.P., Hansen S.L., Purup S., Brandt K.: Naturally occurring acetylenes common food plants: chemistry, occurrence and bioactivity. DIAS Report Hort., 2002, **29**, 54-68.
- [5] Czepa A.: Objektivierung des bitteren Fehlgeschmacks von Karotten (*Dacus carota* L.) und Karottenprodukten. Rozprawa doktorska, Technischen Universität München, 2003.
- [6] Furumi K., Fujioka T., Furi H., Okaže H., Nakano Y., Matsunaga H., Katano M., Mori M., Mihashi K.: Novel antiproliferative falkarindiol furanocoumarin ethers from the roots of *Angelica japonica*. Bioorg. & Med. Chem. Letters., 1998, **8**, 93-96.

- [7] Garrod B., Lewis B.G. Cis-heptadeca-1,9-diene-4,6-diyne-3,8-diol, an antifungal polyacetylene from carrot root tissue. *Physiol. Plant Pathol.*, 1978, **13**, 241-246.
- [8] Hansen S.L., Purup S., Christensen L.P.: Bioactivity of falcarinol and the influence of processing and storage on its content in carrots (*Daucus carota* L.). *J. Sci. Food Agric.*, 2003, **83**, 1010-1017.
- [9] Hansen-Møller J., Hansen S.L., Christensen L.P., Jespersen L., Brandt K., Haraldsdóttir J.: Quantification of polyacetylenes by LC-MS in human plasma after intake of fresh carrot juice (*Daucus carota* L.). International Symposium on "Dietary phytochemicals and human health", Salamanca, Spain, 18-20 April 2002, 203-204.
- [10] Hirakura K., Morita M., Nakajima K., Ikeya Y., Mitsuhashi H.: Three acetylenic compounds from roots of *Panax ginseng*. *Phytochemistry*, 1992, **31** (3), 899-903.
- [11] Kobaek-Larsen M., Christensen L. P., Vach W., Ritskes-Hoitinga J., Brandt K.: Inhibitory effect of feeding with carrots or (-)-falcarinol on development of azoxymethane-induced preneoplastic lesions in the rat colon. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 1823-1827.
- [12] Loy G., Cottiglia F., Garau D., Deidda D., Pompei R., Bonsignore L.: Chemical composition and cytotoxic and antimicrobial activity of *Calycotome villosa* (Poiret) link leaves. *Farmaco*, 2001, **56** (5/7), 433-436.
- [13] Machado S., Silva A., Massa A.: Occupational allergic contact dermatitis from falcarinol. *Cont. Derm.*, 2002, **47** (2), 109-111.
- [14] Matsunaga H., Katano M., Yamamoto H., Fujito H., Mori M., Takata K.: Cytotoxic activity of polyacetylene compounds in *Panax ginseng*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1990, **38** (12), 3480-3482.
- [15] PN-90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [16] Saita T., Katano M., Matsunaga H., Yamamoto H., Fujito H., Mori M.: The first specific antibody against cytotoxic polyacetylenic alcohol, panaxynol. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1993, **41** (3), 549-52.
- [17] Sohn J., Lee C.H., Chung D.J., Park S.H., Kim I., Hwang W.I.: Effect of petroleum ether extract of *Panax ginseng* roots on proliferation and cell cycle progression of human renal cell carcinoma cells. *Exp. Mol. Med.*, 1998, **30** (1), 47-51.
- [18] Teng C.M., Kuo S.C., Ko F.N., Lee J.C., Lee L.G., Chen S.C., Huang T.F.: Antiplatelet actions of panaxynol and ginsenosides isolated from ginseng. *Bioch. Bioph. Acta*, 1989, **990** (3), 315-320.
- [19] Van Wassenhove F.A., Dirinck P.J., Vulsteke G.A., Schamp N.M.: Aromatic volatile composition of celery and celeriac cultivars. *Hort Science*, 1990, **25** (5), 556-559.
- [20] Wulf L.W., Nagel C.W., Branen A.L.: Analysis of myristicin and falcarinol in carrots by high-pressure liquid chromatography. *J. Agric Food Chem.*, 1978, **26** (6), 3190-3193.
- [21] Zheng G., Lu W., Aisa H.A., Cai J.: Absolute configuration of falcarinol, a potent antitumor agent commonly occurring in plants. *Tetr. Lett.*, 1999, **40**, 2181-2182.
- [22] Zidorn C., Sturm S., Dawson J.W., van Klink J.W., Stuppner H., Perry N.B.: Chemosystematic investigations of irregular diterpenes in *Anisotome* and related New Zealand *Apiaceae*. *Phytochemistry*, 2002, **59** (3), 293-304.
- [23] Zidorn C., Johrer K., Ganzera M., Schubert B., Sigmunt E.M., Mader J., Greil R., Ellmerer E.p., Stuppner H.: Polyacetylenes from the *Apiaceae* vegetables carrot, celery, fennel, parsley, and parsnip and their cytotoxic activities. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 2518-2523.

**THE CONTENT OF POLYACETYLENES COMPARISON IN  
THE 18 CULTIVARS OF CELERIAC**

## S u m m a r y

Falcarinol and falcarindiol are two major polyacetylenes in *Apiaceae* family. These compounds were placed on the list of Natural Product with Antitumor Activity created by National Cancer Institute, USA. The largest amount of polyacetylenes occurs in plant roots. Celeriac as a root vegetable is not known very well worldwide. In many countries only leaf varieties (celery) are valued, therefore there are few studies on celeriac polyacetylenes.

The purpose of this research was to analyze varieties of celeriac (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum*) available in Poland in terms of polyacetylenes. The research was conducted on 18 varieties of celeriac: 'Jabłkowy', 'Odrzański', 'Makar', 'Brilliant', 'Diamant', 'Gol', 'Luna', 'Mentor', 'Monarch', 'Cascade', 'Feniks', 'Edward', 'President', 'Prinz', 'Snehvide', 'Cisko', 'Dukat' and 'Talar'. Gas chromatography mass spectrometry method (GC/MS) was employed to analyze the content of polyacetylenes.

Two polyacetylenes - falcarinol and falcarindiol were identified. The largest amount of falcarinol was found in 'Makar' and 'Jabłkowy' celeriac variety and it was measured to be 25.34 and 22.37 mg·100 g<sup>-1</sup> of dry mass respectively. 'Odrzański' and 'Luna' varieties contained the highest amount of falcarindiol which was measured to be 10.13 and 12.55 mg·100 g<sup>-1</sup> of dry mass.

**Key words:** polyacetylenes, falcarinol, falcarindiol, celeriac, GC/MS ☒

MICHAŁ GOŚLIŃSKI, RENATA ZAWIRSKA-WOJTASIAK,  
JANINA GAJC-WOLSKA

## OPTIMALIZACJA PARAMETRÓW TECHNIKI SPME DO OCENY AROMATU OWOCÓW LINII TRANSGENICZNYCH OGÓRKA EKSPRYMUJĄCYCH GEN TAUMATYNY II

### Streszczenie

Mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME) jest nowoczesną techniką izolacji związków lotnych i może stanowić alternatywę dla metod tradycyjnych. Była ona z powodzeniem stosowana w analizie różnych surowców roślinnych i produktów spożywczych. Przedmiotem zainteresowania autorów był aromat transgenicznego ogórka modyfikowanego genem taumatyny II. Do tej pory nie publikowano wyników badań oceniających wpływ tego typu modyfikacji genetycznej na profil zapachowy surowca. Celem pracy był dobór parametrów techniki SPME do oceny aromatu ogórka. Optymalizacja parametrów techniki SPME obejmowała wybór: rodzaju włókna, temperatury, czasu ekstrakcji i wysalania próby. Zastosowanie SPME pozwoliło na identyfikację związków lotnych odpowiedzialnych za aromat ogórka. Ponadto zaobserwowano zróżnicowanie ilościowe zawartości związków lotnych pomiędzy liniami transgenicznymi a niemodyfikowaną linią kontrolną.

**Słowa kluczowe:** ogórek transgeniczny, gen taumatyny II, aromat, mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME)

### Wprowadzenie

Ogórek (*Cucumis sativus* L.) jest jednym z popularniejszych warzyw uprawianych i spożywanych w Polsce. Ceniony jest on m.in. ze względu na swoje walory smakowo-zapachowe. Za kształtowanie aromatu ogórka odpowiedzialne są związki lotne powstające na drodze biosyntezy z kwasów tłuszczowych - linolowego i linolenowego [14]. Najważniejszymi z nich są (E,Z)-2,6-nonadienal i (E)-2-nonenal [11]. Zawartość tych związków uzależniona jest od wielu czynników, na przykład: odmiany, warunków uprawy czy terminu zbioru.

---

*Mgr inż. M. Gośliński, dr hab. R. Zawirska-Wojtasiak, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, ul. Wojska Polskiego 30, 60-624 Poznań, dr hab. J. Gajc-Wolska, Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa*

Współczesna inżynieria genetyczna przyczynia się do postępu w wielu dziedzinach nauki, m.in. w uprawie roślin. Transgeniczne odmiany charakteryzują się na ogół lepszymi właściwościami użytkowymi, takimi jak: plenność, odporność na choroby, herbicydy czy szkodniki. Badania prowadzone są również w nowych kierunkach, np. poprawy cech sensorycznych warzyw i owoców. Tego typu modyfikacje dotyczą najczęściej zmiany odczucia smaku słodkiego poprzez wprowadzenie genu słodkiego białka np. taumatyny. Ekspresję genu taumatyny uzyskano m.in. w pomidorze [1], ziemniaku [15] i truskawce [10].

Przedmiotem zainteresowania autorów niniejszej pracy był jednak zapach ogórka modyfikowanego genem taumatyny II. Do tej pory nie publikowano wyników badań oceniających wpływ modyfikacji genetycznych na profil zapachowy transgenicznego surowca.

Pomiaru aromatu dokonuje się przy użyciu technik chromatograficznych. Powszechnie stosowana w izolacji związków lotnych mikrodestylacja–ekstrakcja w aparacie Likensa–Nickersona jest efektywna, jednak bardzo czasochłonna. Poszukuje się zatem nowych metod i rozwiązań, które mogłyby stanowić alternatywę dla metod tradycyjnych. Dane literaturowe wskazują, że technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME) była z powodzeniem stosowana do izolacji związków lotnych z różnych surowców roślinnych i produktów spożywczych, takich jak: kawa [9], chmiel [7], piwo [4], jabłka [12], koper [17] czy oleje roślinne [3].

SPME (solid phase microextraction) jest jedną z najnowszych technik izolacji związków lotnych. Do jej zalet zaliczyć można: krótki czas ekstrakcji, brak konieczności stosowania rozpuszczalników, niski koszt oraz prostotę analizy [5]. SPME polega na zaadsorbowaniu związków na fazie stacjonarnej (sorbencie), którą jest cienkie, kwarcowe włókno pokryte specjalnym polimerem. W zależności od charakteru chemicznego izolowanych związków stosuje się włókna o zróżnicowanych właściwościach sorpcyjnych. Rodzaj fazy stacjonarnej jaką pokryte jest włókno SPME determinuje czułość i selektywność metody. Wybór odpowiedniego włókna zależy w dużej mierze od właściwości chemicznych analitu. Ekstrakcja powinna być przeprowadzona na zasadzie „podobne-podobnym”, np. związki o charakterze polarnym dobrze ekstrahowane są na włóknach o polarnym charakterze grup funkcyjnych jego fazy stacjonarnej [5, 8]. Wpływ rodzaju włókna na wydajność procesu ekstrakcji badano również w innych pracach wykorzystujących technikę SPME [2, 6]. Desorpcja związków zaadsorbowanych na włóknie SPME ma miejsce w komorze nastrzykowej chromatografu gazowego pod wpływem wysokiej temperatury [5, 8].

Temperatura jest istotnym parametrem wpływającym na efektywność ekstrakcji związków lotnych. Na ogół podwyższenie temperatury sprzyja przechodzeniu analitu z próby do fazy nadpowierzchniowej i jego adsorpcji na włóknie. Z drugiej strony wyższa temperatura fazy nadpowierzchniowej powoduje desorpcję analitu z włókna

i obniżenie czułości analizy [5, 8]. Zależność wydajności ekstrakcji od temperatury określano np. w pracach badawczych dotyczących izolacji związków lotnych z płatków owsianych [6].

Następnym ważnym parametrem techniki SPME jest wybór odpowiedniego czasu ekstrakcji. Czas ekspozycji włókna znacząco wpływa na wydajność procesu ekstrakcji, objawiającą się przyrostem powierzchni pików izolowanych związków lotnych [5, 8].

Dodatek do próby wodnego roztworu soli zwiększa stałą podziału włókno/matryca, a tym samym może przyczyniać się do poprawy efektywności ekstrakcji związków lotnych aromatu ogórka [5, 8].

Celem pracy była optymalizacja parametrów techniki SPME do oceny aromatu owoców linii transgenicznych ogórka ekspresujących gen taumatyny II.

### **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły 4 linie ogórków transgenicznych, o zróżnicowanym poziomie ekspresji genu taumatyny II, uprawiane doświadczalnie w warunkach polowych w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Rośliny transgeniczne zostały uzyskane po transformacji wektorowej [LBA4409/pRUR528] mikroskrawków liściowych linii B [13], która została wyprowadzona ze starej polowej odmiany ogórka (*Cucumis sativus* L.) Borszczagowski.

Ogórki myto i krojono w drobną kostkę, a następnie miksowano na jednolitą masę. W szklanych naczynkach o pojemności 15 ml umieszczano 10 g tak przygotowanej próby ogórków. Naczynka zamykano kapslem z membraną silikon/teflon. Każdą próbę ogórka przygotowywano w 5 powtórzeniach. Po przebiciu igłą strzykawki SPME membrany naczynka i wysunięciu włókna, następowała adsorpcja związków lotnych.

Optymalizacja parametrów techniki SPME obejmowała dobór takich elementów, jak: rodzaj włókna, temperaturę i czas ekstrakcji oraz dodatek do próby roztworu soli.

W pracy porównano 3 włókna SPME firmy Supelco o różnej fazie stacjonarnej: 100  $\mu\text{m}$  polidimetylosiloksan (PDMS), 75  $\mu\text{m}$  carboxen/polidimetylosiloksan (CAR/PDMS) i 50  $\mu\text{m}$  divinylbenzen/carboxen/polidimetylosiloksan (DVB/CAR/PDMS). Stosowano temperaturę ekstrakcji: 20, 30, 40, 50 i 60°C oraz czas ekstrakcji: 10, 20, 30 i 40 min. Do 10 g badanych prób ogórka dodawano po 5 ml wodnego roztworu chlorku sodu o zróżnicowanym stężeniu: 2, 5 i 10% NaCl. Efekt ww. parametrów mierzono powierzchnią pików izolowanych związków aromatu ogórka.

Analiza związków lotnych ogórka obejmowała zarówno ocenę jakościową, jak i ilościową, które przeprowadzono przy użyciu chromatografu gazowego Hewlett Packard 6890 GC z detektorem FID i kolumną ZB WAX (60 m  $\times$  0,53 mm  $\times$  1,0  $\mu\text{m}$ ). Temperatura portu nastrzykowego wynosiła 230°C, a detektora 260°C. Rozdział następował w temp. programowanej: 40°C przez 1 min, a następnie przyrost temperatury 8°C/min do 230°C. Jako gazu nośnego użyto helu o przepływie 5,6 ml/min. Związki

lotne izolowano i nanoszono na kolumnę chromatografu za pomocą urządzenia SPME. Włókno SPME eksponowano w komorze nastrzykowej chromatografu gazowego przez 5 min.

Do sporządzenia krzywych wzorcowych użyto następujących standardów związków lotnych: (E,Z)-2,6-nonadienu (95%, Aldrich), (E)-2-nonenalu (97%, Aldrich), hexanal (98%, Aldrich), 2-pentylfuranu (97%, Aldrich).

Statystyczną istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji, przy  $\alpha = 0,05$ .

### Wyniki i dyskusja

Spośród włókien analizowanych w niniejszej pracy najwłaściwsze do izolacji związków lotnych ogórka okazało się włókno o fazie stacjonarnej carboxen/polidimetylosiloksan (CAR/PDMS). Zdecydowała o tym przede wszystkim ilość związków wyekstrahowanych z prób ogórka. Ponadto kryterium brany pod uwagę była powierzchnia pików (E,Z)-2,6-nonadienu, czyli najważniejszego związku lotnego aromatu ogórka. Otrzymane wyniki przedstawiono w tab. 1. i na rys. 1.

Tabela 1

Efektywność ekstrakcji różnych rodzajów włókien SPME.  
The efficiency of extraction of different SPME fibres.

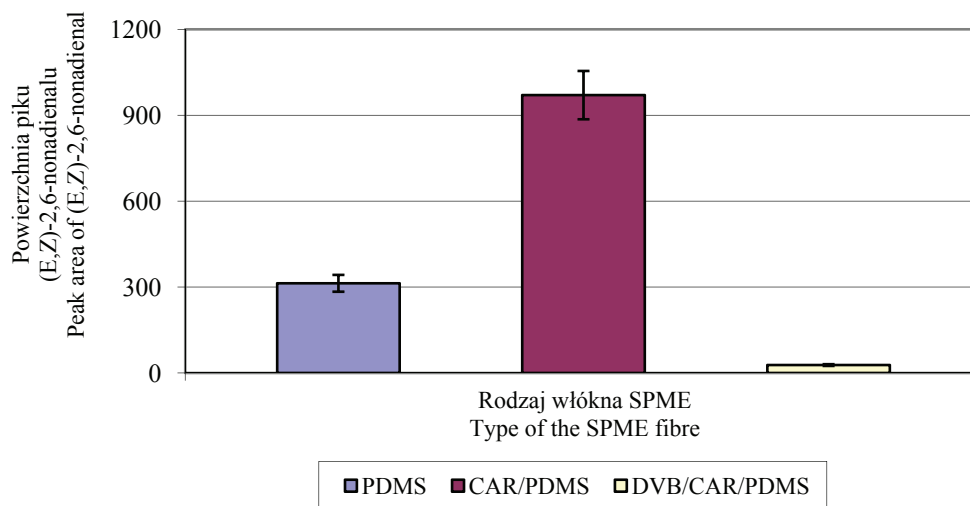
Wyszczególnienie Specification	Rodzaj włókna SPME Type of the SPME fibre		
	PDMS	CAR/PDMS	DVB/CAR/PDMS
Liczba zintegrowanych pików Number of integrated peaks	14	29	6
Łączna powierzchnia wszystkich pików Total area of integrated peaks	3035,2	10493,9	982,7

PDMS – polidimetylosiloksan

CAR/PDMS – carboxen/polidimetylosiloksan

DVB/CAR/PDMS – divinylbenzen/carboxen/polidimetylosiloksan

Doboru odpowiedniej temperatury analizy dokonywano w zakresie 20–60°C na podstawie pomiaru przyrostu powierzchni pików izolowanych związków lotnych aromatu ogórka. Zależność odnoszącą się do (E,Z)-2,6-nonadienu i (E)-2-nonenalu przedstawiono na rys. 2. Na podstawie otrzymanych wyników wybrano temperaturę 50°C, gdyż po jej przekroczeniu nie następował już wyraźny przyrost powierzchni pików analizowanych związków.



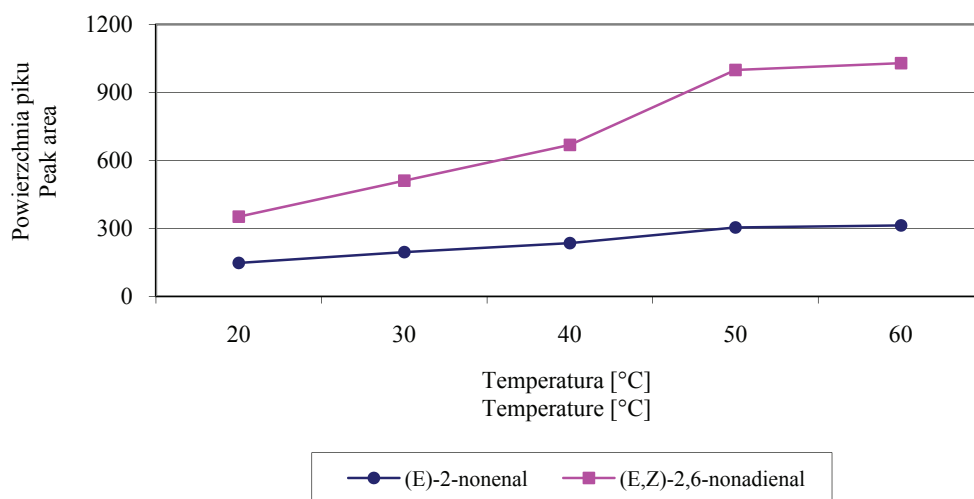
PDMS – polidimetylosiloksan

CAR/PDMS – carboxen/polidimetylosiloksan

DVB/CAR/PDMS – divinylbenzen/carboxen/polidimetylosiloksan

Rys. 1. Powierzchnia pików (E,Z)-2,6-nonadienu w zależności od rodzaju włókna SPME.

Fig. 1. Area of the peak of (E,Z)-2,6-nonadienal depending on the various types of SPME fibre.

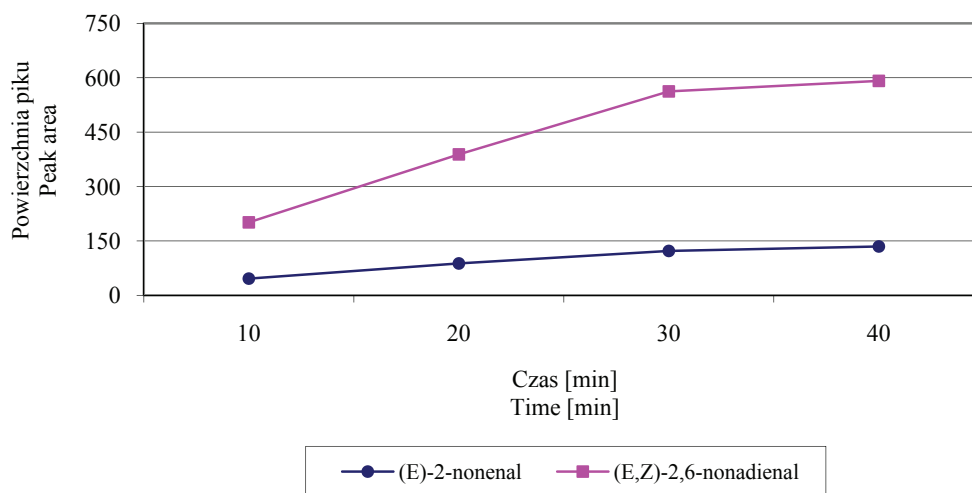


Rys. 2. Wpływ temperatury na wydajność ekstrakcji, włókno CAR/PDMS.

Fig. 2. Effect of the temperature on the extraction efficiency, CAR/PDMS fibre.

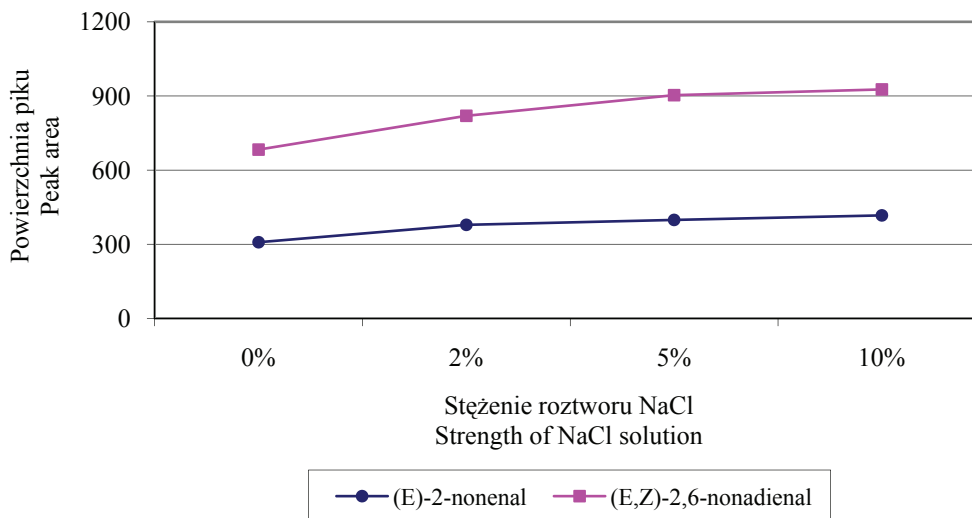


Następnym analizowanym parametrem techniki SPME był wybór odpowiedniego czasu ekstrakcji. Otrzymane wyniki przedstawiono graficznie na rys. 3. Ostatecznie do dalszych analiz aromatu ogórka transgenicznego wybrano wariant 30-minutowy.



Rys. 3. Wpływ czasu ekspozycji włókna na wydajność ekstrakcji, włókno CAR/PDMS.

Fig. 3. Effect of the exposure time on the extraction efficiency, CAR/PDMS fibre.



Rys. 4. Wpływ stężenia roztworu NaCl na wydajność ekstrakcji, włókno CAR/PDMS.

Fig. 4. Effect of the strength of NaCl solution on the extraction efficiency, CAR/PDMS fibre.

Zależność powierzchni pików (E)-2-nonenalu i (E,Z)-2,6-nonadienu od ilości dodanej soli przedstawiono na rys. 4. Spośród analizowanych wariantów jako optymalny wybrano dodatek 5 ml 10% roztworu NaCl.

Kolejnym etapem badań było praktyczne wykorzystanie ustalonych parametrów techniki SPME do oceny aromatu owoców linii transgenicznych ogórka ekspresujących gen taumatyny II. Otrzymane wyniki przedstawiono w tab. 2. We wszystkich próbach w największych ilościach występowały (E,Z)-2,6-nonadien i (E)-2-nonenal, które są najważniejszymi komponentami zapachowymi ogórka [11, 14].

Tabela 2

Zawartość związków lotnych w badanych próbach ogórka transgenicznego.  
Content of volatile compounds in the transgenic cucumber samples studied.

Związek lotny Volatile compound	Seria 1 / Series 1			
	B	210	212	224
	Zawartość związku lotnego [ $\mu\text{g}/100\text{g}$ ] * Content of the volatile compound [ $\mu\text{g}/100\text{g}$ ] *			
Hexanal	20,0	22,1	20,7	24,4
2-pentylfuran	43,5	43,3	43,4	43,4
(E)-2-nonenal	109,1	101,9	119,0	107,6
(E,Z)-2,6-nonadien	249,3	111,2	256,0	166,9

Związek lotny Volatile compound	Seria 2 / Series 2			
	B	210	212	224
	Zawartość związku lotnego [ $\mu\text{g}/100\text{g}$ ] * Content of the volatile compound [ $\mu\text{g}/100\text{g}$ ] *			
Hexanal	19,8	20,4	19,4	19,8
2-pentylfuran	43,8	43,5	43,8	43,7
(E)-2-nonenal	105,7	105,5	106,5	105,0
(E,Z)-2,6-nonadien	205,5	196,1	247,4	208,4

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\* wartości średnie z 4 powtórzeń / mean values from 4 repetitions;

współczynniki zmienności 2,5-5% / relative standard deviation 2.5-5%;

B – linia kontrolna ogórka / control line of the cucumber,

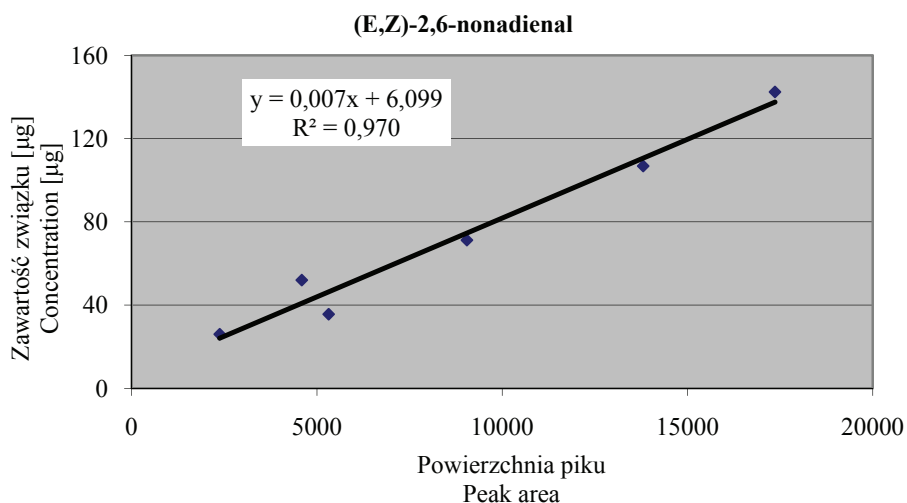
210 – linia ogórka o niskim stężeniu taumatyny / cucumber line showing a low concentration of thaumatin,

212 – linia ogórka o wysokim stężeniu taumatyny / cucumber line showing a high concentration of thaumatin,

224 – linia ogórka o wysokim stężeniu taumatyny / cucumber line showing a high concentration of thaumatin.

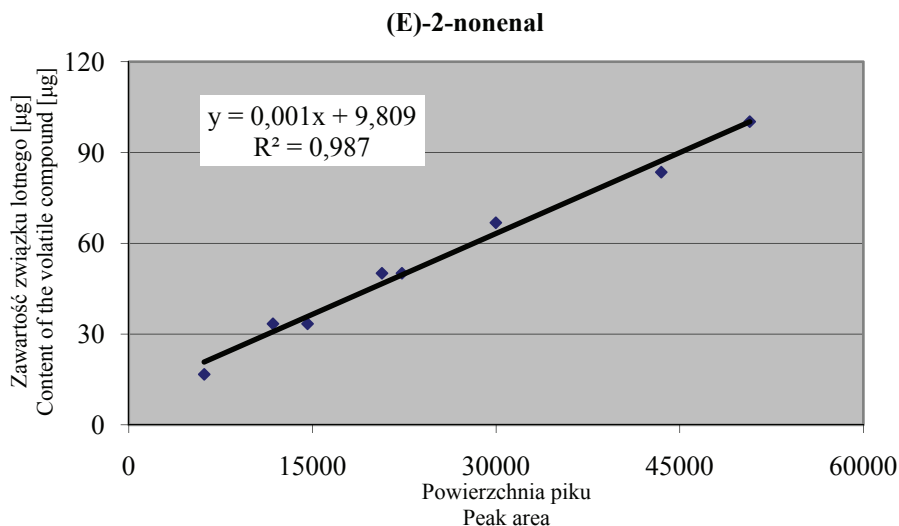
Obliczenia zawartości powyższych związków lotnych ogórka dokonano z krzywych wzorcowych przedstawionych na rys. 5–8.

Zaobserwowano zróżnicowanie zawartości głównych związków lotnych pomiędzy próbkami transgenicznymi a próbą kontrolną. Linia 212 odznaczała się największą zawartością (E,Z)-2,6-nonadienu. Zróżnicowanie pomiędzy próbkami ogórków było bardzo podobne do tego, jakie obserwowano we wcześniejszych badaniach metodą mikrodestylacji-ekstrakcji w aparacie Likensa-Nickersona [16].



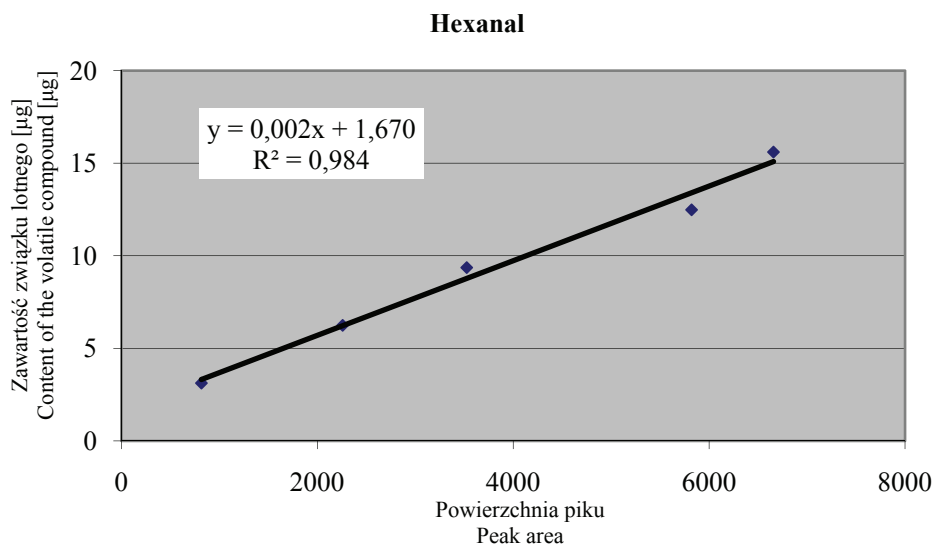
Rys. 5. Krzywa wzorcowa (E,Z)-2,6-nonadienu.

Fig. 5. Calibration curve of (E,Z)-2,6-nonadienal.



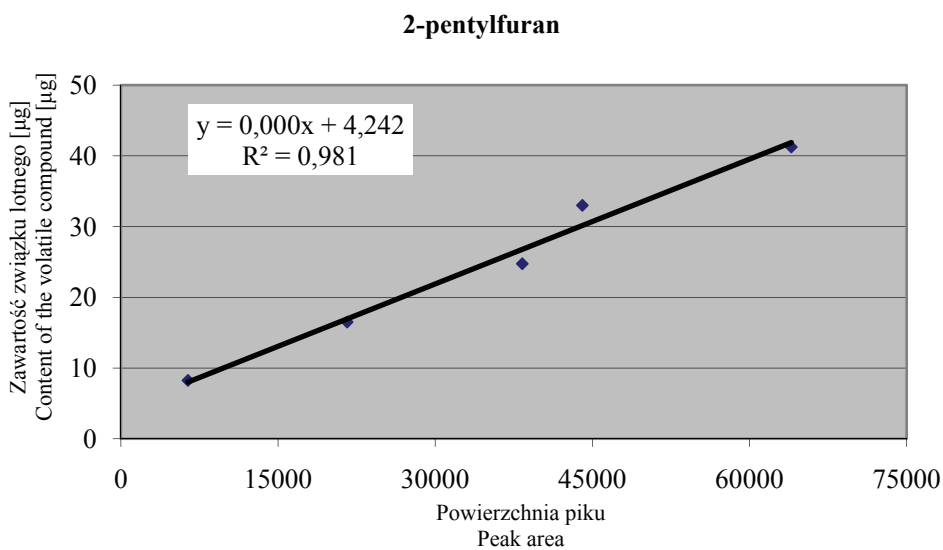
Rys. 6. Krzywa wzorcowa (E)-2-nonenalu.

Fig. 6. Calibration curve for (E)-2-nonenal.



Rys. 7. Krzywa wzorcowa hexanal.

Fig. 7. Calibration curve of hexanal.



Rys. 8. Krzywa wzorcowa 2-pentylfuranu.

Fig. 8. Calibration curve of 2-pentylfuran.

## Wnioski

1. Ustalono optymalne parametry techniki SPME do oceny aromatu owoców linii transgenicznych ogórka ekspresujących gen taumatyny II. Są to: włókno CAR/PDMS, 30-minutowa ekstrakcja w temp. 50°C oraz dodatek 5 ml 10% roztworu NaCl/10 g próbki.
2. Zastosowanie SPME pozwoliło na identyfikację związków lotnych odpowiedzialnych za aromat ogórka. Potwierdzono, że we wszystkich próbach w największych ilościach występowały 2,6-nonadienal i 2-nonenal, które są najważniejszymi składnikami zapachowymi ogórka.
3. Zaobserwowano zróżnicowanie zawartości związków lotnych pomiędzy liniami transgenicznymi ogórków a niemodyfikowaną linią kontrolną. linia ogórka 212 charakteryzowała się największą zawartością (E,Z)-2,6-nonadienu.

*Badania finansowane w ramach Grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego N312 063 32/3001. Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

## Literatura


- [1] Bartoszewski G., Niedziela A., Szwacka M., Niemirowicz-Szczytt K.: Modification of tomato taste in transgenic plants carrying a thaumatin gene from *Thaumatococcus daniellii* Benth. *Plant Breeding*, 2003, **122**, 347-351.
- [2] Bicchi C., Drigo S., Rubiolo P.: Influence of fibre coating in headspace solid-phase microextraction – gas chromatographic analysis of aromatic medicinal plants. *J. Chrom. A*, 2000, **892**, 469-485.
- [3] Jeleń H.H., Obuchowska M., Zawirska-Wojtasiak R., Wąsowicz E.: Headspace solid phase microextraction use for the characterization of volatile compounds in vegetable oils of different sensory quality. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 2360-2367.
- [4] Jeleń H.H., Wlazły K., Wąsowicz E., Kaminski E.: Solid-phase microextraction for the analysis of some alcohols and esters in beer. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 1469-1473.
- [5] Kataoka H., Lord H.L., Pawliszyn J.: Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J. Chrom. A*, 2000, **880**, 35-62.
- [6] Klensporf D., Jeleń H.H.: Analysis of volatile aldehydes in oat flakes by SPME-GC/MS. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14**, 389-395.
- [7] Kovacevic M., Kac M.: Solid-phase microextraction of hop volatiles. Potential use for determination and verification of hop varieties. *J. Chrom. A*, 2001, **918**, 159-167.
- [8] Pawliszyn J.: *Solid Phase Microextraction. Theory and Practice*. Wiley-VCH, New York 1997, pp. 95-140.
- [9] Roberts D., Pollien P., Milo C.: Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 2430-2437.
- [10] Schestibratov K.A., Dolgov S.V.: Transgenic strawberry plants expressing a thaumatin II gene demonstrate enhanced resistance to *Botrytis cinerea*. *Scientia Horticulturae*, 2005, **106**, 177-189.
- [11] Schieberle P., Ofner S., Grosch W.: Evaluation of potent odorants in cucumbers (*Cucumis sativus*) and muskmelons (*Cucumis melo*) by aroma extract dilution analysis. *J. Food Sci.*, 1999, **55**, 193-195.

- [12] Song J., Gardner B., Holland J., Beaudry R.: Rapid analysis of volatile flavour compounds in apple fruit using SPME and GC/time-of-flight mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 1801-1807.
- [13] Szwacka M., Morawski M., Burza W.: *Agrobacterium tumefaciens* -mediated cucumber transformation with thaumatin II cDNA. *Genet. Pol.*, 1996, **37A**, 126-129.
- [14] Takeoka G.: Flavor chemistry of vegetables. Flavor Publishers, New York 1999, pp. 287-304.
- [15] Witty M.: Preprothaumatin II is processed to biological activity in *Solanum tuberosum*. *Biotech. Lett.*, 1990, **12**, 131-136.
- [16] Zawirska-Wojtasiak R., Gośliński M., Szwacka M., Wąsowicz E., Malepszy S.: Gas chromatography/olfactometry evaluation of transgenic cucumber aroma. Proceedings of 8th Wartburg Symposium on Flavor Chemistry & Biology, Eisenach, Germany 2007, p. 54.
- [17] Zawirska-Wojtasiak R., Wąsowicz E.: Estimation of main dill seeds odorant carvone by solid-phase microextraction and gas chromatography. *Nahrung/Food*, 2002, **46**, 357-359.

**PARAMETER OPTIMIZATION OF THE SPME TECHNIQUE FOR THE PURPOSE OF  
EVALUATING THE AROMA OF THE FRUIT OF CUCUMBER OF TRANSGENIC LINES  
WITH A GENE OF THAUMATIN II**

S u m m a r y

Solid phase microextraction (SPME) is a modern technique to isolate volatile compounds and it can be an alternative to traditional methods. It was successfully applied to analyse different plant fruit and food products. The authors of this paper focused their attention on the aroma of transgenic cucumber modified using a gene of thaumatin II. Until now, no results have been published of any studies dealing with the evaluation of the effect of this type of genetic modification on the volatile profile of raw material. The objective of this study was to select parameters of the SPME technique for evaluating the aroma of cucumber. The parameter optimization of the SPME technique comprised the selection of: type of fibre, temperature, extraction time, and salting out the sample. Owing to the application of the SPME technique, it was possible to identify volatile compounds responsible for the aroma of cucumber. Moreover, it was found that the contents of volatile compounds in the fruit of transgenic lines and in the non-modified control line differed.

**Key words:** transgenic cucumber, gene of thaumatin II, aroma, solid phase micro-extraction (SPME) 

JOANNA NIEWCZAS, MARTA MITEK

## WPLYW PRZECHOWYWANIA NOWYCH ODMIAN DYNI OLBRZYMIEJ (*CUCURBITA MAXIMA*) NA WYBRANE PARAMETRY SKŁADU CHEMICZNEGO

### Streszczenie

Celem pracy było określenie podstawowego składu chemicznego owoców nowych odmian dyni olbrzymiej oraz przeprowadzenie badań przechowalniczych

Materiał doświadczalny stanowiły dwa nowe mieszańce dyni olbrzymiej ('Justynka' i 958) oraz jedna tradycyjnie uprawiana odmiana Bambino. Owoce pochodziły z pola doświadczalnego „Wolica” Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin SGGW. Zbiór owoców przeprowadzono 21 września 2005 roku.

Badania przeprowadzono bezpośrednio po zbiorze (I) oraz w trzech terminach przechowywania: II – po 4 tygodniach, III – po 8 tygodniach i IV – po 12 tygodniach od zbioru owoców. Dynie przechowywano początkowo w tunelu foliowym, a następnie w chłodni. Temperatura przechowywania wynosiła ok. 10°C, a wilgotność powietrza 75%.

Zawartość suchej substancji i ekstraktu w nowych odmianach dyni olbrzymiej była ponad 2-krotnie większa niż w tradycyjnej odmianie Bambino. Bezpośrednio po zbiorze zawartość cukrów w badanych odmianach różniła się, jednak po 12 tygodniach przechowywania nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic. Spośród przebadanych odmian Justynka zawierała najwięcej karotenoidów ogółem i  $\beta$ -karotenu, natomiast Bambino najmniej. Nasłonecznione strony owoców dyni olbrzymiej były bogatsze w suchą substancję, ekstrakt, cukry ogółem, karotenoidy ogółem i  $\beta$ -karoten w porównaniu ze stronami zacienionymi podczas uprawy.

**Słowa kluczowe:** dynia olbrzymia, przechowywanie, sucha substancja, ekstrakt, cukry ogółem, karotenoidy ogółem,  $\beta$ -karoten

### Wprowadzenie

Przez długie lata uprawiano w Polsce tylko dwie odmiany dyni olbrzymiej: Melonową Żółtą i Bambino. Są to odmiany o dużych owocach, trudniejszych do wykorzystania przez konsumenta, a także dużej przestrzeni powietrznej ułatwiającej uszkodze-

---

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

nia i delikatnej skórce. Charakteryzowały się one ponadto niewielką wartością odżywczą. W Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu SGGW trwają prace nad uzyskaniem nowych odmian, które będą atrakcyjniejsze oraz bardziej wartościowe zarówno dla konsumentów, jak i producentów.

Głównym celem hodowli nowych odmian jest poprawa plonu i jakości owoców. Cechą wpływającą na plon jest ograniczenie wielkości rośliny, zamiast formy płożącej - krzaczasta lub półkrzaczasta. Dzięki temu na jednostce powierzchni można posadzić 2-3 razy więcej roślin. Wówczas, jeśli nawet z jednej rośliny uzyska się niższy plon, to z jednostki powierzchni może być on wyższy [7]. Wzrost plonu można także osiągnąć poprzez większą liczbę owoców zawiązanych na roślinie. Ze względów technologicznych ważne jest, aby owoc miał w miarę równomierną grubość miąższu w całym przekroju, zwiększoną odporność na uszkodzenia w czasie transportu oraz aby cechował się trwałością przechowalniczą.

Dla konsumenta istotny jest przede wszystkim wygląd owocu – ładne wybarwienie skórki i nieznaczne występowanie korka. Konsumentom są zainteresowani owocami średnich rozmiarów, łatwymi w wykorzystaniu. Kiedy kupuje się jeden owoc dyni, na ogół preferowane są mniejsze rozmiary [5]. Coraz większą uwagę zwraca się jednak na jakość owoców. W przypadku dyni olbrzymiej najbardziej istotna jest zawartość  $\beta$ -karotenu i suchej substancji [17].

Na temat nowych odmian dyni olbrzymiej wciąż jest mało opracowań. Dlatego też celowe wydaje się badanie tych owoców oraz popularyzacja ich zalet.

Celem pracy było określenie zawartości suchej substancji, ekstraktu, cukrów ogółem, karotenoidów ogółem oraz  $\beta$ -karotenu w owocach dyni olbrzymiej oraz zbadanie zmian zawartości tych związków zachodzących podczas przechowywania.

### **Material i metody badań**

Material doświadczalny stanowiły owoce dwóch nowych mieszańców dyni olbrzymiej (957 i 958) i jednej tradycyjnej odmiany (Bambino). Odmiana mieszańcowa oznaczona numerem 957 została zarejestrowana w 2007 roku pod nawą Justynka. Badane dynie pochodziły z pola doświadczalnego „Wolica”, należącego do Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu SGGW. Zbiór owoców był przeprowadzony 21 września 2005 r.

Badania przeprowadzono bezpośrednio po zbiorze (I) oraz w trzech terminach przechowywania: II – po 4 tygodniach, III – po 8 tygodniach i IV – po 12 tygodniach od zbioru owoców. Dynie przechowywano początkowo w tunelu foliowym w temp. 5-10°C, a od połowy listopada w chłodni w temp. 10°C i wilgotności powietrza 75%. Próbkę do badań pobierano z najbardziej nasłonecznionej oraz zacienionej (podczas uprawy) części sześciu owoców każdej z badanych odmian dyni. Strona nasłonecznio-



na, to strona przeciwległa do części zacienionej – spoczywającej na ziemi, mającej jaśniejszy kolor i spłaszczoną powierzchnię. Jednakowej wielkości kawałki owoców z obydwu stron obierano, odpestczano, rozdrabniano, pakowano do słoików, po czym poddawano pasteryzacji w kuchence mikrofalowej (3 min, 90°C) w celu inaktywacji enzymów, a następnie zamrażano i przechowywano w temp. -18°C do czasu wykonywania badań. Każdy z sześciu owoców danej odmiany analizowano oddzielnie. Z wyników analiz obydwu stron owocu wyciągano średnią charakteryzującą cały owoc.

W dyniach oznaczano zawartość: suchej substancji, ekstraktu, cukrów ogółem [2], karotenoidów ogółem i  $\beta$ -karotenu [20].

Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu Statgraphics Plus, stosując wieloczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic między wartościami średnimi badano testem Duncana ( $\alpha = 0,05$ ). Analizowano wpływ odmiany i czasu przechowywania na poszczególnych składnikach w owocach dyni olbrzymiej.

### Wyniki i dyskusja

Skład chemiczny dyni olbrzymiej zależy głównie od odmiany. Jednak duży wpływ mają warunki pogodowe w poszczególnych latach. Poszczególne odmiany mogą różnie reagować na dane warunki [8]. Stopień nasłonecznienia wpływa istotnie na skórkę oraz skład chemiczny owocu, m.in. na zawartość suchej substancji, ekstraktu i kwasowości [24].

We wszystkich analizowanych owocach uzyskano wyższe wyniki zawartości badanych cech od nasłonecznionej strony owocu.

Zawartość suchej substancji oznaczona w nowych odmianach dyni olbrzymiej była ponad 2-krotnie większa niż w odmianie uprawianej tradycyjnie (tab. 1). Bezpośrednio po zbiorze (I termin badań) wyniosła ona 17,6% w owocach odmiany Justynka, 15,4% w mieszańcu 958 i tylko 6,8% w Bambino. W czasie przechowywania, w odmianie Justynka nastąpiło zmniejszenie zawartości suchej substancji po 4 tygodniach (II). W pozostałych odmianach nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian. Seroczyńska i wsp. [21] badając zawartość suchej substancji w wielu odmianach dyni olbrzymiej, uzyskali wartości w szerokim zakresie od 3 do 19,3%. Zawartość suchej substancji od strony nasłonecznionej owocu była wyższa. Roupael i Colla [19], porównując cukinię uprawianą w sezonie wiosenno-letnim i późnoletnim, zaobserwowali w pierwszym przypadku (przy większym nasłonecznieniu i wyższej temperaturze) większą masę owoców o zwiększonej zawartości suchej substancji.

Zawartość suchej substancji, jak również innych składników tj. ekstraktu czy cukrów, ulega wahaniom podczas przechowywania. Jest to związane z procesami zachodzącymi w przechowywanych surowcach – oddychaniem i transpiracją.

Tabela 1

Zawartość suchej substancji w owocach dyni olbrzymiej podczas przechowywania [%].  
Dry matter content in winter squash fruits during storage [%].

Odmiana dyni Cultivar winter squash	Strona owocu Fruit side	Termin badań / Test time							
		I termin I period		II termin II period		III termin III period		IV termin IV period	
		$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit
Justynka	słońce sun	17,7 ± 0,4	17,6 <sup>aA</sup>	14,8 ± 0,8	14,5 <sup>bA</sup>	17,6 ± 2,1	17,2 <sup>aA</sup>	16,9 ± 2,0	16,5 <sup>aA</sup>
	cień shadow	17,4 ± 0,4		14,2 ± 0,7		16,7 ± 1,9		16,1 ± 1,9	
958	słońce sun	15,7 ± 0,8	15,4 <sup>aB</sup>	14,4 ± 0,7	14,2 <sup>aA</sup>	15,6 ± 2,8	15,1 <sup>aA</sup>	15,2 ± 2,5	14,6 <sup>aA</sup>
	cień shadow	15,0 ± 0,5		14,0 ± 0,9		14,6 ± 2,8		13,9 ± 2,2	
Bambino	słońce sun	7,1 ± 0,4	6,8 <sup>aC</sup>	7,2 ± 1,4	6,8 <sup>aB</sup>	6,5 ± 1,4	6,2 <sup>aB</sup>	6,5 ± 2,1	6,3 <sup>aB</sup>
	cień shadow	6,5 ± 0,4		6,4 ± 1,3		5,9 ± 1,6		6,0 ± 2,1	

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value; S – odchylenie standardowe / standard deviation;

a, b, c – wartości średnie oznaczone w wierszach w obrębie tego samego wyróżnika tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha = 0,05$  / mean values in the lines, which are denoted by the same letter do not significantly differ at  $\alpha = 0.05$  level;

A, B, C – wartości średnie oznaczone w kolumnach w obrębie tego samego wyróżnika tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha = 0,05$  / mean values in the columns, which are denoted by the same letter do not significantly differ at  $\alpha = 0.05$  level.

Zawartość ekstraktu w dyniach badanych odmian bezpośrednio po zbiorze wynosiła od 5,4% w Bambino do 13,6% w Justynce (tab. 2). Przez cały okres przechowywania parametr ten utrzymywał się na podobnym poziomie w nowych odmianach, za wyjątkiem Justynki w II terminie badań. W owocach odmiany Bambino, w miarę wydłużania okresu przechowywania, obserwowano wzrost zawartości ekstraktu.

Zawartość cukrów ogółem w badanych dyniach była zróżnicowana i bezpośrednio po zbiorze (I) wyniosła najmniej w 'Justynce' (3,0%), a najwięcej w mieszańcu 958 (7,1%). Pod koniec okresu przechowywania 'Justynka' zawierała najwięcej cukrów (tab. 3). Jest to związane z dużą zawartością skrobi w tej odmianie [14]. W warzywach zawierających skrobię jako materiał zapasowy w czasie przechowywania powstają cukry proste [13]. Philips [16] po 3 miesiącach przechowywania dyni olbrzymiej zaobserwował podwojenie zawartości glukozy i sacharozy.

Tabela 2

Zawartość ekstraktu w owocach dyni olbrzymiej podczas przechowywania [%].  
Soluble solids content in winter squash fruits during storage [%].

Odmiana dyni Cultivar winter squash	Strona owocu Fruit side	Termin badań / Test time							
		I termin I period		II termin II period		III termin III period		IV termin IV period	
		$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit
Justynka	słońce sun	13,8 ± 2,0	13,6 <sup>aA</sup>	10,3 ± 1,1	9,9 <sup>bA</sup>	13,7 ± 1,9	13,7 <sup>aA</sup>	13,9 ± 1,8	13,7 <sup>aA</sup>
	cień shadow	13,4 ± 1,6		9,5 ± 0,7		13,1 ± 1,4		13,5 ± 1,4	
958	słońce sun	12,9 ± 1,4	12,5 <sup>aA</sup>	12,3 ± 1,5	12,1 <sup>aB</sup>	12,3 ± 1,5	12,3 <sup>aA</sup>	12,5 ± 1,3	12,3 <sup>aA</sup>
	cień shadow	12,1 ± 1,5		11,8 ± 1,4		11,9 ± 1,0		12,1 ± 1,4	
Bambino	słońce sun	5,6 ± 0,9	5,4 <sup>aB</sup>	6,7 ± 0,7	6,4 <sup>bC</sup>	6,4 ± 0,9	6,3 <sup>bB</sup>	6,5 ± 0,8	6,3 <sup>bB</sup>
	cień shadow	5,1 ± 1,2		6,0 ± 0,7		6,1 ± 0,8		6,1 ± 0,6	

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

Tabela 3

Zawartość cukrów ogółem w owocach dyni olbrzymiej podczas przechowywania [%].  
Total sugars content in winter squash fruits during storage [%].

Odmiana dyni Cultivar winter squash	Strona owocu Fruit side	Termin badań / Test time							
		I termin I period		II termin II period		III termin III period		IV termin IV period	
		$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit
Justynka	słońce sun	3,2 ± 0,4	3,0 <sup>aA</sup>	8,3 ± 0,6	8,1 <sup>bA</sup>	8,7 ± 0,9	8,7 <sup>bA</sup>	8,2 ± 0,7	8,2 <sup>bA</sup>
	cień shadow	2,8 ± 0,3		7,8 ± 0,6		8,6 ± 0,8		8,1 ± 0,8	
958	słońce sun	8,4 ± 0,5	7,1 <sup>aB</sup>	13,9 ± 1,2	13,5 <sup>bB</sup>	7,0 ± 0,8	6,9 <sup>aA</sup>	7,6 ± 0,6	6,2 <sup>aA</sup>
	cień shadow	5,9 ± 0,5		13,0 ± 1,1		6,7 ± 0,7		4,8 ± 0,5	
Bambino	słońce sun	3,6 ± 0,6	3,2 <sup>aA</sup>	4,6 ± 0,6	4,4 <sup>bC</sup>	3,5 ± 0,5	3,5 <sup>aB</sup>	3,6 ± 0,6	3,2 <sup>aB</sup>
	cień shadow	2,8 ± 0,3		4,1 ± 0,5		3,0 ± 0,5		2,7 ± 0,3	

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

Nasłonecznienie wpływa na rozkład temperatury wewnątrz owoców w czasie dojrzewania. Wpływ wyższej temperatury przy dojrzewaniu przejawia się większym stężeniem cukrów m.in. w winogronach [6], gruszkach [23] i pomidorach [12].

Tabela 4

Zawartość karotenoidów ogółem w owocach dyni olbrzymiej podczas przechowywania [mg/100 g ś.m.].  
Total content of carotenoids in winter squash fruits during storage [mg/100 g f.w.].

Odmiana dyni Cultivar winter squash	Strona owocu Fruit side	Termin badań / Test time							
		I termin I period		II termin II period		III termin III period		IV termin IV period	
		$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit
Justynka	słońce sun	10,52 ± 0,86	9,92 <sup>aA</sup>	7,89 ± 2,95	7,84 <sup>aA</sup>	9,73 ± 1,85	8,96 <sup>aA</sup>	10,07 ± 1,79	9,42 <sup>aA</sup>
	cień shadow	9,31 ± 0,63		7,79 ± 3,07		8,19 ± 1,95		8,77 ± 1,54	
958	słońce sun	5,17 ± 1,55	4,74 <sup>aB</sup>	5,51 ± 0,63	5,32 <sup>aA</sup>	10,96 ± 3,97	9,39 <sup>cA</sup>	8,50 ± 2,58	7,67 <sup>bB</sup>
	cień shadow	4,31 ± 0,96		5,13 ± 0,95		7,82 ± 2,46		6,83 ± 1,52	
Bambino	słońce sun	3,50 ± 0,87	3,35 <sup>aC</sup>	3,83 ± 1,52	3,72 <sup>abB</sup>	5,66 ± 2,64	5,55 <sup>cB</sup>	4,70 ± 2,70	4,60 <sup>bcC</sup>
	cień shadow	3,20 ± 0,68		3,60 ± 1,28		5,44 ± 3,17		4,50 ± 1,28	

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

Zawartość karotenoidów ogółem i  $\beta$ -karotenu jest silnie uzależniona od warunków atmosferycznych, w tym temperatury [8, 11]. Na zróżnicowanie zawartości karotenoidów w owocach tej samej odmiany wpływają: stopień dojrzałości, warunki środowiska i okres przechowywania [3]. Owoce nowych odmian dyni olbrzymiej zawierały więcej karotenoidów ogółem niż 'Bambino' (tab. 4). Zawartość karotenoidów ulegała zmianom w czasie przechowywania. W 'Justynce' początkowo wynosiła 9,92 mg/100 g świeżej masy, jednak uległa zmniejszeniu po 4 tygodniach przechowywania (II termin badań), a po 12 tygodniach wynosiła 9,42 mg/100 g ś.m. W mieszańcu 958 zawartość karotenoidów ogółem rosła od 4,74 mg/100 g ś.m. bezpośrednio po zbiorze do 9,39 mg/100 g ś.m. po 8 tygodniach przechowywania i dopiero w IV terminie badań stwierdzono ubytek tych składników. W odmianie Bambino, podobnie jak w 958, zawartość karotenoidów ogółem uległa zwiększeniu z 3,35 mg/100 g ś.m. do 4,60 mg/100 g ś.m. po przechowywaniu.

W karotenogenicznych warzywach, do których należy dynia, podczas dojrzewania zachodzi wzmożona biosynteza karotenoidów. W nieuszkodzonych owocach może być ona kontynuowana również po zbiorze [18]. Wg Gross [3] podczas przechowywania dyni olbrzymiej następuje wzrost zawartości karotenoidów ogółem, choć nie jest on jednakowy dla wszystkich odmian. Według niektórych źródeł tendencja wzrostowa jest największa podczas pierwszych 10 tygodni przechowywania.

Natężenie światła ma istotny wpływ na wygląd owocu. Jego niedostatek powoduje mniejszą intensywność barwy. Wpływ taki zaobserwowano m.in. w: brzoskwini [1] i papai [15]. Przy mniej wybarwionej skórce występuje również mniejsza zawartość składników karotenoidowych w miąższu. Solovchenko i wsp. [22], badając jabłka, uzyskali od strony nasłonecznionej owocu wyższą zawartość karotenoidów.

Tabela 5

Zawartość  $\beta$ -karotenu w owocach dyni olbrzymiej podczas przechowywania [mg/100g ś.m.].  
 $\beta$ -carotene content in winter squash fruits during storage [mg/100 g f.w.].

Odmiana dyni Cultivar winter squash	Strona owocu Fruit side	Termin badań / Test time							
		I termin I period		II termin II period		III termin III period		IV termin IV period	
		$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit	$\bar{x} \pm s$	Cały owoc Whole fruit
Justynka	słońce sun	3,26 ± 0,95	3,16 <sup>aA</sup>	2,10 ± 0,80	2,06 <sup>aA</sup>	5,60 ± 0,99	5,42 <sup>bA</sup>	5,80 ± 1,26	5,78 <sup>bA</sup>
	cień shadow	3,05 ± 0,42		2,02 ± 0,32		5,23 ± 1,45		5,76 ± 1,25	
958	słońce sun	1,95 ± 0,54	1,85 <sup>aB</sup>	2,55 ± 0,54	2,37 <sup>aA</sup>	5,65 ± 1,74	5,01 <sup>cA</sup>	3,77 ± 1,14	3,46 <sup>bA</sup>
	cień shadow	1,74 ± 0,67		2,19 ± 0,46		4,36 ± 1,20		3,14 ± 0,62	
Bambino	słońce sun	1,42 ± 0,43	1,27 <sup>aC</sup>	1,95 ± 0,43	1,62 <sup>aB</sup>	2,44 ± 1,33	2,20 <sup>bB</sup>	1,85 ± 0,62	1,79 <sup>abB</sup>
	cień shadow	1,12 ± 0,18		1,28 ± 0,44		1,95 ± 0,82		1,73 ± 0,52	

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

Początkowa zawartość  $\beta$ -karotenu w badanych odmianach była zróżnicowana i wynosiła w odmianie Justynka 3,16 mg/100 g ś.m., w 958 – 1,85 mg/100 g ś.m., a w tradycyjnej odmianie Bambino – 1,27 mg/100 g ś.m (tab. 5). W dwóch ostatnich odmianach w czasie przechowywania zawartość  $\beta$ -karotenu rosła do III terminu badań (8 tygodni po zbiorze), po czym następowało jej zmniejszenie. Natomiast w odmianie Justynka w II terminie badań (4 tygodnie przechowywania) zaobserwowano spadek,

a następnie wzrost zawartość  $\beta$ -karotenu. Całkowita zawartość karotenoidów w odmianach badanych przez Seroczyńską i wsp. [21] wyniosła 0,07–8,92 mg/100 g ś.m., a zawartość  $\beta$ -karotenu 0,07–6,07 mg/100 g ś.m. W badaniach Korzeniewskiej i wsp. [8] uzyskano zawartość karotenoidów ogółem od 0,3 do 13,3 mg/100 g ś.m., a  $\beta$ -karotenu od 0,17 do 7,6 mg/100 g ś.m.

Lan Hong Tran i Raymundo [9] rozważali trzy teorie syntezy  $\beta$ -karotenu. Według pierwszej teorii następują wewnętrzne przemiany poszczególnych karotenoidów, których prekursorem jest likopen. Według drugiej  $\beta$ -karoten powstaje z  $\beta$ -zeakarotenu, a według trzeciej z  $\zeta$ -karotenu na drodze cyklizacji.

Według Lee i wsp. [10] udział  $\beta$ -karotenu w owocach dyni wynosi 57,9–74,2%, według Korzeniewskiej i wsp. [8] 48,2–83,8% z kolei Hiddaka i wsp. [4] podają tylko 16,3%. W badanych odmianach udział  $\beta$ -karotenu wyniósł 45,3–47,4%.

### Wnioski

1. Zawartość suchej substancji i ekstraktu w nowych odmianach dyni olbrzymiej była ponad 2-krotnie wyższa niż w tradycyjnej odmianie Bambino.
2. Bezpośrednio po zbiorze zawartość cukrów w badanych odmianach różniła się, jednak po 12 tygodniach przechowywania nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic.
3. Dynie nowej odmiany Justynka zawierały największą zawartość karotenoidów ogółem i  $\beta$ -karotenu spośród przebadanych odmian, natomiast Bambino najmniejszą.
4. Nowe odmiany dyni olbrzymiej są bardziej wartościowe pod względem składu chemicznego niż uprawiana od dawna odmiana Bambino.
5. Nasłonecznione strony owoców dyni olbrzymiej są bogatsze w sucha substancję, ekstrakt, cukry ogółem, karotenoidy ogółem i  $\beta$ -karoten.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Corelli-Grappadelli L., Coston D.C.: Thinning pattern and light environment in peach tree canopies influence fruit quality. HortScience, 1991, **26**, 1464-1466.
- [2] Drzazga B.: Analiza techniczna w przetwórstwie owoców i warzyw. WSiP. Warszawa 1995.
- [3] Gross J.: Pigments in vegetables. Chlorophylls and carotenoids. Carotenoids distribution in vegetables. Van Nostrand Reinhold, New York 1991, pp. 225-233.
- [4] Hidaka T.T.A., Nakatsu s.: The composition and vitamin A values of the carotenoids of different colors. J. Food Biochem., 1987, **11**, 59-68.
- [5] Kays S.J.: Preharvest factors affecting appearance. Postharvest Biol. Technol., 1999, **15**, 233-247.

- [6] Kliewer M.W., Lider L.A.: Effects of day temperature and light intensity on growth and composition of *Vitis vinifera* L. fruits. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 1970, **95**, 766-769.
- [7] Korzeniewska A., Niemirowicz-Szczytt K.: Nowe półkrzaczaste odmiany dyni olbrzymiej, Ogrodnictwo, 1992, **2**, 20-21
- [8] Korzeniewska A., Sztangret J., Seroczyńska A., Niemirowicz-Szczytt K.: Zawartość związków karotenoidowych w owocach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* L.). Zeszyty Probl. Nauk Roln., 2004, **497**, 339-345.
- [9] Lang Hong Tran T., Raymundo L.: Biosynthesis of carotenoids in bittermelon at high temperature. Phytochem., 199, **52**, 275-280.
- [10] Lee C.Y., Smith N.L., Robinson R.W.: Carotenoids and vitamin A value of fresh and canned winter squashes. Nutr. Rep. Internatl., 1984, **29**, 129-133.
- [11] Lefsrud M.G., Kopsell D.A., Kopsell D.E., Curaan-Celentano J.: Air temperature affect biomass and pigment accumulation in kale and spinach grown in a controlled environment. HortScience, 2005, **40**, 2026-2030.
- [12] Lurie S., Klein J.D.: Ripening characteristics of tomatoes stored at 12 and 2°C following a prestorage heat treatment. Scientia Hortic., 1992, **51**, 55-64.
- [13] Niels M., Parkins-Veazie W.: Soluble and storage carbohydrates. In: Postharvest physiology and pathology of vegetables - ed. J.A. Bartz i J.K. Brecht. Marcel Dekker, New York 2003, pp. 361-382.
- [14] Niewczas J., Mitek M.: Zmiany zawartości sacharydów podczas przechowywania owoców dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **3 (40) Supl.**, 166-174.
- [15] Paull R.E.: Preharvest factors and the heat sensitivity of field-grown ripening papaya fruit. Postharvest Biol. Technol., 1995, **6**, 167-175.
- [16] Philips T.G.: Changes in the composition of squash during storage. Plant Physiol., 1946, **21**, 533-541.
- [17] Praca zbiorowa pod red. Niemirowicz-Szczytt K.: Hodowla roślin warzywnych. Wyd. SGGW, Warszawa 1993, s. 185-236.
- [18] Rodriguez-Amaya D.: Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed and stored foods. Universidade Estadual de Campinas, Campinas 1997, [www.mostproject.org/carrot2.pdf](http://www.mostproject.org/carrot2.pdf)
- [19] Rouphael Y., Colla G.: Growth, field, fruit quality and nutrient uptake of hydroponically cultivated zucchini squash as affected by irrigation systems and growing seasons. Sci. Hortic., 2005, **105**, 177-195.
- [20] Rutkowska U.: Wybrane metody badania składu i wartości odżywczej żywności. PZWL. Warszawa 1981, s. 302-331.
- [21] Seroczyńska A., Korzeniewska A., Sztangret-Wiśniewska J., Niemirowicz-Szczytt K., Gajewski M.: Relationship between carotenoids content and flower and fruit flesh colour of winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.). Acta Hortic., 2006, **18**, 51-61.
- [22] Solovchenko A.E., Avertcheva O.V., Merzlyak M.N.: Elevated sunlight promotes ripening-associated pigment changes in apple fruit. Postharvest Biol. Technol., 2006, **40**, 183-186.
- [23] Spotts R.A., Chen P.M.: Prestorage heat treatment for control of decay of pear fruit. Phytopath., 1987, **77**, 1578-1582.
- [24] Woolf A.B.: Direct sunlight influences postharvest temperature responses and ripening of five avocado cultivars. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 2000, **125**, 370-376.

**THE STORAGE INFLUENCE ON SELECTED CHEMICAL COMPOSITION PARAMETERS  
OF NEW VARIETIES OF THE WINTER SQUASH (*CUCURBITA MAXIMA*)**

S u m m a r y

The aim of the study was to assess the basic chemical composition of new varieties of winter squash and studying of changes in contents of these compounds during the storage.

Experimental material determined 2 new varieties (Justynka i 958) and 1 variety registered long time ago (Bambino) of winter squash. Plants were grown in the experimental field "Wolica" of Faculty of Horticulture and Landscape Architecture of Warsaw Agricultural University. Fruit harvest was conducted in 21 September 2005. Researches were conducted directly after the harvest and in three periods of storage II – after 4 weeks after the harvest, III - 8 weeks and IV period - 12 of weeks after the harvest of fruit. Pumpkins were stored at first in the folic tunnel, and next in the cold storage room at 10°C and 75% humidity.

The content of the dry matter and soluble solids in new varieties of the winter squash were over twice higher than in the traditional variety Bambino. Directly after harvest the content of total sugars in investigated varieties were differed, however for 12 weeks of storage statistically essential differences weren't noted. The highest content of total carotenoids and  $\beta$ -carotene from among given an examination varieties were marked in the new variety Justynka, instead in Bambino lowest. Sunny sides of fruit of the winter squash were contained the higher dry matter, soluble solids, total sugars, total carotenoids and  $\beta$ -carotene in comparison to shadow side of the winter squash.

**Key words:** winter squash, storage, dry matter, soluble solids, total sugars, total carotenoids,  $\beta$ -carotene





EMILIA BERNAŚ, GRAŻYNA JAWORSKA, IRENEUSZ MACIEJASZEK,  
ADRIANA BIERNACKA

## WPLYW OBRÓBKI WSTĘPNEJ, ZAMRAŻANIA I ZAMRAŻALNICZEGO SKŁADOWANIA NA TEKSTURĘ PIECZAREK

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu blanszowania lub moczenia i blanszowania, zamrażania i zamrażalniczego składowania na teksturę owocników pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.). Oceny dokonano metodą instrumentalną przy użyciu teksturometru TA XT2 (TPA, komora Kramera) oraz za pomocą analizy profilowej. Na skutek obróbki wstępnej grzybów stwierdzono istotne zmniejszenie twardości i wzrost sprężystości owocników, mierzonych instrumentalnie, oraz pojawienie się wodnistości, wykazanej w analizie profilowej. Zamrażanie i zamrażalnicze składowanie wyrobów gotowych przyczyniło się do dalszego zmniejszenia twardości (niezależnie od metody oceny), żujności, chrupkości i kruchości tkanki grzybowej oraz wzrostu jej sprężystości, spójności i wodnistości. Zastosowana przed mrożeniem obróbka wstępna miała niewielki wpływ na teksturę produktów, przy czym po 8 miesiącach przechowywania najlepszą teksturą charakteryzowały się wyroby z pieczarek blanszowanych w wodzie.

**Słowa kluczowe:** pieczarki, tekstura, obróbka wstępna, mrożenie, zamrażalnicze składowanie

### Wprowadzenie

Głównymi kryteriami jakości produktu w ocenie konsumenta są tekstura i barwa. Świeże grzyby charakteryzują się bardzo niską trwałością i w ciągu kilku dni po zbiorze znacznie pogarsza się ich jędrność oraz barwa [11], stąd celowe jest ich przetwarzanie. Jedną z metod utrwalania grzybów jest zamrażanie, przy czym zarówno podczas obróbki wstępnej (moczenia, blanszowania, nasączenia próżniowego), zamrażania, jak i zamrażalniczego składowania obserwuje się zmiany tekstury owocników [2, 7, 11]. Według Czapskiego [2] niekorzystny wpływ na teksturę grzybów ma blanszo-

---

*Dr inż. E. Bernaś, dr hab. inż. G. Jaworska, mgr inż. A. Biernacka, Katedra Surowców i Przetwórstwa Owocowo-Warzywnego, dr inż. I. Maciejaszek, Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych, Wydz. Technologii Żywności, Akademia Rolnicza ul. Balicka 122, 30-149 Kraków*

wanie, które jednak ze względu na dużą skuteczność w zapobieganiu ciemnieniu tkanki jest powszechnie stosowane. Zdaniem Steinbuch [9] zastosowanie blanszowania w wodzie przed mrożeniem pieczarek przyczynia się do wzrostu twardości i gumowatości owocników, szczególnie podczas długotrwałego zamrażalniczego składowania. Ponadto zabieg ten zmniejsza sztywność tkanki [6].

Celem pracy było określenie wpływu zróżnicowanej obróbki wstępnej, zamrażania i zamrażalniczego składowania na teksturę owocników pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.).

### Material i metody badań

Materiałem badawczym były świeże owocniki pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.) pochodzące z gospodarstwa specjalistycznego, półprodukty po zróżnicowanej obróbce wstępnej, mrożonki bezpośrednio po zamrożeniu oraz po 8 miesiącach zamrażalniczego składowania.

Świeże owocniki blanszowano w wodzie (oznaczenie próby - BW) oraz blanszowano (BKM) lub moczone i blanszowano (MBKM) w roztworze wodnym 1% kwasu mlekowego i 0,1% kwasu L-askorbinowego. Moczenie trwało 1 godz., z zachowaniem proporcji masy grzybów do użytego roztworu jak 1:2. Blanszowanie prowadzono w temp. 96-98°C w ciągu 3 min. Proporcja masy grzybów do wody lub użytego roztworu wynosiła 1:5. Pieczarki nieblanszowane (NB), jak i po blanszowaniu, krojono na paski grubości około 5 mm i po umieszczeniu w opakowaniach jednostkowych zamrażano, a następnie składowano w temp. -25°C przez 8 miesięcy.

Oceny tekstury pieczarek dokonywano metodą instrumentalną oraz za pomocą analizy profilowej. Instrumentalne badanie tekstury przeprowadzono przy użyciu teksturometru TA XT2 (Stable Micro Systems Haselemere, Surrey, Anglia) [10]. W badaniach stosowano dwa rodzaje próbników: próbnik walcowy P/45 o średnicy 45 mm do przeprowadzenia profilowej analizy tekstury (TPA) oraz zmodyfikowaną komorę Kramera, wyposażoną w 3 ostrza, umożliwiającą przecięcie badanego materiału. W celu wykonania TPA z owocników pieczarki wycinano walce o średnicy i wysokości 20 mm. Następnie próbki grzybów poddawano dwukrotnemu ścisnieniu z prędkością 1 mm/s aż do uzyskania 50% deformacji, zachowując 20-sekundowe przerwy między suwami tłoka. Z uzyskanych krzywych TPA wyznaczano parametry tekstury, takie jak: twardość [N] oraz sprężystość, spójność i żujność [N]. Do badań w komorze Kramera użyto krojonych grzybów. Pomiar polegał na przecięciu 50 g materiału umieszczonego w komorze z prędkością posuwu 1 mm/s. Z uzyskanych krzywych wyznaczano dwa parametry: twardość, wyrażoną jako wartość siły maksymalnej [N] potrzebnej do przecięcia próbki materiału, oraz pracę [mJ]. Wymienione parametry tekstury analizowano w 8 powtórzeniach w przypadku badania TPA oraz w 6 powtórzeniach w przypadku pomiaru w komorze Kramera. Profilową analizę tekstury prze-

prowadzono zgodnie z PN-ISO 11036 [8] i ISO 13299 [4]. Ocenę mrożonek po rozmrożeniu wykonywał zespół składający się z 8 osób mających kwalifikacje ekspertów zgodne z PN-ISO 8586-2 [7]. W analizie profilowej uwzględniono: twardość, kruchość, chrupkość, jędrność, wodnistość, gumowatość i śluzowatość.

W celu określenia wpływu poszczególnych etapów procesu technologicznego mrożenia i zamrażalniczego składowania na teksturę pieczarek wykonano jednoczynnikową analizę wariancji, wykorzystując test F. Snedecora i test t-Studenta, w której porównano kolejno następujące po sobie zabiegi technologiczne (surowiec – obróbka wstępna, obróbka wstępna - mrożenie, mrożenie - zamrażalnicze składowanie). Ponadto obliczono najmniejszą istotną różnicę (NIR), przy poziomie prawdopodobieństwa  $\alpha = 0,01$ .

### Wyniki i dyskusja

Po badaniu TPA twardość, sprężystość, spójność i żujność świeżych owocników pieczarki wynosiła odpowiednio 54,98 N, 0,436, 0,110 i 2,61 N (tab. 1). Pomiedzy poszczególnymi pomiarami w obrębie danej próby istniało względnie duże zróżnicowanie, bowiem stwierdzone odchylenie standardowe stanowiło 11% wartości twardości, 13% sprężystości, 16% spójności oraz 19% żujności. W celu przecięcia grzybów w komorze Kramera należało użyć siły 140,0 N i wykonać pracę 2689 mJ, przy czym stwierdzone względne wartości odchylenia standardowego były niższe niż przy pomiarze TPA, bowiem nie przekroczyły 10% (tab. 2).

W wyniku obróbki wstępnej nastąpiło istotne zmniejszenie twardości (o 39–52%) oraz wzrost spójności (o 58–68%) i z reguły sprężystości (o 16–32%) grzybów. Wykazane w przypadku żujności zmiany mieściły się w zakresie od -5 do +36%, przy czym ze względu na duże różnice pomiędzy pomiarami ( $SD = 23$ –32%) były one statystycznie nieistotne. Spośród badanych obiektów najmniejszą twardością, sprężystością i żujnością charakteryzowały się grzyby moczone i blanszowane w roztworze kwasu mlekowego i kwasu L-askorbinowego (rys. 1). Ko i wsp. [5] na skutek blanszowania w wodzie owocników zimówki aksamitnotrzonowej (*Flammulina velutipes*) również stwierdzili istotne zmniejszenie twardości oraz nieistotny wzrost sprężystości grzybów (TPA). Po pomiarze tekstury pieczarek w komorze Kramera, podobnie jak po badaniu TPA, również wykazano istotne zmniejszenie twardości owocników, a zmiany w stosunku do surowca wynosiły 39–45%. Ponadto stwierdzono, że przecięcie grzybów poddanych obróbce wstępnej wymaga mniejszych o 66–69% nakładów pracy niż to obserwowano w przypadku owocników świeżych (tab. 2). Zmiany tekstury na skutek obróbki wstępnej pieczarek stwierdził także Czapski [2]. Cytowany autor stosując do pomiaru twardości grzybów komorę Kramera typu CS-1 zaobserwował, podobnie jak autorzy pracy, zmniejszenie twardości owocników o około 40%. Z kolei Zivanovic i Buescher [11] wykorzystując do pomiaru jędrności pieczarek (określonej jako siła

potrzebna do przebicia tkanki) igły o średnicy 2 mm, wykazali, że 8-minutowe blanszowanie grzybów we wrzącej wodzie istotnie, aż o 111%, zwiększa jędrność owocników.

Tabela 1

Wyniki pomiaru TPA pieczarek.

The results of the TPA measurement of *Agaricus bisporus*.

Rodzaj produktu Kind of product	Rodzaj obróbki wstępnej Kind of preliminary processing	Wyróżnik tekstury Texture diameter			
		Twardość Hardness	Sprężystość Springiness	Spójność Cohesiveness	Żujność Chewiness
Grzyby po obróbce wstępnej Mushrooms after preliminary processing	S	54,98±6,234	0,436±0,0580	0,110±0,0169	2,61±0,491
	BW	33,30±5,780*	0,579±0,0405*	0,174±0,0340*	3,34±0,783
	BKM	33,71±6,717*	0,570±0,0780*	0,184±0,0420*	3,55±1,131
	MBKM	26,42±3,279*	0,504±0,0960	0,185±0,0239*	2,47±0,656
Mrożonki bezpośrednio po zamrożeniu Frozen mushrooms right after freezing	NB	6,72±1,420*	0,600±0,0478*	0,611±0,0548*	2,44±0,467
	BW	5,72±1,046*	0,570±0,0630	0,592±0,0611*	1,92±0,398*
	BKM	6,01±1,342*	0,548±0,0620	0,556±0,0589*	1,80±0,328*
	MBKM	5,20±1,467*	0,521±0,0563	0,542±0,0463*	1,44±0,343*
Mrożonki po 8 miesiącach składowania Frozen mushrooms after 8 months of storage	NB	4,91±2,238*	0,476±0,0675	0,388±0,0836*	0,88±0,385*
	BW	6,39±0,853	0,589±0,0408	0,608±0,0301	2,27±0,209
	BKM	2,71±0,719*	0,573±0,1244	0,443±0,1519*	0,70±0,311*
	MBKM	4,68±1,804	0,576±0,0603	0,557±0,0675	1,47±0,504

\* różnice statystycznie istotne w porównaniu do wcześniejszego etapu oceny (surowiec - obróbka wstępna, obróbka wstępna - mrożenie, mrożenie - zamrażalnicy składowanie) / statistically significant differences in comparison to earlier stage (fresh mushrooms - preliminary treatment, preliminary treatment - freezing, freezing - refrigerated storage);

$\alpha = 0,01$ ; S - świeże grzyby / fresh mushrooms; NB - brak blanszowania / not blanching; BW - blanszowanie w wodzie / blanching in water; BKM - blanszowanie w roztworze 1% kwasu mlekowego i 0,1% kwasu L-askorbinowego / blanching in 1% lactic acid and 0,1% L-ascorbic acid solution; MBKM - moczenie i następnie blanszowanie w roztworze 1% kwasu mlekowego i 0,1% kwasu L-askorbinowego / soaking and blanching in 1% lactic acid and 0,1% L-ascorbic acid solution.

Na skutek zamrożenia pieczarek nastąpiło, w stosunku do grzybów po obróbce wstępnej, znaczące, o 80-88%, zmniejszenie twardości i o 7-49% żujności owocników oraz około 2,0-4,5-krotny wzrost ich spójności (TPA). Istotny wzrost sprężystości stwierdzono tylko w mrożonce z owocników nieblanszowanych, tj. o 38% w stosunku do surowca. W wyniku pomiaru tekstury grzybów w komorze Kramera stwierdzono, że mrożonki bezpośrednio po zamrożeniu, w stosunku do owocników po blanszowaniu

lub moczeniu i blanszowaniu charakteryzowały się z reguły istotnie większą – o 10–177% twardością. Ponadto, za wyjątkiem wyrobu z grzybów nieblanszowanych, do przecięcia tkanki wymagany był większy o 68–96% nakład pracy niż po obróbce wstępnej.

Tabela 2

Wyniki pomiaru tekstury pieczarek w komorze Kramera.

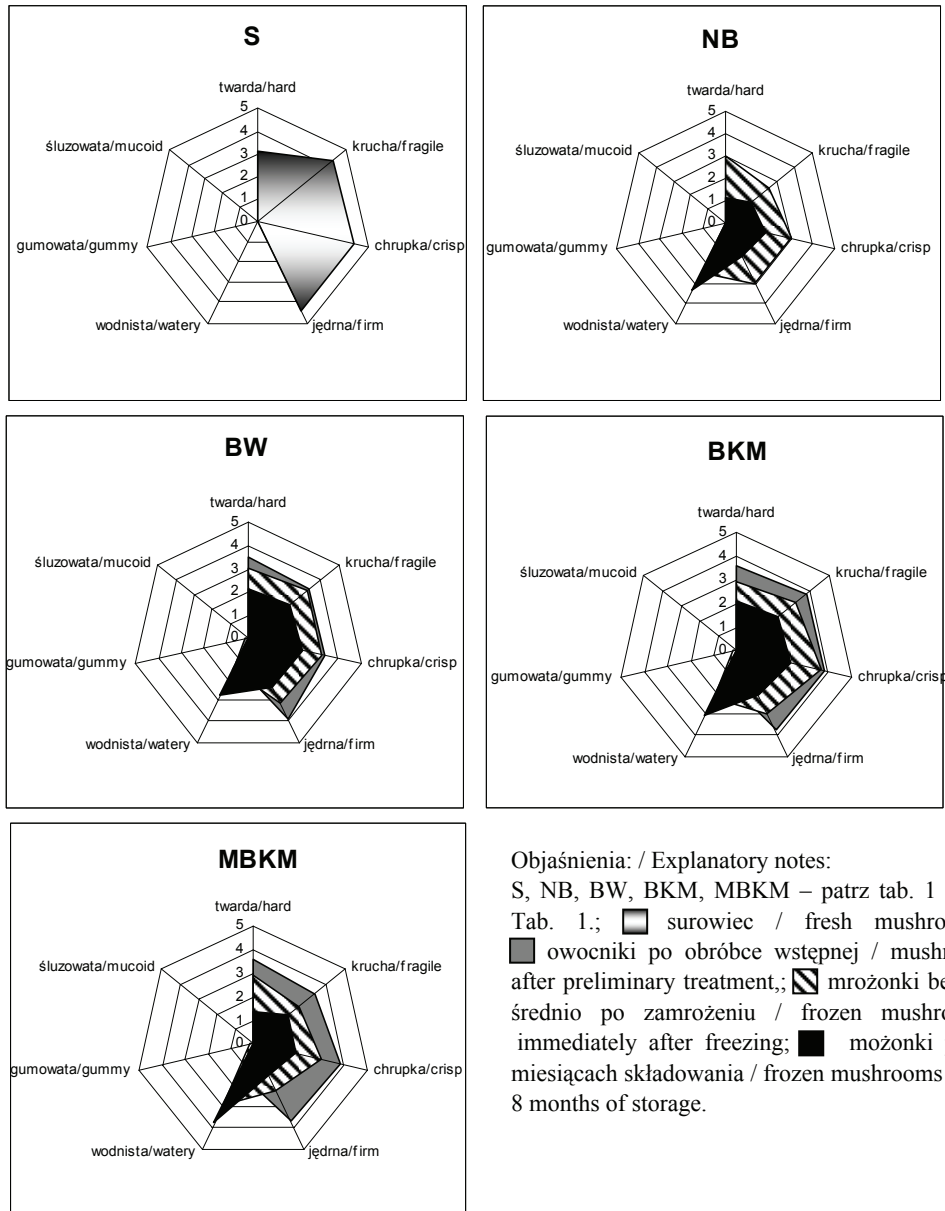
Results of the instrumental texture measurement in Kramer chamber of *Agaricus bisporus*.

Wyróżnik tekstury Texture diameter	Rodzaj produktu Kind of product	Rodzaj obróbki wstępnej Kind of preliminary processing			
		NB (S)	BW	BKM	MBKM
Siła Force [N]	OW	140,0±13,28(S)	76,5±5,36*	85,8±4,48*	78,9±6,46*
	MO	154,2±13,63	211,7±11,31*	193,0±11,40*	182,3±12,03
	M8	87,6±6,92*	97,8±9,96*	89,1±5,56*	73,6±6,49*
Praca Labour [mJ]	OW	2689±215,1*	864±63,5*	918±72,0*	821±99,5*
	MO	1540±101,4*	1695±133,2*	1542±103,3*	1538±95,0*
	M8	647±40,4*	761±68,6*	688±41,9*	623±41,2*

\*, S, NB, BW, BKM, MBKM – objaśnienia w tab.1. / explanatory notes as in Tab. 1; OW – grzyby po obróbce wstępnej / mushroom after preliminary treatment; MO – mrożonki bezpośrednio po zamrożeniu / frozen mushrooms after freezing, M8 – mrożonki po 8 miesiącach składowania / frozen mushrooms after 8 months of storage.

Po 8 miesiącach zamrażalniczego przechowywania grzybów istotne zmiany tekstury po badaniu TPA wykazano tylko w produktach z owocników nieblanszowanych oraz blanszowanych w roztworze kwasu mlekowego i kwasu L-askorbinowego. Wartości spójności oraz żujności tych pieczarek zmniejszyły się, w stosunku do pieczarek bezpośrednio po zamrożeniu, odpowiednio o 37 i 20% oraz o 64 i 61%. Twardość i sprężystość wyrobów zmieniły się tylko w niewielkim i z reguły nieistotnym stopniu (tab. 2). W wyniku badania produktów w komorze Kramera stwierdzono, niezależnie od rodzaju obróbki wstępnej, zmniejszenie wartości siły o 43–60% oraz pracy o 55–59% (tab. 1). Uzyskane w pracy wyniki są odmienne od otrzymanych przez Czapskiego [3], który po 6 miesiącach składowania nieblanszowanych oraz blanszowanych w roztworze pirosiarczynu sodu pieczarek zaobserwował, w stosunku do grzybów świeżych lub po obróbce wstępnej 12–25% wzrost twardości owocników mierzonej w komorze Kramera typ CS-1.

Analiza profilowa świeżych pieczarek wykazała, że były one umiarkowanie twarde oraz silnie kruche, chrupkie i jędrne, bowiem przyznane noty wynosiły odpowiednio 3,1 pkt, 4,3 pkt, 4,4 pkt i 4,4 pkt. W świeżych grzybach nie stwierdzono wodnistości, gumowatości ani śluzowatości (rys. 1). Na skutek blanszowania lub moczenia



Rys. 1. Wyniki profilowej analizy tekstury pieczarek.

Fig. 1. Results of the texture profile analysis of *Agaricus bisporus*.

i blanszowania stwierdzono zwiększenie twardości owocników o 0,4–0,5 pkt oraz zmniejszenie ich kruchości o 0,5–0,9 pkt, chrupkości o 0,6–1,0 pkt i jędności o 0,5–0,8 pkt, przy czym ze względu na duże zróżnicowanie wyników w obrębie danej próby

wykazane zmiany były z reguły nieistotne statystycznie. Po obróbce wstępnej w grzybach zaobserwowano ponadto pojawienie się wodnistości, którą oceniono na poziomie 1,3–1,4 pkt. W wyniku zamrożenia pieczarek nastąpiło, w stosunku do grzybów po obróbce wstępnej, zmniejszenie jędrności owocników o 0,8–1,4 pkt, a w przypadku produktów z pieczarek nieblanszowanych oraz moczonych i blanszowanych w roztworze kwasu mlekowego i kwasu L-askorbinowego zwiększenie wodnistości o 1,5–2,5 pkt. Poziom pozostałych ocenianych wyróżników zmienił się tylko w niewielkim stopniu (rys. 1).

W wyniku składowania produktów gotowych stwierdzono istotne zmniejszenie twardości, chrupkości, jędrności i z reguły kruchości pieczarek, do poziomu odpowiednio 1,1-2,1 pkt, 1,9-2,4 pkt, 1,5-2,4 pkt i 1,5-2,3 pkt. Ponadto w owocnikach wzrosła wodnistość, którą oceniono na 2,8-3,8 pkt. Zastosowana przed mrożeniem obróbka wstępna miała przeważnie niewielki wpływ na profil tekstury produktów, przy czym spośród ocenianych mrożonek większą twardością, kruchością, chrupkością i jędrnością oraz jednocześnie mniejszą wodnistością charakteryzowały się wyroby z owocników tylko blanszowanych w porównaniu z grzybami nieblanszowanymi lub moczonymi i blanszowanymi (rys. 1).

### Wnioski

1. Blanszowanie lub moczenie i blanszowanie świeżych pieczarek spowodowało istotne zmniejszenie twardości oraz wzrost sprężystości owocników mierzonych instrumentalnie. W analizie profilowej wykazano pojawienie się wodnistości, wzrost twardości oraz zmniejszenie kruchości, chrupkości i jędrności.
2. Zamrażanie i zamrażalnicze składowanie produktów przyczyniło się do zmniejszenia twardości (niezależnie od metody oceny), żujności, chrupkości i kruchości owocników oraz wzrostu ich wodnistości, sprężystości i spójności.
3. Zastosowana przed mrożeniem obróbka wstępna miała niewielki wpływ na teksturę produktów, przy czym po 8 miesiącach przechowywania największą sprężystością, spójnością, żujnością, twardością, kruchością, chrupkością i jędrnością oraz najmniejszą wodnistością charakteryzowały się wyroby z pieczarek blanszowanych w wodzie.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Coşkuner Y., Özdemir Y.: Acid and EDTA blanching effects on the essential element content of mushrooms (*Agaricus bisporus*). J. Sci. Food Agric, 2000, **80** (14), 2074-2076.



- [2] Czapski J.: Wpływ niektórych operacji technologicznych na wydajność i jakość pieczarek blanszowanych i składowanych w zalewie. *Biul. Warz.*, 1994, **42**, 101-119.
- [3] Czapski J.: Badania jakości mrożonych pieczarek i metod ograniczających ich ciemnienie oraz pozostałości dwutlenku siarki. Cz. II. Wpływ krótkotrwałego blanszowania na jakość mrożonych pieczarek w odniesieniu do jakości grzybów bez obróbki termicznej. *Biul. Warz.*, 1995, **43**, 109-119.
- [4] ISO 13299.: 2003. Sensory analysis. Methodology. General guidance for establishing a sensory profile.
- [5] Ko W.-C., Liu W.-C., Tsang Y.-T., Hsieh C.-W.: Kinetics of winter mushrooms (*Flammulina velutipes*) microstructure and quality during thermal processing. *J. Food Eng.*, 2007, **81** (3), 587-598.
- [6] Matser A.M., Knott E.R., Teunissen P.G.M., Bertels P.V.: Effects of high isostatic pressure on mushrooms. *J. Food Eng.*, 2000, **45**, 11-16.
- [7] PN-ISO 8586-2.: 1996. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Eksperti.
- [8] PN-ISO 11036.: 1999. Analiza sensoryczna. Profilowanie tekstury.
- [9] Steinbuch E.: Quality retention of unblanched frozen vegetables by vacuum packing. I. Mushrooms. *J. Food Technol.*, 1979, **14** (3), 321-323.
- [10] Surmacka-Szcześniak A.: Classification of textural characteristics. *J. Food Sci.*, 1963, **28**, 385-389.
- [11] Zivanovic S., Buescher B.: Changes in mushroom texture and cell wall composition affected by thermal processing. *J. Food Sci.*, 2004, **69** (1), SNQ44-SNQ49.

#### THE INFLUENCE OF PRELIMINARY TREATMENT, FREEZING AND FROZEN STORAGE ON *AGARICUS BISPORUS* TEXTURE

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

The aim of the present research was to evaluate the effect of blanching, soaking and then blanching, freezing and frozen storage on the texture of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing mushrooms. The evaluation was made by instrumental methods using TA-XT2 Texture Analyzer and by texture profile analysis (TPA, a Kramer-shear chamber). The preliminary processing of mushrooms resulted in significantly lower hardness and in higher springiness of pilei as well as watery texture showed in profile analysis. Freezing and frozen storage of final products led to the further decrease in hardness (independently of the evaluation method applied), chewiness, crispness and fragility of mushroom tissue, while springiness, cohesiveness and watery texture increased. Preliminary treatment applied before freezing had an insignificant effect on products texture; however, after 8 months, the best texture was observed for products from *Agaricus bisporus* blanched in water.

**Key words:** *Agaricus bisporus*, texture, edible mushrooms, preliminary treatment, freezing, frozen storage





ARKADIUSZ SZTERK, PIOTR PAWEŁ LEWICKI

## **BADANIE STABILNOŚCI $\beta$ -KAROTENU NA NOŚNIKACH STAŁYCH**

### Streszczenie

Naturalne dodatki do żywności, takie jak barwniki, zyskują coraz większe grono zwolenników wśród producentów i konsumentów żywności. Dzieje się tak z powodu rosnącej wiedzy na temat dodatków do żywności, zwłaszcza tych naturalnych.  $\beta$ -karoten wykazuje wrażliwość na światło, temperaturę i czynniki utleniające. W celu zwiększenia trwałości tego barwnika podejmowane są próby stosowania naturalnych przeciwutleniaczy, zamykania produktów w specjalnych opakowaniach np. z atmosferą gazów obojętnych, nie przezroczystych i inne. Stosuje się różnego rodzaju zabiegi technologiczne w celu zapobiegania degradacji barwnika podczas procesu produkcyjnego.

W pracy podjęto próbę zaadsorbowania i osadzenia  $\beta$ -karotenu na różnych nośnikach celem zwiększenia jego stabilności oksydacyjnej.

Proces sorpcji badano stosując metodę spektrofotometryczną. Oznaczano stężenie  $\beta$ -karotenu w roztworze przed oraz po procesie sorpcji. Nie stwierdzono różnic w stężeniach  $\beta$ -karotenu, co dowodzi, że nie ma on zdolności sorpcyjnych na badanych celulozach i skrobi. Podjęto więc próbę osadzenia barwnika na wybranych celulozach i skrobi. Do roztworu  $\beta$ -karotenu wprowadzano zawsze stałą ilość odpowiedniego nośnika, a następnie odparowywano rozpuszczalnik, stosując destylację pod próżnią. Karotenoidy osadzone na nośnikach przenoszono do butelek i poddawano procesowi kondycjonowania w suszarce próżniowej. Badano stężenie  $\beta$ -karotenu na tych nośnikach metodą spektrofotometryczną w ciągu dwóch tygodni. Próbkę przechowywano w eksykatorach z  $H_2O$  ( $a_w = 1$ ),  $MgCl_2$  ( $a_w = 0,329$ ) oraz  $CaCl_2$  ( $a_w = 0$ ) przy swobodnym dostępie światła, tlenu i w temperaturze pokojowej. Stwierdzono korzystny wpływ wody na stabilność  $\beta$ -karotenu osadzonego na różnych nośnikach. Ze wzrostem aktywności wody środowiska wzrastała stabilność barwy. Jednocześnie stwierdzono, że rodzaj nośnika odgrywa istotną rolę w szybkości rozpadu  $\beta$ -karotenu. Wpływ rodzaju nośnika był statystycznie istotny przy  $a_w = 1$ . Największą stabilność  $\beta$ -karotenu uzyskano przy użyciu celulozy mikrokrystalicznej oraz różnych błonników pszennych.  $\beta$ -karoten ulegał rozpadowi najszybciej po osadzeniu go na skrobi ziemniaczanej.

**Słowa kluczowe:**  $\beta$ -karoten, aktywność wody, stabilność barwy

## Wstęp

$\beta$ -karoten jest jednym z tych barwników, który nadaje warzywom i owocom barwę od żółtej do pomarańczowej. Powszechnie występuje w świecie roślin i zwierząt [13].

$\beta$ -karoten jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania organizmów ssaków. Poświęcono wiele prac fotofizycznym, fotochemicznym, biochemicznym i przeciwutleniającym właściwościom karotenoidów.  $\beta$ -karoten jest najaktywniejszą prowitaminą witaminy A [13]. Jest nierozpuszczalny w wodzie, ale rozpuszcza się dobrze w rozpuszczalnikach niepolarnych lub mało polarnych [13]. Bardzo łatwo ulega utlenieniu pod wpływem tlenu atmosferycznego [6, 19]. Szybkość rozpadu  $\beta$ -karotenu zależy od wielu czynników. Najważniejsze to: obecność tlenu, dostępność światła [4, 26], temperatura przechowywania [6, 4, 26], obecność rodników [6], proces technologiczny otrzymywania barwnika [21], rodzaj zastosowanego nośnika [21, 25] oraz zawartość wody w środowisku podczas przechowywania preparatów  $\beta$ -karotenu [25]. W latach 70. XX w. badano dość intensywnie wpływ wody na stabilność oksydacyjną lipidów. Duża aktywność wody podczas przechowywania różnych lipidów, w tym olejów roślinnych i rybnych, przyczyniała się do wydłużenia ich stabilności oksydacyjnej [11, 10, 2].

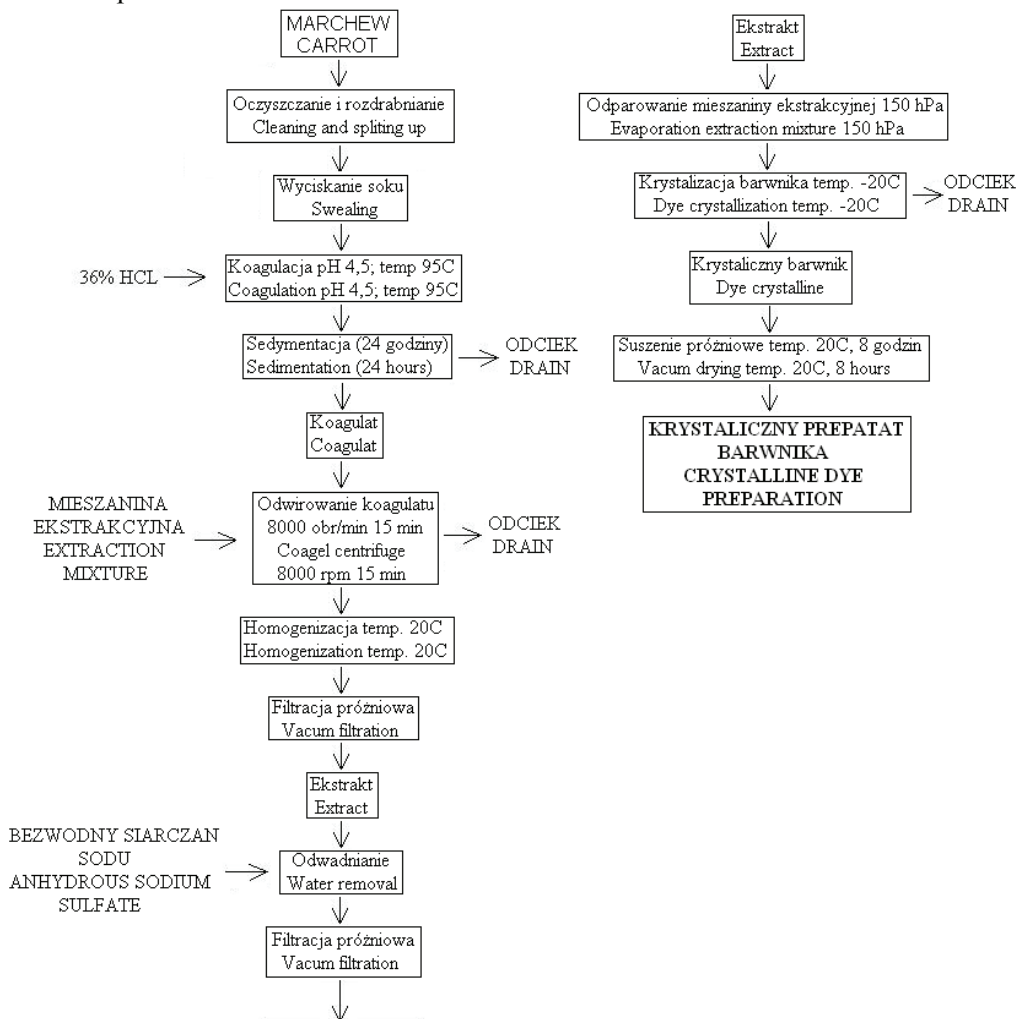
Na podstawie przesłanek o wpływie  $a_w$  na stabilność oksydacyjną lipidów celem pracy było określenie wpływu  $a_w$  na stabilność  $\beta$ -karotenu osadzonego na różnych nośnikach spożywczych.

## Materiały i metody badań

Do badań użyto celulozy mikrokrystalicznej firmy MERCK, błonnik celulozowy PF-90, błonnik pszenny WF-30, błonnik pszenny WF-90, błonnik pszenny WF-200 oraz skrobię ziemniaczaną firmy Libra Polska.

Preparat  $\beta$ -karotenu otrzymywano z marchwi odmiany karotka. Wyciskano sok z marchwi przy użyciu domowej sokowirówki, następnie poddawano go koagulacji stężonym kwasem solnym, podgrzewano do temp. ok. 95°C. Po tym procesie prowadzono sedymentację w temperaturze bliskiej 0°C. Koagulat wirowano w wirówce laboratoryjnej a, następnie ekstarhowano z niego  $\beta$ -karoten mieszaniną ekstrakcyjną eter naftowy : aceton 1 : 1 v/v. Otrzymany ekstrakt poddawano filtracji próżniowej i odwadnianiu chemicznemu. Mieszaninę ekstrakcyjną odparowywano pod próżnią, stosując laboratoryjną wyparkę próżniową do nieznacznej objętości próbki. Następnie krystalizowano  $\beta$ -karoten w temp. -20°C. Kryształki  $\beta$ -karotenu oddzielano na sączku bibułowym i suszono w laboratoryjnej suszarce próżniowej. Preparat barwnika przechowywano w temp -20°C w brązowych szczelnie zamkniętych buteleczkach szklanych. Schemat technologiczny przedstawiono na rys 1.

Roztwór  $\beta$ -karotenu otrzymywano przez rozpuszczenie 500 mg barwnika w 1 dm<sup>3</sup> mieszaniny eter naftowy : aceton 1 : 1 v/v. Roztwór przechowywano max. 2 tygodnie w temp -20°C.



Rys. 1. Schemat technologiczny otrzymywania preparatu  $\beta$ -karotenu.

Fig. 1. Technological process preparing of  $\beta$ -karotene preparation.

Sorpcję  $\beta$ -karotenu prowadzono na wyżej wymienionych nośnikach stałych. Do kolb płaskodennych ze szlifem o pojemności 250 cm<sup>3</sup> wprowadzano po 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 oraz 3,0 g odpowiedniego adsorbentu. Do każdej kolby z adsorbentem dodawano po 20 cm<sup>3</sup> roztworu  $\beta$ -karotenu. Kolby podłączano do chłodzińców. Sorpcję intensyfikowano poprzez intensywne mieszanie na maksymalnie najwyższych obrotach, jakie

uzyskano w laboratoryjnym mieszadle magnetycznym. Proces prowadzono przez 30 min. Po 30 min wyłączano mieszadło i pozostawiano próbki na 10 min w celu sedymentacji cząstek stałych. Pobierano 0,5 cm<sup>3</sup> klarownego roztworu  $\beta$ -karotenu do kolby o pojemności 50 cm<sup>3</sup> i uzupełniano do kreski. Oznaczano zawartość  $\beta$ -karotenu metodą spektrofotometryczną [4] przed i po procesie sorpcji, a z różnicy określano ilość zaadsorbowanego barwnika na nośniku stałym.

Osadzanie  $\beta$ -karotenu prowadzono na tych samych nośnikach, stosując następujący proces. Do kolb płaskodennych ze szlifem o pojemności 250 cm<sup>3</sup> wprowadzano po 10 g odpowiedniego nośnika stałego, a następnie dodawano po 50 cm<sup>3</sup> roztworu  $\beta$ -karotenu (500 mg/dm<sup>3</sup>). Wprowadzano magnetyczny element mieszający do każdej z kolb. Po zakorkowaniu kolb prowadzono mieszanie około 10 min w ciemnym miejscu w temp. pokojowej (20 ± 3°C). Zawartość kolb ilościowo przenoszono do wyparki próżniowej i odparowywano rozpuszczalnik pod ciśnieniem 150 hPa. Proszek karotenoidowy przenoszono do butelek o pojemności 50 cm<sup>3</sup> i umieszczano je w laboratoryjnej suszarce próżniowej celem całkowitego usunięcia rozpuszczalnika (kondycjonowanie). Suszenie prowadzono w temp. pokojowej (20 ± 3°C) w ciągu ~8 godz. Po kondycjonowaniu butelki umieszczano w ekzykatorach zawierających CaCl<sub>2</sub> ( $a_w \sim 0$ ), MgCl<sub>2</sub> ( $a_w = 0,329$ ) oraz H<sub>2</sub>O ( $a_w = 1$ ). W ekzykatorze z wodą dodatkowo umieszczono tymol, aby zapobiec ewentualnemu pleśnieniu próbek. Próbki przechowywano przez 12 dni, mierząc stężenie  $\beta$ -karotenu metodą spektrofotometryczną [4] co 2 dni.

Krzywą wzorcową do wyznaczania stężenia  $\beta$ -karotenu sporządzono stosując otrzymany krystaliczny  $\beta$ -karoten. Sporządzono roztwory ze znaną ilością barwnika tak, aby absorbancja tych roztworów była w granicach 0,055 – 0,980. Uzyskano następujące równanie  $y = 0,174x + 0,0099$ ;  $y$  – wartość absorbancji w przedziale 0,055 – 0,980,  $x$  – stężenie barwnika w  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ .

Wyznaczenie porowatości polegało na zmierzeniu całkowitej objętości nośnika oraz objętości nośnika bez przestrzeni wolnej. Do wyznaczenia objętości nośnika bez przestrzeni wolnych zastosowano wykalibrowany cylinder oraz urządzenie ubijające nośnik w cylindrze. Ubijanie prowadzono z częstotliwością 3 Hz do momentu osiągnięcia 1000 uderzeń. Porowatość względną obliczano ze wzoru:  $\varepsilon = V_c/V_n$ , w którym  $\varepsilon$  – porowatość względna  $V_c$  – objętość całkowita (przed ubiciem – 200 cm<sup>3</sup>)  $V_n$  – objętość nośnika (po ubiciu).

Czas połowicznego rozpadu wyliczano na podstawie równania regresji obliczono w programie statystycznym Statgraphics 4.1. Równanie opisujące rozpad barwnika ma postać  $y = at + b$ , gdzie  $y$  – to stężenie  $\beta$ -karotenu wyrażone w mg/g proszku,  $t$  – czas przechowywania (dni). Czas połowicznego rozpadu barwnika obliczano podstawiając za  $y$  połowę zawartości początkowej  $\beta$ -karotenu. Obliczenie stałej szybkości reakcji  $K$  rozpadu  $\beta$ -karotenu przeprowadzono stosując następujące równanie:  $K = (CA_0 - CA)/T$ ,

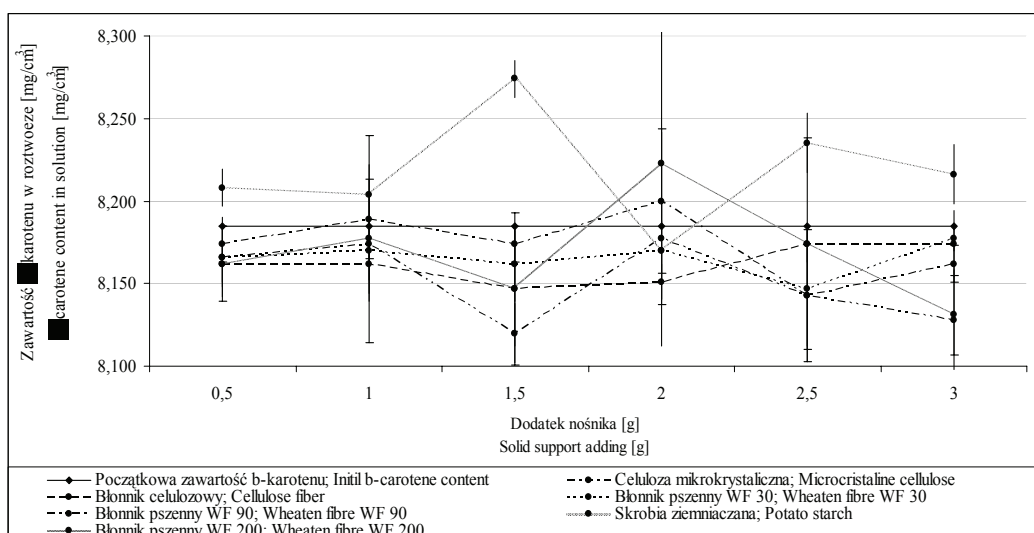
gdzie  $K$  – stała szybkości rozpadu  $\beta$ -karotenu [mg/dzień],  $CA_0$  i  $CA$  – początkowa i końcowa zawartość  $\beta$ -karotenu,  $T$  – czas przechowywania próbek (12 dni).

Analizę statystyczną wyników prowadzono przy użyciu programu statystycznego Statgraphics (Statistical Graphics Corporations), stosując wieloczynnikową analizę wariancji (multi-factor ANOVA), obliczając funkcję regresji w celu wyznaczenia czasu połowicznego rozpadu  $\beta$ -karotenu oraz wieloczynnikowy test porównawczy (multiple – sample comparison test). Opracowanie statystyczne zostało przedstawione w tabelach za pomocą indeksów literowych oraz na wykresach za pomocą przedziałów graficznych. Każda litera jest przyporządkowana jednej grupie homogennej. Badania wykonywano w 3 powtórzeniach. Wyniki w poszczególnych grupach homogennych nie różnią się od siebie przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Na wybranych nośnikach spożywczych badano właściwości sorpcyjne  $\beta$ -karotenu. Wyniki przedstawiono na rys. 2. oraz w tab. 1.

Na rys. 2. przedstawiono krzywe obrazujące zmiany stężenia  $\beta$ -karotenu w roztworze przy zastosowaniu różnych nośników i ich ilości. W tab. 1. zamieszczono stężenia  $\beta$ -karotenu w roztworze po procesie sorpcji i przeprowadzono analizę statystyczną (wieloczynnikową analizę wariancji) w celu zbadania, czy rodzaj nośnika i jego ilość ma wpływ na proces sorpcji barwnika na wybranych sorbentach.



Rys. 2. Sorpcja  $\beta$ -karotenu na różnych nośnikach spożywczych.

Fig. 2. Sorption of  $\beta$ -carotene on various solid food supports.

Z przeprowadzonych badań wynika, że żaden z powyższych nośników nie był dobrym adsorbentem w stosunku do  $\beta$ -karotenu. Stężenie barwnika w roztworze statystycznie nie uległo zmianie lub zmieniło się bardzo nieznacznie. Ogólnie można stwierdzić, że  $\beta$ -karoten nie uległa sorpcji na tych nośnikach (tab. 1. i rys. 2.).

Tabela 1

Wpływ rodzaju nośnika oraz jego ilości na sorpcję  $\beta$ -karotenu z roztworu.

Influence of different solid supports and their amounts on  $\beta$ -carotene sorption from solution.

Dodatek nośnika Solid suport adding [g]	Początkowa zawartość $\beta$ -karotenu w roztworze przed sorpcją Initial $\beta$ -carotene content in solution before sorption [mg/cm <sup>3</sup> ]	Rodzaj nośnika i zawartość $\beta$ -karotenu w roztworze po procesie sorpcji Kind of solid support and $\beta$ -carotene content in solution after sorption [mg/cm <sup>3</sup> ]					
		CMC <sup>a</sup>	PF-90 <sup>a</sup>	WF-30 <sup>a</sup>	WF-90 <sup>a</sup>	WF-200 <sup>a</sup>	S <sup>b</sup>
0,5 <sup>ab</sup>	8,185	8,174	8,162	8,166	8,166	8,162	8,208
1,0 <sup>b</sup>	8,185	8,189	8,162	8,170	8,174	8,177	8,204
1,5 <sup>a</sup>	8,185	8,174	8,147	8,162	8,120	8,147	8,274
2,0 <sup>b</sup>	8,185	8,200	8,151	8,170	8,177	8,223	8,170
2,5 <sup>ab</sup>	8,185	8,143	8,174	8,147	8,143	8,174	8,235
3,0 <sup>ab</sup>	8,185	8,162	8,174	8,177	8,128	8,131	8,216

CMC: celuloza mikrokrystaliczna / Microcrystalline cellulose, PF – 90: błonnik celulozowy / Cellulose fiber  $\phi < 90 \mu\text{m}$ , WF – 30: błonnik pszenny / Wheaten fibre  $\phi < 30 \mu\text{m}$ , WF – 90: błonnik pszenny / Wheaten fibre  $\phi < 90 \mu\text{m}$ , WF – 200: błonnik pszenny / Wheaten fibre  $\phi < 200 \mu\text{m}$ , S: skrobia ziemniaczana / Potato starch;

a – b: wartości średnie oznaczone różnymi indeksami różnią się między sobą statystycznie istotnie ( $\alpha = 0,05$ ),

a – b: mean values denoted by the different indices differ statistically significantly from each other ( $\alpha = 0.05$ ).

Uzyskane wyniki są zgodne z danymi literaturowymi, według których celuloza i skrobia mają zdolność adsorbowania na swojej powierzchni związków polarnych np. aminokwasów, oraz że nie adsorbują się na ich powierzchni związki apolarne [20].

Ze względu na to, że  $\beta$ -karoten nie uległ sorpcji na badanych celulozach i skrobi, podjęto próbę osadzenia go na tych samych nośnikach, których używano do badania procesu sorpcji.

W tab. 2. przedstawiono czas połowicznego zaniku barwnika oraz szybkości reakcji rozpadu  $\beta$ -karotenu z uwzględnieniem poszczególnych  $a_w$  oraz nośników. Za-

mieszczono średnią szybkość reakcji dla danej  $a_w$  w celu uwidocznienia, jak  $a_w$  wpływa na średnią szybkość reakcji.

Na podstawie wyników zamieszczonych w tab. 2. stwierdzono, że aktywność wody powyżej  $a_w = 0,329$  w sposób statystycznie istotny wpłynęła na stabilność oksydacyjną  $\beta$ -karotenu oraz na szybkość jego rozpadu. Stwierdzono również, że aktywność wody w przedziale  $0,0-0,329$  praktycznie nie wpływała na stabilność  $\beta$ -karotenu. Barwnik wykazywał największą trwałość, a tym samym najwolniej uległ rozpadowi, przy aktywności wody  $a_w = 1$ . Zmniejszanie aktywności wody przyczyniło się do zmniejszenia stabilności  $\beta$ -karotenu, a tym samym do zwiększenia względnej szybkości jego rozpadu. Maksimum osiągnięto przy  $a_w \sim 0$  i  $a_w = 0,329$ .

Uzyskane wyniki są częściowo zgodne z danymi literaturowymi. Bórquez i wsp. [2] podają, że ze wzrostem aktywności wody wzrasta stabilność oksydacyjna oleju rybnego.

Labuza i Chou [12] przeprowadzili badania polegające na osadzeniu na celulozie linoleinianu z dodatkiem jonu metalu, który przyspieszał proces utleniania. Stwierdzili, że wzrost aktywności wody działał przeciwutleniająco. Retinol (witamina A) osadzony na celulozie i przechowywany przy różnych  $a_w$  wykazywał wzrost stabilności ze spadkiem  $a_w$  [16]. Badania Haralampu i Karela [8] oraz Ramakrishmana i Prancisa [9] dowiodły, że  $a_w$  w przedziale  $0,4-0,75$  nie przyczynia się do wzrostu stabilności ani nie działa przyspieszająco na rozpad  $\beta$ -karotenu w słodkich ziemniakach oraz osadzonego na celulozie. Z kolei stabilność  $\beta$ -karotenu w suszonych owocach jest największa przy  $a_w = 0,22-0,33$ .

Ze wzrostem  $a_w$  obserwowano zmniejszenie stabilności barwnika. Jednocześnie spowolnieniu ulegały reakcje nieenzymatycznego brunatnienia [1].

Na podstawie wyników badań stwierdzono, że zwiększanie aktywności wody ( $a_w = 0,3$ ) znacząco przyczyniło się do wzrostu stabilności barwnika osadzonego na różnych nośnikach spożywczych. Przeciwutleniające działanie wody może być spowodowane [12]:

- a) utrudnieniem dyfuzji tlenu do miejsc reakcji,
- b) zmniejszeniem stężenia jonów metali (efekt rozcieńczenia),
- c) wiązaniem produktów pośrednich autooksydacji,
- d) przyspieszeniem tych reakcji, których produkty mają właściwości przeciwutleniające np. w procesie ciemnienia nieenzymatycznego powstają produkty mające właściwości przeciwutleniające,
- e) możliwością tworzenia wiązań wodorowych przez wodę, która może się wiązać z grupami wodorotlenowymi mało stabilnych związków, opóźniając powstawanie rodników wodorotlenowych.

Tabela 2

Czas połowicznego rozpadu oraz szybkość rozpadu  $\beta$ -karotenu w zależności od aktywności wody ( $a_w$ ), rodzaju nośnika i porowatości względnej złoża

Water activity, kind of solid support and relative porosity on half-life time and rate of  $\beta$ -carotene degradation.

Rodzaj nośnika Kind of solid support	Równanie rozpadu Degradation equation	Czas połowicznego zaniku [dni] Half-time of degradation [days]	Stała szybkości reakcji [K=mg/dzień] Reaction speed constant [K=mg/day]	Względna porowatość złoża [ $\epsilon$ ] Relative solid porosity
$a_w \sim 1^a$ eksykator z $H_2O$ / $a_w \sim 1^a$ exiccator with $H_2O$				
Celuloza mikrokrystaliczna Microcristaline cellulose	$Y = 2,035-0,05X$	21 <sup>k</sup>	0,047	0,25
Błonnik celulozowy Cellulose fibre	$Y = 1,905-0,05X$	19 <sup>j</sup>	0,049	0,31
Błonnik pszenny WF 30 Wheaten fibre WF30	$Y = 1,999-0,06X$	16 <sup>i</sup>	0,058	0,34
Błonnik pszenny WF 90 Wheaten fibre WF 90	$Y = 1,945-0,07X$	14 <sup>h</sup>	0,060	0,36
Błonnik pszenny WF 200 Wheaten fibre WF 200	$Y = 1,999-0,06X$	17 <sup>e</sup>	0,050	0,35
Skrobia ziemniaczana Potato starch	$Y = 1,119-0,04X$	13 <sup>g</sup>	0,038	0,12
Średnio 0,050 <sup>a</sup>				
$a_w \sim 0,3^b$ eksykator z $MgCl_2$ / $a_w \sim 0,3^b$ exiccator with $MgCl_2$				
Celuloza mikrokrystaliczna Microcristaline cellulose	$Y = 1,980-0,09X$	11 <sup>ef</sup>	0,085	0,25
Błonnik celulozowy Cellulose fibre	$Y = 1,985-0,09X$	11 <sup>ef</sup>	0,084	0,31
Błonnik pszenny WF 30 Wheaten fibre WF30	$Y = 2,075-0,08X$	13 <sup>g</sup>	0,074	0,34
Błonnik pszenny WF 90 Wheaten fibre WF 90	$Y = 2,032-0,12X$	9 <sup>bc</sup>	0,11	0,36
Błonnik pszenny WF 200 Wheaten fibre WF 200	$Y = 2,215-0,11X$	11 <sup>ef</sup>	0,10	0,35
Skrobia ziemniaczana Potato starch	$Y = 1,643-0,08X$	11 <sup>ef</sup>	0,078	0,12
Średnio 0,090 <sup>b</sup>				
$a_w \sim 0^c$ eksykator z $CaCl_2$ / $a_w \sim 0^c$ exiccator with $CaCl_2$				
Celuloza mikrokrystaliczna Microcristaline cellulose	$Y = 2,053-0,11X$	10 <sup>de</sup>	0,10	0,25



Błonnik celulozowy Cellulose fibre	$Y = 2,003-0,11X$	10 <sup>de</sup>	0,10	0,31
Błonnik pszenney WF 30 Wheaten fibre WF30	$Y = 2,210-0,12X$	10 <sup>de</sup>	0,10	0,34
Błonnik pszenney WF 90 Wheaten fibre WF 90	$Y = 2,052-0,13X$	9 <sup>b</sup>	0,11	0,36
Błonnik pszenney WF 200 Wheaten fibre WF 200	$Y = 2,215-0,11X$	10 <sup>cd</sup>	0,10	0,35
Skrobia ziemniaczana Potato starch	$Y = 1,763-0,12X$	8 <sup>a</sup>	0,11	0,12
Średnio 0,10 <sup>b</sup>				

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a - k – wartości średnie oznaczone różnymi indeksami różnią się między sobą statystycznie istotnie ( $\alpha = 0,05$ ),

a - k – mean values denoted by the different indices differ statistically significantly from each other ( $\alpha = 0.05$ ).

Celuloza i skrobia występują w postaci krystaliczno-amorficznej. Jest to układ dwufazowy, w którym jedną fazę stanowi substancja krystaliczna, a drugą bezpostaciowa (amorficzna) [16]. W przypadku zwiększania aktywności wody następuje pewna dekompozycja monopolimerów. Zmniejsza się udział fazy amorficznej [18]. Długie bezpostaciowe odcinki monopolimerów pod wpływem wody ulegają ruchom, odkrywając obszary hydrofilowe i hydrofobowe [18]. W idealnych warunkach zwijają się, tworząc zwoje przypominające helisy [23]. Wnętrze helisy jest hydrofobowe, a zewnętrzna część hydrofilowa. Jest ona otoczona cząsteczkami wody połączonymi wiązaniami wodorowymi z grupami hydroksylowymi celulozy lub skrobi [23]. Konsekwencją takich przemian może być sytuacja, w której  $\beta$ -karoten jako związek hydrofobowy będzie wpasowywał się w obszary hydrofobowe. Otoczy się łańcuchami monopolimerów celulozy bądź skrobi. Może to w jakiś sposób tłumaczyć wpływ  $a_w$  na stabilność barwnika w środowisku przy  $a_w = 1$ . Wpływ wody w przedziale  $a_w = 0-0,329$  był niewielki na zwiększenie stabilności  $\beta$ -karotenu (tab. 2.). Można przypuszczać, że ruchy tych łańcuchów przy małej zawartości wody w środowisku były niewielkie. Nie nastąpiło wystarczające odkrycie obszarów hydrofobowych. W efekcie stwierdzono brak wpływu nośnika na stabilność  $\beta$ -karotenu w tym przedziale  $a_w$ .

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że rodzaj nośnika statystycznie istotnie wpłynął na szybkość rozpadu  $\beta$ -karotenu. Najsilniejszy wpływ nośników występował przy  $a_w = 1$ , natomiast przy  $a_w = 0,329$  i  $a_w = 0$  nie było wpływu lub był on niewielki. Z badań wynika, że na stabilność wpływa również porowatość złoża.

W przypadku  $a_w = 0,329$  oraz  $a_w = 0$  czas połowicznego zaniku  $\beta$ -karotenu oraz szybkość jego rozpadu statystycznie nie zależały od rodzaju nośnika. Jest to prawdopo-

dobnie związane z właściwościami fizykochemicznymi i składem chemicznym poszczególnych błonników i skrobi.

Tak, jak pisano wyżej, zwiększanie  $a_w$  powoduje ruchy bezpostaciowych fragmentów celulozy i skrobi. Celuloza ma mniejszy udział fazy amorficznej niż skrobia [22, 23]. Mimo to stabilność barwnika przy  $a_w = 1$  jest większa na celulozie. Może to być spowodowane przemianami konformacyjnymi łańcuchów celulozy. Tworzą się specyficzne struktury przestrzenne. Prawdopodobnie  $\beta$ -karoten lepiej pasuje do struktur przestrzennych celulozy niż skrobi. Konsekwencją jest większa stabilność barwnika osadzonego na celulozie.

Wpływ nośników na stabilność  $\beta$ -karotenu można również częściowo wytłumaczyć budową chemiczną celulozy i skrobi. Skrobia jest bardziej polarna od celulozy [7, 22, 24]. Świadczą o tym: obecność dodatkowych grup fosforanowych w skrobi [17], zawartość wody związanej fizycznie, której jest zdecydowanie więcej w przypadku skrobi [14], obecność większej liczby centrów hydrofilowych. Konsekwencją jest silniejsza sorpcja wody przez skrobię niż przez celulozę [3, 5, 15, 18, 27,]. Na tej podstawie można przypuszczać, że stabilność  $\beta$ -karotenu osadzonego na celulozie będzie większa niż na skrobi, potwierdzają to wyniki doświadczenia.

Podobne efekty mogą występować w przypadku osadzenia barwnika na błonnikach używanych w doświadczeniu, które składają się w znacznej części z celulozy. Błonnik to grupa związków o charakterze polisacharydowym (celuloza, hemiceluloza, pektyny) i niepolisacharydowym (gumy). Jest elementem strukturalnym błon komórkowych [23]. Ze względu na to właściwości błonnika będą inne niż czystej celulozy. Można się spodziewać, że obecność innych składników w błonniku będzie zwiększać udział fazy bezpostaciowej oraz podnosić jego polarność - wskazuje na to obecność pektyn. Stabilność barwnika osadzonego na błonnikach jest mniejsza od celulozy, ale większa od skrobi. Większa  $a_w$  powoduje reorganizację włókien błonnika, podobnie jak w celulozie czy skrobi. Odkrywane są miejsca niepolarne, w które może wpasowywać się  $\beta$ -karoten. Liczba tych miejsc hydrofobowych może być mniejsza niż w przypadku celulozy mikrokrystalicznej. Cząsteczki  $\beta$ -karotenu mogą nie pasować do powstających przestrzeni hydrofobowych. Rezultatem jest mniejsza stabilność  $\beta$ -karotenu osadzonego na błonnikach niż na celulozie mikrokrystalicznej, ale większa niż na skrobi.

W pracy badano porowatość złoża, która była inna w przypadku różnych nośników (tab. 2.). Największą stabilność barwy uzyskano, gdy  $\beta$ -karoten osadzono na celulozie mikrokrystalicznej w  $a_w = 1$ . Czas połowicznego zaniku wynosił 21 dni, a porowatość złoża wynosiła 0,25. W przypadku błonnika pszennego WF-90 czas wynosił już tylko 14 dni, porowatość złoża 0,36. W przypadku błonnika celulozowego PF-90 czas połowicznego zaniku wynosił 19 dni, a porowatość 0,31. Czas połowicznego zaniku barwnika osadzonego na skrobi wynosił 13 dni. Z badań wynika, że ze wzrostem

porowatości złoza następowało przyspieszenie utleniania barwnika. Duża porowatość to duże wolne przestrzenie w złożu nośnika, w którym znajduje się tlen. Tlen działa utleniająco na  $\beta$ -karoten i powoduje jego niszczenie. Porowatość złoza związana jest ze średnicą lub długością włókien oraz kształtem włókien. Im wymiary są większe i cząstki mniej kształtne tym większa porowatość złoza występuje. Może następować intensyfikowanie procesu utleniania.

Reasumując można powiedzieć, że  $\beta$ -karoten wykazuje największą stabilność na nośniku o najmniejszej polarności, porowatości złoza oraz wysokiej aktywności wody.

### Wnioski

1.  $\beta$ -karoten nie ulega sorpcji na stosowanych w doświadczeniu nośnikach spożywczych tj. celulozie mikrokrystalicznej, błonniku celulozowym PF-90, błonniku pszennym WF-30, błonniku pszennym WF-90, błonniku pszennym WF-200 oraz skrobi ziemniaczanej.
2. Stabilność  $\beta$ -karotenu osadzonego na różnych nośnikach spożywczych silnie zależy od aktywności wody w otaczającym środowisku. Największą stabilność barwnik uzyskuje przy  $a_w > 0,329$ .
3. Stabilność  $\beta$ -karotenu zależy od rodzaju nośnika, na którym został osadzony przy  $a_w = 1$ . Przy  $a_w = 0,329$  oraz  $a_w = 0$  nie zauważono wpływu nośnika na stabilność barwnika.
4. Stabilność  $\beta$ -karotenu na nośnikach można uszeregować następująco: celuloza mikrokrystaliczna > błonnik celulozowy > błonnik pszenny WF 200 > Błonnik pszenny WF 30 > błonnik pszenny WF 90 > skrobia ziemniaczana.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Arya S. S., Natesan V., Vijayaraghavan P. K.: Stability of carotenoids in freeze dried papaya (*Carica papaya*). J. Food Technol., 1983, **18**, 177-181.
- [2] Bórquez R., Koller W-D., Wolf W., Spieb W. E. L.: Stability of n-3 fatty acids of fish protein concentrate during drying and storage. Lebensm. Wiss. U. Technol., 1997, **30**, 508-512.
- [3] Chirkova J., Andersons B., Anderson I.: Determination of standard isotherms of sorption of some vapors with cellulose. J. Coll. Inter. Sci., 2004, **276**, 284-289.
- [4] Cinar I.: Carotenoid pigment loss of freeze-dried plant samples under different storage conditions. Lebensm.-Wiss. U-Technol., 2004, **37**, 363-367.
- [5] Czepirski L., Komorowska-Czepirska E., Szymońska J.: Fiting of different models for water vapour sorption on potato starch granules. Applied Surface Science. 2002, **196**, 150-153.

- [6] Doering W., Cotieiou-Leventis C., Roth W. R.: Thermal interconversions among 15-cis-, 13-cis-, and all-trans- $\beta$ -carotene: kinetics, Arrhenius parameters, thermochemistry of all-trans- $\beta$ -carotene. *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 2747-2757.
- [7] Fischer K., Spange S., Fischer S., Bellmann C., Adams J.: Probing the surface polarity of native celluloses using genuine solvatochromic dyes. *Cellulose*. 2002, **9**, 31-40.
- [8] Haralampu S. G., Karel M.: Kinetic models for moisture dependence of ascorbic acid and  $\beta$ -carotene degradation in dehydrated sweet potato. *J. Food Sci.*, 1983, **48**, 1972-1973.
- [9] Krishnan T., Francis F. J.: Stability of carotenoids in model aqueous systems. *J. Food Quality*, 1979, **2**, 177-89.
- [10] Labuza T. P., Chou H. E.: Decrease of linoleate oxidation rate due to water at intermediate water activity. *J. Food Sci.*, 1974, **39**, 112-113.
- [11] Labuza T. P., Tsuyuki H., Karel M.: Kinetics of linoleate oxidation in model system. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1966, **46**, 409-416.
- [12] Labuza T. P.: Kinetics of lipid oxidation in foods. *Crit. Rev. Food Technol.*, 1971, **2**, 335-405.
- [13] Laughlin R. G., Bunke G. M., Eads C. D., Laiding W. D., Shelley J. C.: Preparation and physical characterization of pure  $\beta$ -carotene. *Chemistry and Physics of Lipids* 2001, **115**, 63-76 za Bauernfiend J. C.: Carotenoids as colorants and vitamin A precursors. Academic Press, New York 1981, pp. 1-318, 835-836.
- [14] Lewicki P. P.: Raoult's law based food water sorption isotherm. *J. Food Eng.*, 2000, **43**, 31-40.
- [15] Lewicki P. P.: Water sorption isotherms and their estimation in food model mechanical mixtures. *J. Food Eng.*, 1997, **32**, 47-68.
- [16] Manan F., Baines A., Stone J., Ryley J.: The kinetics of the loss of all-trans retinol at low and intermediate water activity in air in the dark. *Food Chemistry*, 1995, **52**, 267-243.
- [17] McPherson A. E., Jane J.: Comparison of waxy potato with other root and tuber starches. *Carbohydrate Polymers*, 1999, **40**, 57-70.
- [18] Mhraryan A., Liagostera A. P., Karmhag R., Stromme M., Ek R.: Moisture sorption by cellulose powders of varying crystallinity. *Int. J. Pharma.*, 2004, **269**, 433-442.
- [19] Mordt R. C., Walton J. C., Burton G. W., Hughes L., Ingold K. U., Lindsay D. A., Moffatt D. J.: Oxidative degradation of  $\beta$ -carotene and  $\beta$ -apo-8'-carotenal. *Tetrahedron*, 1993, **49**, 911-928.
- [20] Opieńska-Blauth J., Kraczkowski H., Brzuszkiewicz H.: *Zarys chromatografii cienkowarstwowej*. PWRiL Warszawa 1971, s. 21-34, 41-54.
- [21] Quek S. Y., Chok N. K., Swedlund P.: The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chem. Eng. Processing*, 2007, **46**, 386-392.
- [22] Richardson S., Gorton L.: Characterisation of the substituent distribution in starch and cellulose derivatives. *Anal. Chim. Acta*, 2003, **479**, 27-65.
- [23] Sikorski Z. E.: *Chemia żywności*. WNT, Warszawa 2000, s. 59-95.
- [24] Spange S., Fischer K., Prause S., Heinze T.: Empirical polarity parameters of cellulose and related materials. *Cellulose*, 2003, **10**, 201-212.
- [25] Sutter S. C., Buera M. P., Elizalde B. E.:  $\beta$ -carotene encapsulation in a mannitol matrix as affected by divalent cations and phosphate anion. *Int. J. Pharm.*, 2007, **332**, 45-54.
- [26] Tang Y. C., Chen B. H.: Pigment change of freeze-dried carotenoid powder during storage. *Food Chemistry*, 2000, **69**, 11-17.
- [27] Viollaz P. E., Rovedo C. O.: Equilibrium sorption isotherms and thermodynamic properties of starch and gluten. *J. Food Eng.*, 1999, **40**, 287-292.

STUDY ON  $\beta$ -CAROTENE STABILITY ON VARIOUS SOLID FOOD SUPPORTS

## S u m m a r y

Natural food additives, such as dyes are gaining wider and wider group of followers among producers and consumers of food. This happens because of growing knowledge of food additives, especially those natural.  $\beta$ -carotene shows susceptibility on light, temperature and peroxide factors. The usage of natural antioxidants, closing products in special bags e.g. in neutral gas atmosphere, not transparent and others improves durability of this dye. There has been different technological processes applied to prevent the dye degradation during production process.

There has been tried to observe and place  $\beta$ -carotene on different solid food supports for its oxidative stability growth. The sorption process was scrutinized by means of the spectrophotometric method. The concentration of  $\beta$ -carotene was determined both before and after sorption. No differences in the concentration of  $\beta$ -carotene were found, that proves lack of sorptive properties on the examined celluloses or starch. An attempt was made to deposit the dye on selected celluloses and starch. A constant amount of a respective carrier was added to the  $\beta$ -carotene solution, following which the solvent was evaporated by means of vacuum distillation. Carotenoids deposited on the carriers were put into bottles and conditioned in vacuum dryer. The concentrations of  $\beta$ -carotene on those carriers were measured with the use of spectrophotometric method during two weeks. The samples were stored in excitators with  $H_2O$  ( $a_w = 1$ ),  $MgCl_2$  ( $a_w = 0,3$ ),  $CaCl_2$  ( $a_w = 0$ ) with an access of light, oxygen, and at room temperature. A beneficial influence of water was discovered on the stability of  $\beta$ -carotene deposited on different carriers. With the increasing activity of the medium water the stability of colour also increased. An important correlation was also found between the kind of carrier and the rate of  $\beta$ -carotene decomposition. The influence of the type of carrier was statistically significant at  $a_w = 1$ . The greatest stability of  $\beta$ -carotene was obtained for micro-crystalline cellulose and different fibres of wheat.  $\beta$ -carotene broke down the quickest on potato starch.

**Key words:**  $\beta$ -carotene, water activity, colour stability ☒

DOROTA ZIELIŃSKA, URSZULA UZAROWICZ

## WARUNKI DOJRZEWANIA I PRZECHOWYWANIA FERMENTOWANEGO NAPOJU SOJOWEGO

### Streszczenie

Celem badań był dobór warunków dojrzewania i przechowywania fermentowanego napoju sojowego o właściwościach potencjalnie probiotycznych, biorąc pod uwagę kryterium sensoryczne i mikrobiologiczne. Zakres pracy obejmował określenie czasu dojrzewania napoju sojowego po fermentacji oraz zbadanie przeżywalności bakterii *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym, po okresie dojrzewania i podczas przechowywania w temp. 5°C przez 28 dni. W przechowywanym napoju oznaczano także kwasowość oraz określano jakość sensoryczną, w celu wyznaczenia terminu jego przydatności do spożycia.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że po fermentacji napój sojowy powinien być przechowywany w celu dojrzewania w temp. 15°C przez 48 godz. Biorąc pod uwagę liczbę bakterii probiotycznych i jakość sensoryczną, napój fermentowany może być przechowywany w temp. 5°C nie dłużej niż 12 dni.

**Słowa kluczowe:** bakterie probiotyczne, fermentowany napój sojowy, przechowywanie

### Wprowadzenie

Żywność probiotyczna, to żywność zawierająca w swym składzie żywe kultury bakterii szczepów starannie wyselekcjonowanych, zwanych probiotykami, która dzięki ich obecności wpływa korzystnie na zdrowie, samopoczucie konsumenta, a także może zmniejszać ryzyko niektórych chorób cywilizacyjnych. Natomiast bakterie probiotyczne to żywe mikroorganizmy, które po podaniu w odpowiedniej liczbie zapewniają korzyści zdrowotne gospodarzowi [1]. Pożądane jest, aby liczba żywych bakterii w 1 g produktu spożywanego wynosiła około  $10^8$  komórek, wtedy jego 100-gramowa porcja zapewni odpowiednią liczbę bakterii wystarczającą do wywołania efektu zdrowotnego [8].

---

*Mgr inż. D. Zielińska, mgr inż. U. Uzarowicz, Zakład Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C 02-776 Warszawa*

Asortyment produktów probiotycznych poszerza się o inne produkty niż mleczne, np.: warzywne produkty fermentowane, w postaci soków czy sałatek, które mogą stanowić alternatywę uzupełnienia mikroflory przewodu pokarmowego dla ludzi nietolerujących laktozy i białek mleka, u których rozwój i obecność poszczególnych grup bakterii w przewodzie pokarmowym zostały zachwiane poprzez działanie różnych czynników [4].

Badania nad tego rodzaju produktami prowadzone są m.in. w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności (UWM w Olsztynie), gdzie podejmowano próby fermentowania soków i sałatek warzywnych bakteriami probiotycznymi, stosując szczepy z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* suplementowane *Propionibacterium* [16]. W Zakładzie Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności SGGW również zaprojektowano sok marchwiowy fermentowany szczepem bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* CH-2, który cechował się wysoką pożądanością sensoryczną [15]. Innymi interesującymi produktami są fermentowane napoje z soi i ryżu, cechujące się bezpośrednio po wytworzeniu wysoką liczebnością bakterii kwasu mlekowego [12].

Nowym kierunkiem są próby wykorzystania soi i jej przetworów do fermentacji. Przykładami fermentowanych tradycyjnych produktów sojowych są m.in.: tempeh, miso, natto czy kinema [11]. Interesującym wyrobem, niedostępnym na rynku polskim, jest jogurt sojowy produkowany przez fermentację napoju sojowego bakteriami kwasu mlekowego. Przy produkcji wykorzystuje się różne szczepy z gatunku *Lactobacillus acidophilus*, które fermentując rafinozę i sacharozę, nadają mu specyficzny, pożądany zapach oraz słodko-kwaśny smak [5].

W niniejszej pracy podjęto próbę zaprojektowania nowego produktu, tj. fermentowanego napoju sojowego o właściwościach probiotycznych.

Celem przeprowadzonych badań, będących częścią szerszych badań, jest dobór warunków dojrzewania i przechowywania fermentowanego napoju sojowego.

### **Material i metody badań**

Material do badań był napój sojowy naturalny firmy Polgrunt słodzony sacharozą oraz szczep o właściwościach potencjalnie probiotycznych z kolekcji szczepów Politechniki Łódzkiej, z gatunku *Lactobacillus casei*. Do napoju dodawano 24-godziną hodowlę, tak aby po zaszczepieniu liczba bakterii wynosiła średnio 5,02 log jtk/ml i poddawano procesowi fermentacji przez 6 godz. w temp. 37°C. Optymalne warunki fermentacji ustalono we wcześniejszych badaniach [18].

Badanie dotyczące doboru warunków dojrzewania napoju sojowego po fermentacji prowadzono w 10 powtórzeniach, w dwóch niezależnych doświadczeniach. Próbkę fermentowanego napoju sojowego przechowywano przez 8 dni w temp. 10 i 15°C.



Liczbę bakterii kwasu mlekowego i jakość sensoryczną określano w odstępach 48 godz.

Liczbę bakterii kwasu mlekowego określano metodą wglębną, stosując podłoże wybiórcze – agar MRS firmy Biokar Diagnostic. Na płytki Petriego wylewano po 1 ml z trzech kolejnych rozcieńczeń w dwóch powtórzeniach. Inkubację prowadzono przez 72 godz. w temp. 30°C wg PN-ISO [13].

Jakość sensoryczną fermentowanego napoju sojowego podczas dojrzewania (po fermentacji) badano metodą skalowania. Oceniano pożądalność zapachu, smaku oraz jakość ogólną napoju. W ocenach wykorzystano tzw. nieustrukturywaną skalę graficzną [0-10 j.u.]. W badaniu brały udział 30-osobowe zespoły przeszkolone w zakresie metod oceny sensorycznej.

Badania przechowalnicze fermentowanego napoju sojowego prowadzono w 10 powtórzeniach, w dwóch niezależnych doświadczeniach. Próbkę fermentowanego napoju sojowego po okresie dojrzewania (2 dni) przechowywano w temp. 5°C przez 28 dni i w odstępach 4-dniowych oceniano jakość sensoryczną, oznaczano liczbę bakterii kwasu mlekowego oraz kwasowość napoju.

Liczbę bakterii kwasu mlekowego określano wg PN-ISO [13].

Pomiaru pH dokonywano aparatem ELMETRON CP551, z uwzględnieniem temperatury napoju. Pomiar kwasowości miareczkowej prowadzono wg PN [14] i obliczono kwasowość w stopniach Soxhleeta-Henkla.

Ocenę sensoryczną napoju podczas przechowywania wykonywano przy użyciu metody Ilościowej Analizy Opisowej [QDA]. Ocenę wykonał 10-osobowy zespół biegły w tego typu ocenach. Wyróżniki do oceny zostały wybrane, przedyskutowane i zdefiniowane w dyskusji panelowej, a następnie zweryfikowane po ocenie wstępnej [7]. Wybrano cztery wyróżniki zapachu (waniliowy, słodki, fermentacji mlekowej, mleczny), trzy wyróżniki konsystencji (gęstość, gładkość, lepkość), pięć wyróżników smaku (fermentacji mlekowej, kwaśny, słodki, gorzki, mączny). Na podstawie ww. wyróżników i ich wzajemnego zharmonizowania określano jakość ogólną próbek napoju [10].

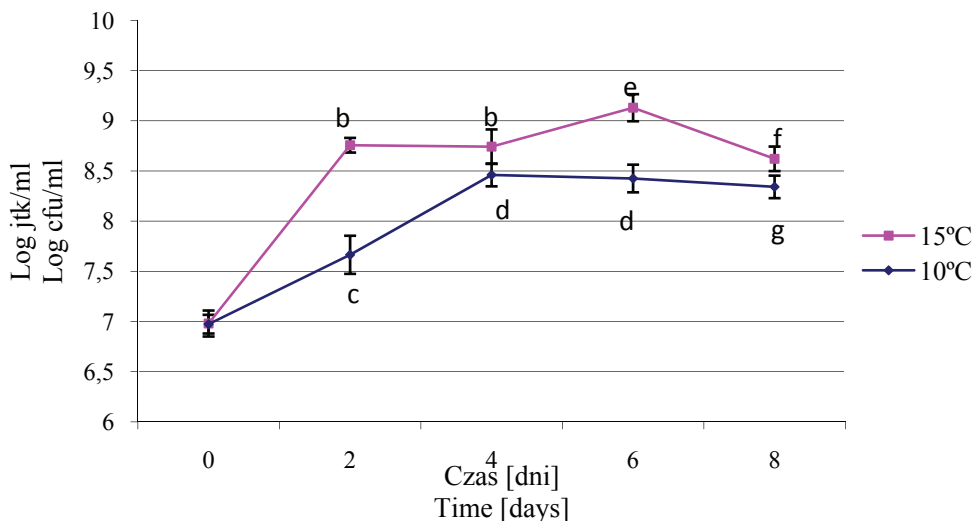
Analiza statystyczna obejmowała jednoczynnikową analizę wariancji, a do określenia różnic między wartościami średnimi zastosowano test Tukey'a.

## Wyniki i dyskusja

W czasie dojrzewania fermentowanego napoju sojowego w temp. 15°C najintensywniejszy wzrost liczby bakterii *L. casei* KN291 stwierdzono do 2. dnia doświadczenia, natomiast w napoju przechowywanym w temp. 10°C do 4. dnia (rys. 1). W kolejnych dniach następowało stabilizowanie się liczby bakterii. Fazę dojrzewania po fermentacji wprowadzono celowo, aby zakończyć fazę logarytmicznego wzrostu bakterii



probiotycznych w napoju na etapie produkcji, gdyż pożądane jest, aby gotowy produkt zawierał stałą liczbę bakterii przez cały okres przydatności do spożycia.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b – wartości średnie oznaczone tymi samymi indeksami nie różnią się między sobą statystycznie istotnie ( $\alpha = 0,05$ ) / mean values denoted by the same superscripts do not differ significantly from each other ( $\alpha = 0.05$ ).

Rys. 1. Wzrost liczby bakterii *L. casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym podczas dojrzewania w temperaturze 10°C i 15°C.

Fig. 1. Growth of *L. casei* KN291 number in fermented soy beverage during ripening at temp. 10°C and 15°C.

Garro i wsp. [3], którzy fermentowali napój sojowy bakteriami *Bifidobacterium longum* stwierdzili, że w czasie 8 godz. fermentacji w temp. 37°C liczba bakterii zwiększyła się o 1,5 cyklu logarytmicznego, natomiast pH zmniejszyło się do 4,7. Dłuższa fermentacja wpłynęła na zmniejszenie liczby bakterii i pH. W innych badaniach po fermentacji napoju sojowego bakteriami *Lactobacillus lactis* w temp 30°C przez 12 godz. zaobserwowano wzrost liczby bakterii o 1 rząd logarytmiczny w ciągu 7 dni przechowywania w temp. 6°C, w kolejnych 7 dniach przechowywania obserwowano stabilizowanie się liczby bakterii [2]. Przedstawione powyżej wyniki badań świadczą o tym, że w przypadku fermentacji napoju sojowego faza logarytmicznego wzrostu bakterii może być dość długa, co wymaga zastosowania etapu dojrzewania, w celu jej szybkiego zakończenia.

Pożądalność zapachu fermentowanego napoju sojowego w czasie dojrzewania zarówno w temp. 10°C, jak i w 15°C nie zmieniała się istotnie. Zespół ocenił, że pożądalność napoju sojowego tuż po fermentacji wynosiła średnio 6,6 j.u., a po 2. dniu

dojrzwiania w temp. 15°C pożądalność napoju sojowego zmniejszyła się istotnie do wartości 4,5 j.u. i utrzymywała się na tym poziomie do 8. dnia przechowywania. W przypadku napoju przechowywanego w temp. 10°C nastąpiło nieznaczne podwyższenie pożądalności smaku po 4. dniu i nie zmieniało się do końca okresu dojrzwiania. Ocena jakości ogólnej fermentowanego napoju w czasie dojrzwiania skorelowana była pozytywnie i wysoce istotnie z oceną pożądalności smaku. Podobne obserwacje poczynili autorzy w innych pracach [6, 9], w których wykazano, że pożądalność ogólna soków zależy od proporcji smaku słodkiego do kwaśnego.

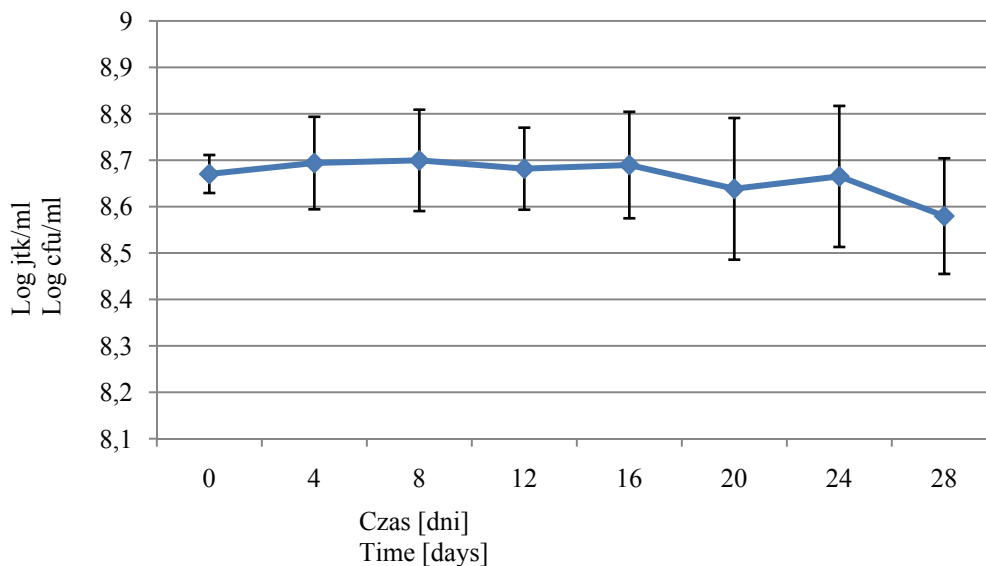
Pożądalność zapachu fermentowanego napoju sojowego w czasie dojrzwiania w obu wartościach temperatury nie zmieniała się istotnie. Pożądalność napoju sojowego pod względem zapachu bezpośrednio po fermentacji wynosiła średnio 6,6 j.u., a po 2. dniu dojrzwiania w temp. 15°C pożądalność napoju sojowego zmniejszyła się istotnie do wartości 4,5 j.u. i utrzymywała się na tym poziomie do 8. dnia przechowywania.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że fazę dojrzwiania napoju po fermentacji należy prowadzić w temp. 15°C przez 2 dni, ponieważ jest to najkrótszy czas, po którym liczba bakterii stabilizuje się i jednocześnie ocena pożądalności napoju jest wysoka (jakość ogólna średnio 6,9 j.u. i smakowitość średnio 6,6 j.u.).

W badaniach przeprowadzonych przez Yoon i wsp. [17], w których fermentowano sok z buraków bakteriami probiotycznymi *L. casei*, zaobserwowano wzrost ich liczby w ciągu 48 godz. fermentacji w temp. 30°C o 2,5 cykli logarytmicznych (do  $10^8$  jtk/ml). Wydłużenie czasu fermentacji nie wpłynęło na zmianę liczby bakterii. Również w czasie przechowywania tego napoju w temp. 4°C przez 3 tygodnie obserwowano niezmienną liczbę bakterii.

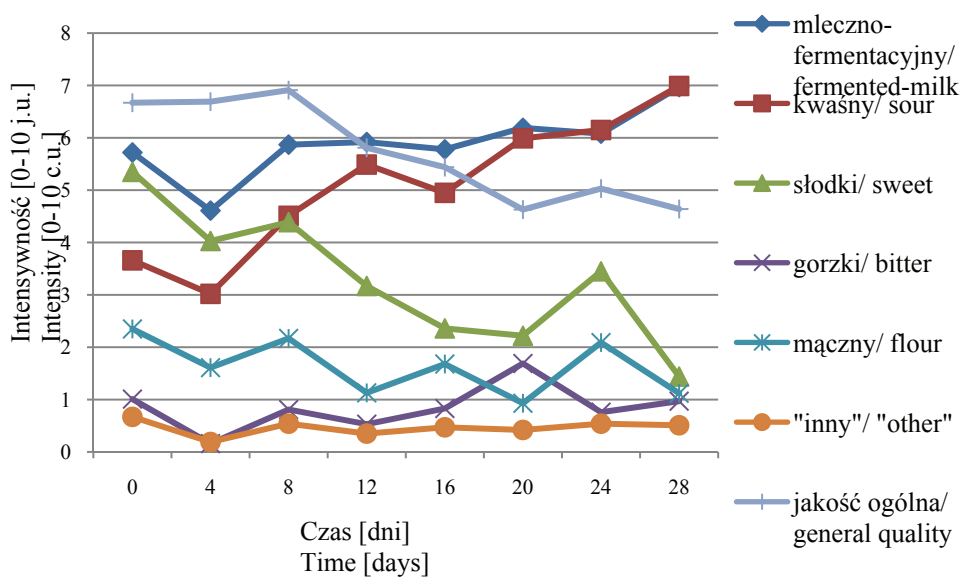
W prowadzonych badaniach własnych stwierdzono, że liczba bakterii probiotycznych w fermentowanym i dojrzwianym napoju sojowym nie zmieniała się istotnie do 28. dnia przechowywania i wynosiła średnio 8,6 log jtk/ml (rys. 2). Kwasowość napoju sojowego zmieniała się istotnie w trakcie przechowywania. W ciągu 28 dni przechowywania pH fermentowanego napoju obniżało się powoli z wartości 5,16 do 4,28. Wartość pH zmniejszyła się istotnie po 0., 8. i 12. dniu przechowywania. Kwasowość wyrażona w stopniach SH zwiększała się istotnie co 4 dni podczas przechowywania, od wartości 11,3 dnia 0., do wartości 27,6 ostatniego dnia.

Zwiększanie się kwasowości fermentowanego napoju sojowego świadczy o obecności żywych bakterii, które wykorzystując cukry obecne w napoju (głównie sacharozę, w mniejszym stopniu stachiozę i rafinozę) produkują kwas mlekowy i inne metabolity (kwas octowy, etanol) [3]. Produkty te wpłynęły na jakość sensoryczną napoju, zwiększając intensywność noty kwaśnej i mleczno-fermentacyjnej w smaku (rys. 3).



Rys. 2. Przeżywalność bakterii *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym w temp. 5°C.

Fig. 2. Survival of *Lactobacillus casei* KN291 in fermented soybean beverage at temp. 5°C.



Rys. 3. Zmiany intensywności wyróżników smaku fermentowanego napoju sojowego w czasie przechowywania.

Fig. 3. Changes of intensity flavor values of fermented soy beverage in storage time.

Zmiany intensywności not zapachowych (waniliowy, słodki, fermentacji mlekowej, mleczny, „inny”) nie były istotnie zróżnicowane w czasie przechowywania, natomiast gęstość i lepkość zmniejszyły się istotnie po 16. dniu przechowywania. Gładkość napoju utrzymywała się na stałym i wysokim poziomie do końca okresu przechowywania.

Intensywność noty smakowej słodkiej była odwrotnie skorelowana z intensywnością noty smaku kwaśnego. Noty negatywne tj. gorzki, mączny oraz „inny” wyczuwane były na niskim poziomie, ich intensywność nie przekraczała wartości 3 j.u.

W badaniach Warmińskiej-Radyko i wsp. [16] soki wielowarzywne fermentowane bakteriami z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* przechowywane przez 21 dni w temp. 5°C utrzymywały niezmienną jakość do 10. dnia przechowywania. Liczebność bakterii fermentacji mlekowej w świeżych sokach wynosiła ok.  $10^9$  log jtk/ml i do 21. dnia zmniejszyła się do liczby  $3,9 \times 10^7$  -  $6,8 \times 10^8$  log jtk/ml. Wykazano, że cechy sensoryczne fermentowanych soków również zmieniły się istotnie po 10. dniu przechowywania, co może stanowić potwierdzenie wyników niniejszych badań. Również doświadczenia przeprowadzone przez Trząskowską [15] wskazują, że jakość ogólna i pożądalność smaku fermentowanego soku marchwiowego obniżyły się istotnie po 8. dniu przechowywania w temp. 5°C.

### Wnioski

1. Ze względów technologicznych (odpowiednia liczba bakterii i pożądana jakość sensoryczna) celowe jest prowadzenie dojrzewania napoju sojowego fermentowanego *Lactobacillus casei* KN291 w temp. 15°C przez 2 dni
2. Ogólna jakość sensoryczna fermentowanego napoju sojowego przechowywanego w temp. 5°C obniża się statystycznie istotnie po 8. dniu przechowywania, co jest wynikiem wzrostu kwasowości, wzrostu intensywności noty smaku kwaśnego oraz gęstości i lepkości.
3. Napój sojowy fermentowany *Lactobacillus casei* KN291 może być przechowywany w temp. 5°C po okresie dojrzewania (48 godz.) nie dłużej niż 12 dni.

*Praca wykonana pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Danuty Kołożyn-Krajewskiej, była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Raport a Joint FAO/WHO Working Group, 2002.
- [2] Beasley S., Tuorila H., Saris P. E. J.: Fermented soymilk with a monoculture of *Lactococcus lactis*. Int. J. Food Mikrob., 2003, **81**, 159-162.
- [3] Garro M.S., de Valdez G.F., Oliver G., de Giori G.S.: Hydrolysis of soya milk oligosaccharides by *Bifidobacterium longum* CRL849. Z. Lebensm. Unters Forsch. A., 1999, **208**, 57-59.

- [4] Goderska K., Czarnecka M., Czarnecki Z.: Przeżywalność wybranych szczepów bakterii potencjalnie probiotycznych w sokach warzywnych. W: Bakterie fermentacji mlekowej. Metabolizm, genetyka, wykorzystanie. Wyd. Politechniki Łódzkiej, 2003, s. 124-128.
- [5] Hesseltine C.W.: Soya cheeses. In: Macrae R., Robinson R.K., Sandler M.J.: Encyclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition, Vol. 6, Academic Press London 1993, pp. 4230-4238.
- [6] Hoffman M., Jaworska D.: Jakość sensoryczna rynkowych soków przecierowych marchwiowo-jabłkowo-bananowych, W: Towaroznawstwo żywności i przedmiotów użytku - pod red. Skibniewskiej K.A., Wyd. UWM, Olsztyn 2004, s. 191-198.
- [7] ISO 13299:2003 Methodology- General guidance for establishing a sensory profile.
- [8] Libudzisz Z.: Żywność probiotyczna, W: Mikroorganizmy w żywności i żywieniu - pod red. Gawęckiego J., Libudzisz Z. Wyd. AR im. A. Cieszkowskiego, Poznań 2006, s. 93-102.
- [9] Matuszewska I., Szczecińska A., Baryłko-Pikielna N.: Przydatność sensorycznej metody profilowej w interpretacji preferencji konsumenckich wybranych produktów. Żywność, Technologia, Jakość, 1998, **1 (1)**, 5-15.
- [10] Meilgard M., Civille G.V., Carr B.T.: Sensory evaluation techniques (3<sup>rd</sup> ed.), Boca Raton, CRC Press, 1999.
- [11] Messina M., Gardner C., Barnes S.: Gaining insight into the health effects of soy but a long way still to go: commentary on the fourth international symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. J. Nutr. 2002, **132**, 547s-551s.
- [12] Owczarek L., Osińska M., Mączyńska D.: Produkty pochodzenia roślinnego a żywność funkcjonalna, Przem. Spoż., 1999, **1 (53)**, 13.
- [13] PN-ISO:15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
- [14] PN-83/A-86341 Mleko i przetwory mleczarskie. Napoje mleczne fermentowane.
- [15] Trzaskowska M.: Prognostyczne modele wzrostu i przeżywalności bakterii probiotycznych w wybranych produktach żywnościowych. Praca doktorska, SGGW, Warszawa 2006.
- [16] Warmińska-Radyko I., Łaniewska-Trokenheim Ł., Gerlich J.: Fermented multi-vegetable juices supplemented with *Propionibacterium* cell biomass. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2006, **15/56**, 4, 433-436.
- [17] Yoon K.Y., Woodams E.E., Hang Y.D.: Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 2005, **38**, 73-75.
- [18] Zielińska D.: Dobór szczepów bakterii *Lactobacillus* i ustalenie warunków fermentacji napoju sojowego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **2 (43) Supl.**, 289 - 297.

#### DEVELOPMENT OF RIPENING AND STORAGE CONDITIONS OF PROBIOTIC SOY BEVERAGE

##### Summary

The aim of this study was development of ripening and storage conditions of potential probiotic soy beverage including microbiological and sensory values. The scope of evaluation was to determine appropriate conditions and time of soy beverage ripening after fermentation and survival of *Lactobacillus casei* KN291 in fermented and ripened soy beverage, during 28 days storage at temp. 5°C. pH value, lactic acid content and sensory quality of fermented soy beverage were evaluated to determine the time of shelf life.

It was found that soy beverage after fermentation should be ripened during 48 hours at temp. 15°C. Taking into consideration number of probiotic bacteria and sensory quality of fermented soy beverage can be stored at temp. 5°C (after 48 hours ripening) not longer than 12 days.

**Key words:** probiotic bacteria, fermented soy beverage, storage ☒

STANISŁAW KALISZ, MARTA MITEK

## WPLYW DODATKU NEKTARU Z DZIKIEJ RÓŻY NA WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE I ZAWARTOŚĆ SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH W MIESZANYCH SOKACH RÓŻANO-JABŁKOWYCH

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku nektaru z dzikiej róży w ilości 25 i 50% do soku jabłkowego na właściwości przeciwutleniające i zawartość wybranych składników bioaktywnych podczas 4-miesięcznego przechowywania tych produktów w temperaturze pokojowej bez dostępu światła. Produkt uzyskany przez dodatek nektarów różanych do soków jabłkowych w porównaniu z czystymi sokami jabłkowymi charakteryzował się znacznie wyższą zawartością substancji biologicznie czynnych. Dodatek nektarów różanych do soków jabłkowych podniósł ich wartość witaminową, jak również pozwolił na uzyskanie nowego atrakcyjnego produktu. W porównaniu z sokami jabłkowymi, soki z 25 i 50% dodatkiem nektaru różanego zawierały 3 i 5 razy więcej polifenoli oraz wykazywały 3 i 5 razy wyższą aktywność przeciwutleniającą.

Największe zmniejszenie zawartości polifenoli, witaminy C i właściwości przeciwutleniających zachodziło w początkowym okresie przechowywania. Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania następowało pociemnienie wszystkich rodzajów soków. W miarę ubytku substancji biologicznie aktywnych zmniejszała się aktywność przeciwutleniająca soków.

**Słowa kluczowe:** jabłka, dzika róża, soki, polifenole, aktywność przeciwutleniająca

### Wprowadzenie

Jabłka należą do najbardziej rozpowszechnionych surowców sokowniczych w Polsce. Soki jabłkowe cieszą się dużą popularnością wśród konsumentów, a ich produkcja w ostatnich latach stanowiła ponad 25% produkcji pitnych soków owocowych w Polsce [4].

Jabłka stanowią bogate źródło związków polifenolowych, w tym (+)katechiny, (-)epikatechiny, procyjanidyn, kwasów hydroksycynamonowych, flawonoli, antocyja-

---

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

nin i dihydrochalkonów. Liczne badania naukowe potwierdziły wysoką wartość tego surowca w profilaktyce chorób cywilizacyjnych np. chorób nowotworowych czy chorób układu krążenia [5, 6, 8]. Ponad 50% jabłek jest przetwarzana na soki, nektary i napoje. Niestety operacje i procesy przetwórcze mogą znacząco obniżać wartość żywieniową i biologiczną. Stosowane przy produkcji klarownych soków liczne zabiegi obróbki enzymatycznej, klarowania, filtracji i zagęszczania zubożają produkt końcowy tak, że zawiera on jedynie 5% flawonoidów pierwotnie zawartych w jabłkach [5, 6]. Jak podają Oszmiański i Wojdyło [5], odtwarzane z koncentratów klarowne soki jabłkowe pozbawione są witaminy C, pektyn i ponad 90% związków polifenolowych.

Zasadne jest zatem poszukiwanie naturalnych sposobów, które pozwolą na uzyskanie produktu atrakcyjnego sensorycznie i żywieniowo poprzez łączenie kilku surowców. Atrakcyjnym w tym względzie komponentem może być dzika róża. Stanowi ona cenne źródło naturalnej witaminy C i działających z nią synergistycznie bioflawonoidów. Surowiec ten jest również źródłem karotenoidów, zawiera także pewne ilości innych składników, jak: np. katechin, proantocyjanidyn, izokwercetynę, witaminy z grupy B [3]. Występujące w róży związki fenolowe są również cennymi przeciwutleniaczami neutralizującymi wolne rodniki, jak również stabilizują i zwiększają aktywność kwasu askorbinowego w organizmie [9].

Celem pracy było określenie wpływu dodatku nektaru z dzikiej róży w ilości 25 i 50% do soku jabłkowego na właściwości przeciwutleniające i zawartość wybranych składników bioaktywnych podczas 4-miesięcznego przechowywania tych produktów w temperaturze pokojowej bez dostępu światła.

### **Material i metody badań**

Material badawczy stanowiły, przygotowane w skali laboratoryjnej, soki odtwarzane z koncentratów jabłkowych (70,5 Bx) przez ich rozcieńczenie i dodatek naturalnego aromatu. Koncentrat użyty do badań pochodził z zakładu Vin-Kon-Nieledew. Zgodnie z zaleceniami kodeksu praktyki do oceny soków owocowych i warzywnych, ekstrakt soku jabłkowego ustalono na poziomie 11,2 Bx. Przygotowano 3 warianty produktów: sok jabłkowy, sok jabłkowy z 25% dodatkiem nektaru różanego oraz sok jabłkowy z 50% udziałem niesłodzonego nektaru różanego o ekstrakcie 7,5 Bx (firmy Polska Róża). Uzyskany produkt rozlano do słoików pojemności 200 ml i pasteryzowano 20 min w temp. 90°C. Po obróbce termicznej opakowania szybko schłodzono i przechowywano przez 4 miesiące w warunkach pokojowych (temp. 20 ± 1°C) bez dostępu światła. Soki pobierano do badań, co 60 dni, a analizy przeprowadzano na 3 próbach pobranych z odrębnych opakowań z tej samej partii.

Część analityczna obejmowała oznaczenie zawartości polifenoli ogółem wg Gao [1] oraz sumę karotenoidów wg PN-90-A-75101/12. Oznaczano też zawartość witaminy C metodą HPLC w zestawie firmy Shimadzu, składającym się z detektora UV-VIS



SPD-10A VP, pompy LC-10AT VP, pieca CTO-10AS VP, degazera DEGASEX™ model DG-400 (Phenomenex), współpracującego z programem do zbierania danych Chromax 2003. Rozdział prowadzono w kolumnie Luna 5  $\mu\text{m}$  C18(2) 250 x 4,6 mm (Phenomenex) przy przepływie 1 ml/min w temp. 25°C. Jako eluent stosowano 0,1%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , a rejestrację prowadzono przy  $\lambda = 254$  nm. Identyfikację związków prowadzono na podstawie porównania czasu retencji z wzorcami. Przed nastrzykiem próbek na HPLC oczyszczano je w minikolumnach Sep-Pak C18 firmy Waters. W uzyskanych produktach badano także aktywność przeciwrodnikową wobec wolnych rodników 2,2 difenyl-1-pikrylhydrazylowych (DPPH) metodą Yena oraz Chena [10]. Dokonano również pomiaru parametrów barwy w świetle przechodzącym w kolorymetrze Konica Minolta CM-3600d, w kuwetach szklanych o grubości 1 cm. Pomiaru prowadzono w systemie CIELAB, stosując typ obserwatora 10° oraz iluminant  $D_{65}$ .

### Wyniki i dyskusja

Przystępując do badań założono, że dodatek nektaru różanego do soków jabłkowych wzbogaci produkt finalny w substancje biologicznie czynne i pozwoli na uzyskanie wyrobu atrakcyjnego żywieniowo i równocześnie umożliwi poszerzenie asortymentu rynkowego.

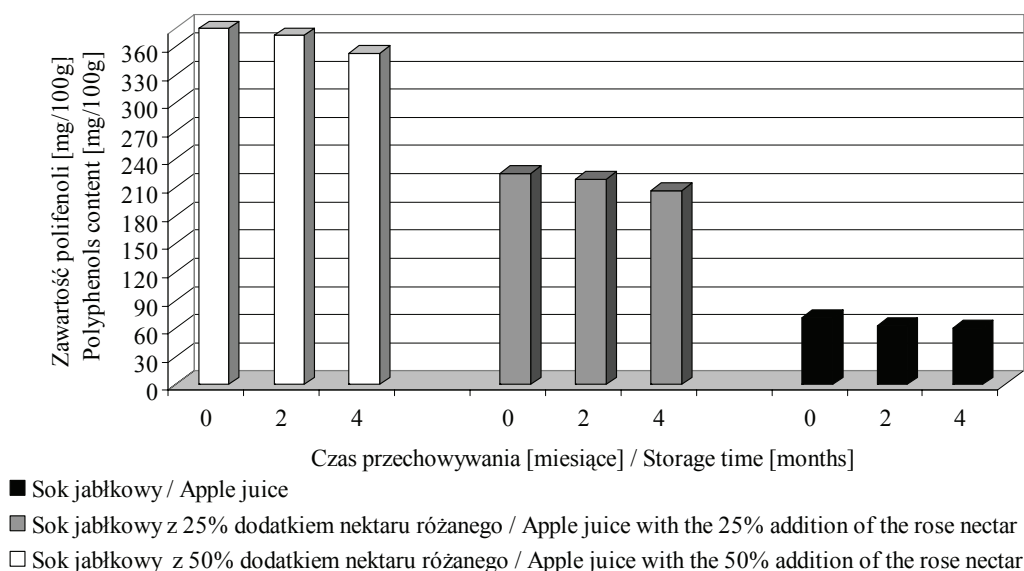
Wykazano duże zróżnicowanie zawartości polifenoli ogółem zależnie od wariantu soku (rys. 1). Najmniejszą zawartość związków polifenolowych stwierdzono w sokach jabłkowych – 71,1 mg/100 ml. Dodatek nektaru różanego w ilości 25% spowodował ponad 3-krotny wzrost zawartości polifenoli do 224,7 mg/100 ml, zaś przy 50% udziale tego nektaru ilość związków polifenolowych w stosunku do soku jabłkowego zwiększyła się ponad 5-krotnie do poziomu 378,8 mg/100 ml.

Podczas 4-miesięcznego przechowywania we wszystkich wariantach soków stwierdzono ubytek polifenoli. W sokach z dodatkiem nektaru różanego tempo degradacji związków polifenolowych było ponad 2-krotnie niższe niż w sokach jabłkowych. Ubytek związków polifenolowych w sokach z 25 i 50% dodatkiem nektaru wynosił odpowiednio 7 i 8% zaś w sokach jabłkowych 15%. Wynika to m.in. z faktu, że polifenole jabłek stosunkowo łatwo ulegają utlenieniu [9]. Otrzymanie produktów mieszanych dzięki interakcjom pomiędzy poszczególnymi składnikami może skutecznie hamować niepożądane reakcje degradacyjne. Jest to tym bardziej istotne ze względu na fakt, że związki polifenolowe odgrywają ogromną rolę w kształtowaniu potencjału przeciwutleniającego [6]. Ponadto, jak wykazali inni eksperymetatorzy [8, 9], wyższa stabilność fizyczna soków mieszanych przejawia się bardziej stałymi parametrami barwy. Z kolei ich stabilność biochemiczna wynika m.in. z ograniczenia reakcji utleniania związków fenolowych.

Dodatek nektaru różanego do soków jabłkowych dodatkowo wzbogaca je w nowy składnik, a mianowicie karotenoidy, co podnosi zarówno ich wartość dietetyczną, jak

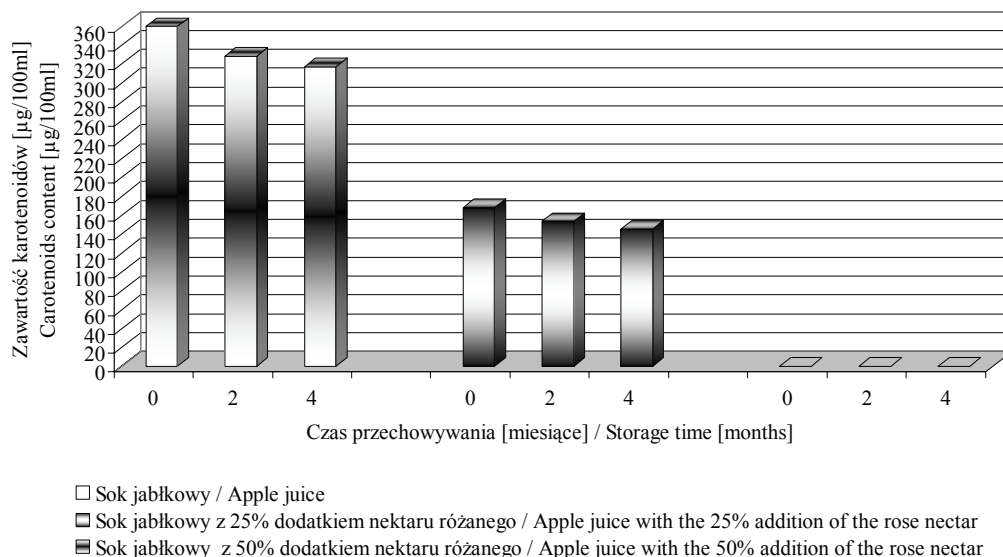


i żywnościową. Soki z 25 i 50% udziałem komponentu różanego zawierały odpowiednio 167,8 oraz 359,7  $\mu\text{g}$  karotenoidów/100 ml (rys. 2). W czasie 4-miesięcznego przechowywania zawartość tego składnika zmniejszyła się odpowiednio o 11,9 i 13,4%.



Rys. 1. Zmiany zawartości polifenoli ogółem w trakcie przechowywania soków.

Fig. 1. Changes of total polyphenols contents during juices storage.

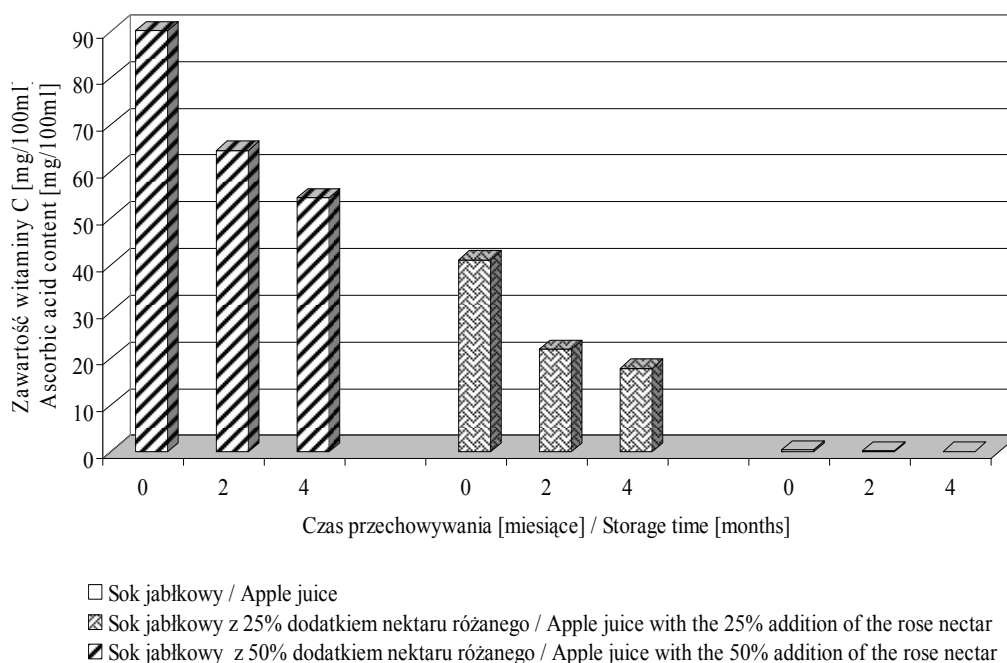


Rys. 2. Zmiany zawartości karotenoidów w trakcie przechowywania soków.

Fig. 2. Changes of carotenoids contents during juices storage.

Dobra zachowalność karotenoidów naturalnego pochodzenia w sokach zwiększa ich potencjał przeciwutleniający i jest uznawana za bardziej pożądaną niż suplementacja z innych źródeł [3]. Karotenoidy mają cenne właściwości biologiczne, zwłaszcza witaminowe, a w układach naturalnych przy jednoczesnym występowaniu związków polifenolowych zachodzi efekt synergistyczny ograniczający m.in. utlenianie lipidów [2].

Zwiększenie potencjału przeciwutleniającego oraz większa wartość żywnościowa produktów wzbogacanych nektarem różanym wiąże się bez wątpienia z zawartością witaminy C. W sokach jabłkowych odtwarzanych z koncentratów występują jedynie śladowe ilości tego składnika (0,4 mg/100 ml). Soki, do których dodano 25 i 50% nektaru różanego zawierały odpowiednio 41,0 i 90,4 mg wit. C/100 ml soku (rys. 3).



Rys. 3. Zmiany zawartości witaminy C w trakcie przechowywania soków.

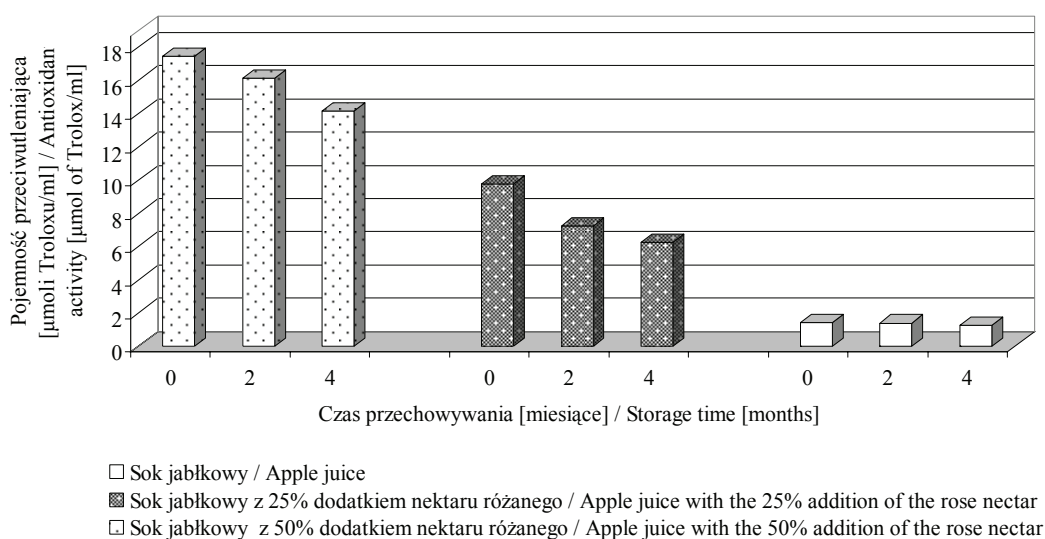
Fig. 3. Changes of ascorbic acid (Vitamin C) contents during juices storage.

Składowanie tych produktów przez 4 miesiące w temperaturze pokojowej spowodowało zmniejszenie się wyjściowej zawartości witaminy C o 56,6% (w soku z mniejszym dodatkiem kompleksu różanego) i 39,9% (w soku z większym dodatkiem komponentu różanego). Jednocześnie stwierdzono, że największe ubytki zawartości witaminy C zachodziły w pierwszym okresie przechowywania.

Witamina C jest stosunkowo labilna, a degradujący wpływ na nią wywierają m.in. temperatura, dostęp tlenu, jak i obecność innych składników żywności [2, 7]. Jednak,

jak podają Grajek i wsp. [2], należy pamiętać, że ze wzrostem temperatury maleje rola utleniania witaminy C przy jednocześnie rosnącej roli beztlenowej degradacji tego składnika.

Zawartość polifenoli, karotenoidów i witaminy C kształtuje potencjał przeciwutleniający badanych produktów. Z uwagi na wysoki stopień przetworzenia, a tym samym duże straty polifenoli i innych składników, najniższy potencjał przeciwutleniający wykazywały soki jabłkowe odtwarzane z koncentratów (1,4  $\mu\text{mol}$  Troloxu/ml) (rys. 4). Dzięki większej zawartości substancji biologicznie aktywnych, soki z 25 i 50% udziałem nektaru różanego odznaczały się pojemnością przeciwutleniającą na poziomie 9,8 i 17,4  $\mu\text{mol}$  Troloxu/ml, czyli odpowiednio 7- i 13-krotnie wyższą niż klarowne soki jabłkowe. Jest to tym istotniejsze, że flawonoidy i witaminy antyoksydacyjne wiążąc wolne rodniki zwiększają ochronę wrażliwych składników żywności przed utlenieniem. Potencjał przeciwutleniający jest sumą aktywności wszystkich składników układu biologicznego, dlatego też korzystne jest wyrażanie aktywności przeciwutleniającej w stosunku do syntetycznego, rozpuszczalnego w wodzie Troloxu [3].



Rys. 4. Zmiany pojemności przeciwutleniającej podczas przechowywania soków.

Fig. 4. Changes of antioxidant activity during juices storage.

Ważnym wyróżnikiem jakości soków, decydującym o akceptacji konsumentek jest barwa, dlatego dokonano jej pomiaru instrumentalnego. Kolorymetryczny pomiar wyróżników jakościowych barwy w układzie CIELAB wykazał zróżnicowanie pomiędzy poszczególnymi próbkami (tab. 1).

Tabela 1

Zmiany parametrów barwy soków w systemie CIELAB, w trakcie przechowywania.  
Changes of colour parameters in CIELAB system during juices storage.

Czas przechowywania [miesiące] Storage time [months]	Parametry barwy / Colour parameters								
	Sok jabłkowy Apple juice			Sok jabłkowy z 25% dodatkiem nektaru różanego Apple juice with the 25% addition of the rose nectar			Sok jabłkowy z 50% dodatkiem nektaru różanego Apple juice with the 50% addition of the rose nectar		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	93,19	-1,54	32,84	72,46	12,34	55,45	54,69	22,55	66,61
2	88,81	2,22	44,88	69,34	13,51	57,76	52,16	22,95	66,38
4	86,54	4,66	45,14	64,60	11,72	56,43	51,69	23,18	67,12

Najwyższą jasnością odznaczały się soki jabłkowe, których wartość parametru L\* wyniosła 93,19. Jednocześnie soki te wykazywały najwyższy udział barwy zielonej (a\* = -1,54), przy jednoczesnym najniższym udziale barwy żółtej (b\* = 32,84). Dodatek nektarów różanych spowodował pociemnienie barwy uzyskanych produktów. Przy 25% udziale nektarów wartość parametru opisującego jasność L\* zmniejszyła się do 72,46, zaś przy 50% do 54,69. Wzrost składnika różanego powodował jednocześnie wzrost udziału barwy czerwonej i żółtej.

We wszystkich wariantach soków w trakcie 4-miesięcznego składowania obserwowano pociemnienie produktów przy jednoczesnym wzroście udziału barw czerwonej i żółtej. Jednocześnie zaobserwowano, że wraz ze wzrostem udziału nektaru różanego w składzie soków zmniejszała się dynamika zmian parametrów barwy w czasie przechowywania.

Wzrost stabilności parametrów barwy w sokach mieszanych obserwowany był również w badaniach innych autorów [8, 9]. Produkty takie cechuje wyższa stabilność fizyczna i biochemiczna, co przemawia za szerszym propagowaniem tej grupy produktów wśród konsumentów.

## Wnioski

1. Produkty uzyskane przez dodatek nektarów różanych do soków jabłkowych, w porównaniu z czystymi sokami jabłkowymi charakteryzowały się znacznie wyższą zawartością substancji biologicznie czynnych, takich jak polifenole czy witamina C.
2. Największy ubytek zawartości polifenoli, witaminy C i zmniejszenie właściwości przeciwutleniających soków następował w początkowym okresie ich przechowywania.

3. Wraz z upływem czasu przechowywania dochodziło do pociemnienia wszystkich rodzajów soków, a tym samym obniżenia atrakcyjności produktu.
4. W miarę upływu czasu przechowywania soków, wzrastały ubytki zawartych w nich substancji biologicznie aktywnych, co skutkowało obniżaniem aktywności przeciwutleniającej.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Gao X., Ohlander M., Jeppsson N., BjörTrajkovski V.: Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) during maturation. *J. Agr. Food Chem.*, 2000, **48**, 1485-1490.
- [2] Grajek W.: *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne.* WNT, Warszawa 2007, s. 171-177.
- [3] Kalisz S., Kalisz B., Dziubek P.: Właściwości przeciwutleniające soków i syropów z róży. *Farm. Pol.* 2003, **LIX. Supl.**, 30-34.
- [4] Nosecka B., Bugała A., Mierwiński J., Smoleński T., Stępka G., Strojewska I., Szczepaniak I., Świątlik J.: Rynek owoców i warzyw. Stan i perspektywy. *IERiGŻ, Warszawa* 2006, **29**, 10-17.
- [5] Oszmiański J., Wojdyło A.: Soki naturalnie mętne – dobry kierunek w przetwórstwie jabłek. *Przem. Ferm. Ow. Warz.*, 2006, **2**, 20-22.
- [6] Oszmiański J., Wolniak M., Wojdyło A., Wawer I.: Comparative study of polyphenolic content and antiradical activity of cloudy and clear apple juices. *J. Sci. Food Agric.*, 2007, **87**, **4**, 573-579.
- [7] Rojas A., Gerschenson L.: Ascorbic acid destruction in aqueous model systems: an additional discussion. *J. Sci. Food Agric.* 2001, **81**, 1433-1439.
- [8] Sieliwanowicz B., Hałasińska A., Trzeńska M., Jakubowski A., Lipowski J., Skąpska S.: Zmiany zawartości związków fenolowych, parametrów barwy i aktywności przeciwutleniającej w czasie przechowywania soków z wybranych odmian jabłek. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2005, **4** (**1**), 83-91.
- [9] Sokół-Łętowska A., Oszmiański J., Sożyński J.: Stabilność związków fenolowych i barwy w mieszanych sokach z jabłek, aronii i owoców róży. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu. Technologia Żywności VI*, 1991, **215**, 165-174.
- [10] Yen G-C, Chen H-Y: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.

### THE INFLUENCE OF WILD ROSE NECTAR ADDITION INTO APPLE JUICES ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY AND THE BIOACTIVE COMPONENTS CONTENT

#### S u m m a r y

The aim of the study was evaluating of the influence of the addition of wild rose nectar in 25% and 50% quantity to the apple juice on antioxidant activity and the content of chosen bioactive components during storage for 4 months without the light of these products in the room temperature. The product

obtained by the addition of wild rose nectars to apple juices had higher content of the biologically active compounds than pure apple juices. The addition of rose nectars to apple juices appreciated their rich in vitamins, as well as let on the obtainment of the new attractive product. Juices with addition of wild rose nectar in 25 and 50% quantity had 3 and 5-fold more polyphenols and 3 and 5-fold more antioxidant activity.

The biggest decrease of polyphenols content, vitamin C and antioxidant activity was observed in the first phase time. During storage time followed darkening of all kinds of juices. In due measure the decrease of the biologically active compounds decreased the antioxidative activity of juices.

**Key words:** apple, wild rosa, juices, polyphenols, antioxidant activity ☒

STANISŁAW KALISZ, MICHAŁ WOLNIAK

## ZMIANY WYBRANYCH WYRÓŻNIKÓW JAKOŚCIOWYCH PODCZAS PRZECHOWYWANIA SOKÓW ODTWARZANYCH Z KONCENTRATÓW

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian zawartości polifenoli ogółem, w tym antocyjanów oraz aktywności przeciwutleniającej odtwarzanych z koncentratów soków truskawkowych i z czarnych porzeczek bez dodatków oraz wzbogacanych preparatem pektyn wysoko metylowanych, przechowywanych w temp. 20°C bez dostępu światła. W trakcie 4-miesięcznego przechowywania stwierdzono ubytek zawartości antocyjanów i polifenoli ogółem, co powodowało obniżenie się pojemności przeciwutleniającej.

Zawartość antocyjanów badano metodą HPLC. Pomiar zdolności wygaszania wolnych rodników wykonano metodą EPR przy użyciu stabilnego rodnika DPPH (1,1-difenyl-2-pikrylohydrazylu). Stwierdzono, że dodatek pektyn znacznie spowalnia obniżanie aktywności przeciwutleniającej. Bezpośrednio po wytworzeniu pojemność przeciwutleniająca próbek soków z czarnych porzeczek z dodatkiem pektyny, jaki i kontrolnych była zbliżona i wynosiła odpowiednio 3,48 i 3,41 mM Troloxu/100 ml. Jednak po 4 miesiącach wartości te wynosiły już 3,29 oraz 3,01 mM Troloxu/100 ml, co świadczy o stabilizującym wpływie dodatku pektyn.

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

### Wprowadzenie

W ciągu ostatnich dziesięciu lat obserwuje się wyraźne tendencje wzrostowe w zakresie produkcji pitnych soków owocowych, napojów i nektarów [8]. W warunkach polskich soki owocowe są najczęściej otrzymywane z zagęszczonych soków owocowych przez odtworzenie udziału wody usuniętej w czasie zagęszczania. Jednocześnie następuje przywrócenie aromatu odzyskanego w czasie przerobu, dzięki czemu uzyskuje się produkt o cechach charakterystycznych dla gatunku owoców z jakiego

---

*Dr inż. S. Kalisz, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, Dr M. Wolniak, Zakład Chemii Fizycznej, Wydz. Farmaceutyczny Akademii Medycznej w Warszawie, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa*

otrzymano koncentrat lub półkoncentrat [11]. Niestety, niektóre z cech sensorycznych i fizykochemicznych mogą ulegać obniżeniu podczas otrzymywania półproduktów i wyrobów finalnych, jak i ich składowania. Uwarunkowania techniczno-technologiczne i ekonomiczne spowodowały odejście od produkcji półkoncentratów. Rozwój technologiczny pozwoli na efektywne zwiększenie stopnia zagęszczania, co jednak przy wrażliwych surowcach jagodowych może skutkować nieco większymi zmianami degradacyjnymi barwy aniżeli miało to miejsce przy uzyskiwaniu półkoncentratów, jednak sprzyja osiąganiu korzyści ekonomicznych przy przechowywaniu. Jeżeli pozwala na to potencjał techniczny zakładu, celem zniwelowania negatywnych zmian, koncentraty z surowców szczególnie wrażliwych, np. truskawek czy malin, składa się w temperaturach zamrażalniczych.

Podczas przetwarzania i przechowywania żywności może dochodzić również do zmniejszenia zawartości substancji biologicznie aktywnych, szeroko rozumianych polifenoli, w tym antocyjanów, a także fenolokwasów i innych ważnych związków, jak np. witaminy C. W wyniku bezpośredniej kondensacji antocyjanów i flawanoli, podczas przerobu i składowania żywności pochodzenia roślinnego dochodzi także do reakcji kondensacji wywołujących zmiany barwy. Jednakże niekorzystne zmiany w żywności mogą być ograniczone przez prawidłowe prowadzenie procesów przetwórczych, a szczególnie właściwe przechowywanie i obrót, co interesuje zarówno konsumentów, jak i przetwórców. Skłoniło to do poszukiwania sposobów, które pozwoliłyby na stabilizację pożądaných składników bez zmniejszania ich dostępności biologicznej. Stałość prozdrowotnych składników żywności uważa się bowiem za jeden z warunków rozwoju żywności funkcjonalnej [4, 6, 10, 13].

Ograniczenie degradacji antocyjanów można uzyskać obniżając temperaturę przechowywania, ograniczając dostęp tlenu i światła, jak również na drodze ich międzycząsteczkowych interakcji z hydrokolidami. Dochodzi wówczas do zamknięcia cząsteczek antocyjanów w strukturze żelu, jednak do końca mechanizm ten nie został jeszcze wyjaśniony [4]. Efekt ochronny pektyn w stosunku do antocyjanów i innych związków polifenolowych uzyskano również we wstępnych badaniach własnych [6, 13]. Dodatek preparatów pektynowych powoduje wzrost lepkości, co w efekcie utrudnia wymianę reagentów, a tym samym wpływa na tempo reakcji. Jednakże duża ilość zmiennych wpływających na stabilność i zachowalność antocyjanów uzasadnia konieczność prowadzenia dalszych badań, które pozwolą na lepsze ich zachowanie w produkcie finalnym, a tym samym zwiększenie jego wartości żywieniowej. Dotychczas prowadzone prace badawcze w głównej mierze dotyczyły badań na sokach otrzymywanych bezpośrednio z surowca. W celu odniesienia wyników badań do warunków przemysłowych postanowiono przeprowadzić prace badawcze na sokach odtwarzanych z koncentratów.



Celem pracy było określenie wpływu wzbogacania soków odtwarzanych z koncentratów z truskawek i czarnych porzeczek preparatem pektyn wysoko metylowanych na zachowalność antocyjanów, polifenoli, witaminy C oraz właściwości przeciwutleniających i zmiany barwy w trakcie 4-miesięcznego przechowywania w temp. 20°C bez dostępu światła.

### **Material i metody badań**

Material badawczy stanowiły soki odtwarzane z koncentratów truskawkowych (64,5 Bx) i z czarnej porzeczek (65,2 Bx), przygotowane w skali laboratoryjnej. Zgodnie z zaleceniami kodeksu praktyki do oceny soków owocowych i warzywnych [7], ekstrakt soku truskawkowego ustalono na poziomie 7 Bx, zaś z czarnej porzeczek 11,6 Bx. Z soku przygotowano próbki w wariantach: bez dodatków i z dodatkiem 0,1% preparatu pektyny wysoko metylowanej WECJ A3. Sok rozlano do 200 ml słoików i pasteryzowano 20 min w temp. 90°C. Po obróbce termicznej produkt schłodzono i przechowywano przez 4 miesiące w temp.  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  bez dostępu światła. Soki badano co 60 dni, a analizy przeprowadzono na 3 odrębnych opakowaniach z tej samej partii.

Badania analityczne obejmowały oznaczenie zawartości polifenoli, w tym antocyjanów. Wyznaczano też półokres ich rozpadu oraz określano aktywność przeciwutleniającą z użyciem techniki EPR. Zawartość antocyjanów oznaczano metodą HPLC z użyciem zestawu firmy Shimadzu, składającym się z detektora UV-VIS SPD-10A VP, pompy LC-10AT VP, pieca CTO-10AS VP, degazera DEGASEX™ model DG-400 (Phenomenex), współpracującego z programem do zbierania danych Chromax 2003. Do rozdzielania używano kolumny Luna 5  $\mu\text{m}$  C18(2) 250 x 4,6 mm (Phenomenex), przy przepływie 1 ml/min w temp. 25°C. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina woda : acetonitryl : kwas mrówkowy (810:90:100; v/v/v). Rejestrację antocyjanów prowadzono przy  $\lambda = 520$  nm. Identyfikacji związków dokonywano na podstawie widm oraz czasów retencji porównywanych z wzorcami. Końcową zawartość antocyjanów przeliczano na cyjanidyno-3-glukozyd. Przed nastrzykiem próbki oczyszczano w minikolumnach Sep-Pak C18 firmy Waters. W badanych sokach oznaczano również zawartość witaminy C metodą HPLC, używając identycznego zestawu w tych samych warunkach detekcji przy 254 nm, a jako eluent stosowano 0,1%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Wyznaczano również indeks degradacji antocyjanów metodą Francisa-Fuleki [2]. Pomiar zawartości polifenoli ogółem wykonywano wg metody Gao [3], wyrażając wynik w przeliczeniu na kwas galusowy.

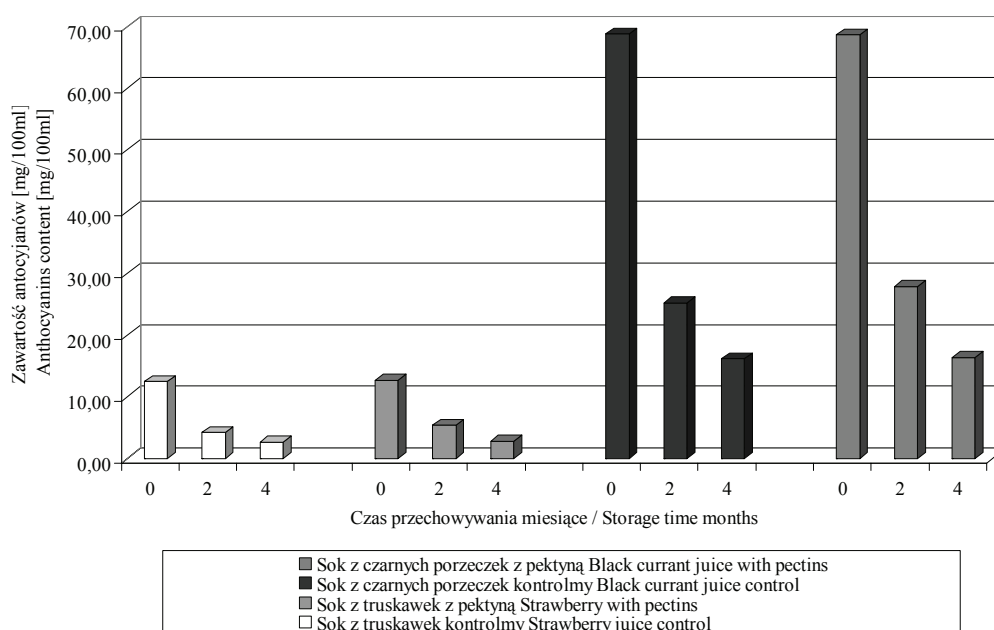
Parametry barwy oznaczano w świetle przechodzącym, przy użyciu kolorymetru Konica Minolta CM-3600d, w kuwetach szklanych o grubości 1 cm. Pomiar prowadzono w systemie CIELAB, stosując typ obserwatora  $10^\circ$  oraz iluminant  $D_{65}$ .

Pomiar właściwości przeciwutleniających soków prowadzono metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego EPR, z użyciem trwałego rodnika 1,1-difenylo-2-

pikrylohydrazylu (DPPH). Pomiary prowadzono w spektrometrze firmy Bruker ELEXSYS E 500 pracującym metodą fali ciągłej. Do badań używano komory rezonansowej SHQE - Super High Q cavity. Rejestracji widm dokonywano przy następujących parametrach:  $Q$  (stosunek  $\nu_{\text{rez}}$  do  $\Delta\nu$ ) = 4800, częstotliwość rezonansowa – 9,44 GHz, moc – 20 mW, indukcja magnetyczna  $B$  – 3366 G, szerokość przemiatania – 400 G, czas przemiatania – 41,17 s, częstotliwość modulacji – 100 kHz, amplituda modulacji – 2 G, czułość odbiornika – 68 dB. Sygnał wzorca DPPH stanowił roztwór DPPH w metanolu o stężeniu 2,421 mmol/dm<sup>3</sup>. Do 5 ml wzorca dodawano po 50  $\mu$ l soku, intensywnie wytrząsano i szczelnie zamknięte próbki pozostawiano w zaciemnionym miejscu. Intensywność integralną sygnału liczone programem do obróbki widm EPR firmy Bruker. Korzystając z metody najmniejszych kwadratów, ilość wygaszonego DPPH przeliczano na równoważniki Troloxu [mM/100 ml].

## Wyniki i dyskusja

Przeprowadzone badania laboratoryjne z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej pozwoliły na precyzyjne określenie w sokach zawartości antocyjanów (rys. 1). Szczególnie interesujące było sprawdzenie wpływu preparatów pektynowych na stabilność związków antocyjanowych soków.



Rys. 1. Zmiany zawartości antocyjanów w sokach z truskawek i z czarnych porzeczek w trakcie ich przechowywania.

Fig. 1. Changes of anthocyanins contents in strawberry and black currant juices during storage.

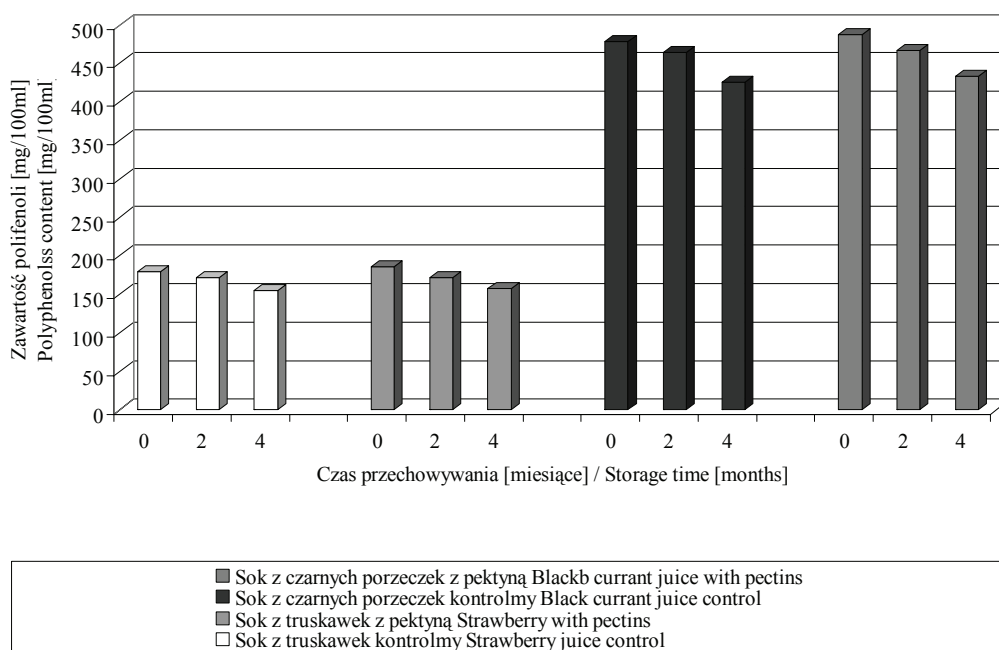
Odtwarzane z koncentratów kontrolne soki truskawkowe, bezpośrednio po ich otrzymaniu, zawierały 12,6 mg antocyjanów/100 ml. Z kolei soki wzbogacone preparatem pektyny wysoko metylowanej zawierały 12,7 mg antocyjanów/100 ml. W przypadku soków z czarnych porzeczek całkowita zawartość antocyjanów wyrażona jako cyjanidyno-3-glukozyd w soku kontrolnym kształtowała się na poziomie 68,8 mg/100 ml, zaś w soku wzbogacającym pektyną 68,6 mg/100 ml. W ciągu 4-miesięcznego przechowywania soków w temperaturze pokojowej, niezależnie od wariantu soku, odnotowano 78% ubytki barwników antocyjanowych w produktach truskawkowych (pozostało średnio 12,7 mg/100 ml) i 76% w sokach z czarnych porzeczek (pozostało średnio 16,2 mg/100 ml). W sokach truskawkowych na skutek przemian podczas przechowywania nastąpił duży wzrost indeksu degradacji z 1,4 po produkcji do 3,7 po przechowywaniu, co przede wszystkim wynika ze stosunkowo niskiej stabilności dominujących w składzie antocyjanowym truskawek pelargonidyn. Znacznie wyższą stabilność wykazują zawarte w czarnych porzeczkach delfinidyny [5]. Potwierdził to również niższy indeks degradacji soków porzeczkowych, który wyniósł po produkcji 1,2, zaś po 4 miesiącach składowania 1,8.

Jednocześnie wykazano brak istotnego efektu ochronnego preparatów pektynowych na antocyjany pod względem ilościowym, w przypadku odtwarzania soków z koncentratów, jak miało to miejsce przy sokach otrzymanych bezpośrednio z owoców [6, 13]. Jednakże spektrofotometryczne pomiary barwy szczególnie soków truskawkowych potwierdziły korzystny wpływ pektyny, co przedstawiono w dalszej części pracy. Należy podkreślić, że poprawę stabilności soków z pektyną dzięki międzycząsteczkowym interakcjom antocyjanów z hydrokoloidami, w tym z pektynami, obserwowano w przypadku soków bezpośrednio tłoczonych z surowca, co potwierdziły zarówno badania własne, jak i innych eksperymentatorów [1, 4, 6, 13]. Brak ochronnego działania pektyn w zakresie ilościowym przypuszczalnie wiąże się z faktem, że w wyniku negatywnego wpływu czynników technologicznych podczas przemysłowego otrzymywania koncentratów, późniejszego ich przechowywania, następnie odtwarzania z nich soków podanych obróbce termicznej doszło do dalece posuniętej degradacji, w efekcie czego nie było możliwe osiągnięcie pożądanego efektu stabilizującego.

Uwzględniając fakt, że antocyjany stanowią tylko jedną z grup związków polifenolowych oraz bogactwo tych substancji w truskawkach i porzeczkach dokonano pomiaru ogólnej zawartości związków polifenolowych (rys. 2). Soki truskawkowe bez dodatków oraz wzbogacone preparatem pektynowym zawierały polifenole w ilości, odpowiednio, 179,4 oraz 185,4 mg/100 ml. Z kolei w sokach z czarnych porzeczek całkowita zawartość związków polifenolowych wynosiła 478,2 mg/100 ml w sokach bez dodatków oraz 487,8 mg/100 ml w sokach z pektyną.

Podczas 4-miesięcznego składowania stwierdzono 15,5% straty polifenoli w sokach truskawkowych bez dodatków i 13,8% w próbkach, do których dodano 0,1%

preparatu pektynowego. Analogiczne kierunki zmian obserwowano w sokach z czarnych porzeczek, w których składowanie spowodowało straty na poziomie, odpowiednio, 11,1% w próbkach kontrolnych i 10,9% w wariacie wzbogaconym pektyną.



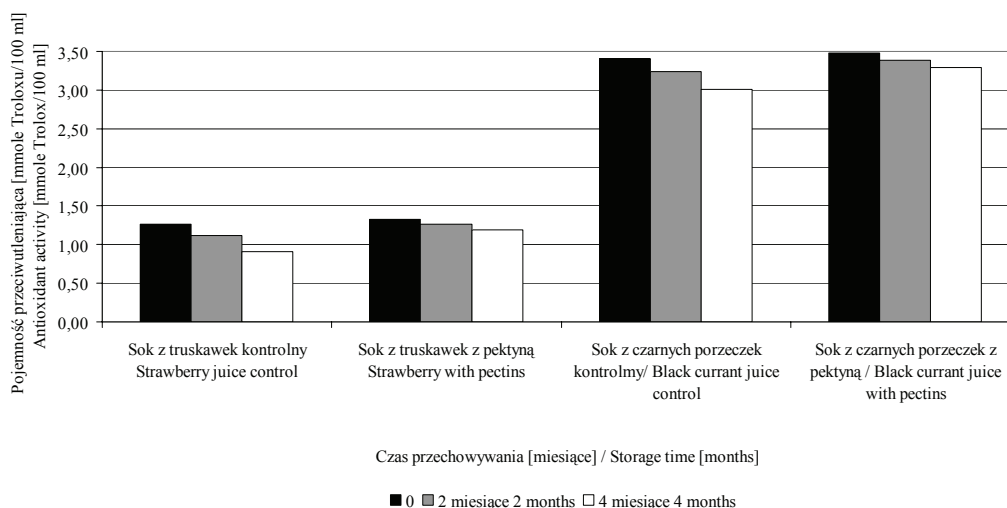
Rys. 2. Zmiany zawartości polifenoli ogółem w sokach z truskawek i z czarnych porzeczek w trakcie ich przechowywania.

Fig. 2. Changes of polyphenols contents in strawberry and black currant juices during storage.

Naukowo potwierdzony korzystny wpływ antocyjanów i innych polifenoli na zdrowie przemawiają za tym, aby dążyć do jak najlepszego zachowania tych związków w przetworach. W układach naturalnych polifenole występują wraz z innymi substancjami kształtującymi potencjał przeciwutleniający, takimi jak witamina C. Przeprowadzone analizy chromatograficzne, analogicznie jak w przypadku polifenoli, wykazały stosunkowo niewielką zawartość witaminy C, w porównaniu z danymi literaturowymi. Soki truskawkowe obydwu wariantów zawierały bezpośrednio po wyprodukowaniu blisko 4,5 mg witaminy C/100 ml zaś soki z czarnych porzeczek 22,5 mg/100 ml. Mała zawartość wyjściowa oraz nieznaczne zmiany w trakcie przechowywania dowodzą, że stosunkowo duża degradacja tej witaminy miała miejsce na wcześniejszych etapach produkcji, dlatego w końcowym etapie zaobserwowano tylko niewielkie zmiany. Pozostała zawartość witaminy C w soku truskawkowym i porzeczkowym (niezależnie od wariantu doświadczenia) kształtowała się na poziomie, odpowiednio, 4,0 i 19,7 mg/100 ml.

Małe zmiany zawartości związków polifenolowych zaważyły na przeprowadzeniu pomiaru aktywności przeciwutleniającej z zastosowaniem selektywnej metody EPR. Szeroko rozpowszechnione w świecie roślinnym związki polifenole odgrywają bowiem bardzo ważną rolę w kształtowaniu pojemności przeciwutleniającej. Jednak z uwagi na wysoką reaktywność odczynnika Folina-Ciocalteu'a wyniki pomiaru tych substancji mogą nie w pełni odzwierciedlać stan faktyczny m.in. z uwagi na możliwość reakcji z witaminą C i innymi składnikami [6, 10]. Ponadto obecność związków spoli-meryzowanych wpływa na kinetykę reakcji rodnika DPPH z przeciwutleniaczem, powodując dodatkowe zafałszowanie pomiarów. Rozwiązaniem mogą być pomiary pełnej kinetyki wygaszania, jak to przedstawiono w prowadzonych wcześniej badaniach soków jabłkowych [10].

Bezpośrednio po otrzymaniu pojemność przeciwutleniająca odtwarzanych soków truskawkowych bez pektyny wynosiła 1,26, a z pektyną 1,33 mM Troloxu/100 ml (rys. 3). W przypadku soków z czarnych porzeczek wartości te wynosiły odpowiednio 3,41 i 3,48 mM Troloxu/100 ml.



Rys. 3. Zmiany pojemności przeciwutleniającej w sokach z truskawek i z czarnych porzeczek w trakcie ich przechowywania.

Fig. 3. Changes of antioxidant capacity in strawberry and black currant juices during storage.

Największe zmiany pojemności przeciwutleniającej występowały w próbkach bez dodatków. Po 4 miesiącach przechowywania soków truskawkowych nastąpiło zmniejszenie zdolności wygaszania wolnych rodników do 72,2% pierwotnej wartości, zaś w sokach porzeczkowych do 88,3%. Z kolei pojemność przeciwutleniająca soków z dodatkiem pektyny była bardzo stabilna i po czterech miesiącach przechowywania stanowiła odpowiednio 89,5% oraz 94,4% wartości próbki kontrolnej. Świadczy to

o przydatności i słusznosci dodawania tych substancji zwłaszcza do soków truskawkowych, w których występują bardzo labilne pelargonidyny [13].

W celu pełniejszej charakterystyki barwy analizowanych soków wykonano pomiary barwy w świetle przechodzącym metodą fotokolorymetryczną w systemie CIELAB. W próbkach kontrolnych soków truskawkowych i porzeczkowych wartość parametru  $a^*$ , informującego o położeniu w przestrzeni barwnej pomiędzy czerwienią i zielenią, wynosiła odpowiednio 44,56 i 31,03, natomiast parametru  $b^*$ , określającego położenie między barwą żółtą a niebieską, odpowiednio 33,71 i 8,49 (tab. 1).

Tabela 1

Wyniki pomiarów barwy soków z truskawek i czarnych porzeczek w systemie CIELAB w trakcie ich przechowywania.

Measurements results of colour in strawberry and black currant juices in CIELAB system during storage.

Dodatek pektyny Pectin addition	Czas przechowywania [miesiące] Storage time [months]	Parametry barwy / Colour parameters					
		Sok truskawkowy Strawberry juice			Sok z czarnej porzeczki Blackberry juice		
		L*	a*	b*	L*	a*	b*
NS	0	19,65	44,56	33,71	5,84	33,23	9,95
	2	13,49	35,66	23,20	5,35	31,78	9,08
	4	11,75	31,51	20,11	4,95	30,37	8,44
P	0	25,10	50,61	43,18	5,14	31,57	8,74
	2	18,41	42,27	31,67	4,95	30,26	8,41
	4	15,25	38,57	26,24	4,43	28,07	7,58

Objaśnienia: / Explanatory notes:

NS – próbka kontrolna / control samples without stabilizer; P – próbki z pektyną / samples with pectin.

Wykazano, że w przypadku soków truskawkowych dodatek pektyny spowodował przesunięcie parametrów barwy w kierunku czerwono-żółtym. Począwszy od momentu otrzymania poprzez cały okres składowania, wartości  $a^*$  i  $b^*$  wzrosły odpowiednio do 50,61 oraz 43,18. Dodatek preparatu pektynowego spowodował także wzrost parametru  $L^*$ , który przyjmuje wartości od 0 (czarny) do 100 (biały) [12]. Jasność soku truskawkowego w wyniku wzbogacania w pektynę wzrosła z 19,65 do 25,10. Wyżej opisywanego efektu zasadniczo nie obserwowano w sokach z czarnych porzeczek, w których zmiany parametrów barwy w zakresie wszystkich badanych parametrów miały bardzo łagodny charakter. Należy jednak podkreślić, że w przypadku soków ciemno zabarwionych różnice barwy są stosunkowo trudne do uchwycenia [12]. Stabilizacja barwy soków ciemno zabarwionych, takich jak z czarnych porzeczek, stwarza dość

duże problemy. Potwierdzają to również wcześniejsze badania nad stabilizacją antocyjanów i trwałością czerwonej barwy soków z owoców aronii, czarnego bzu, czarnej porzeczki, czarnej róży i jagody kamczackiej flawonami tarczycy bajkalskiej, w których uzyskiwano istotną poprawę barwy wszystkich soków z wyjątkiem soku z czarnej porzeczki [9].

### Wnioski

1. Stosowanie 0,1% dodatku pektyn wysoko metylowanych do soków odtwarzanych z koncentratów nie pozwala na istotne zmniejszenie strat antocyjanów i polifenoli w czasie ich przechowywania.
2. Wpływ pektyn na barwę zależy od rodzaju użytego do produkcji surowca wyjściowego. Dodatek preparatów pektynowych do soków truskawkowych powoduje wzrost udziału barwy czerwonej przy jednoczesnym wzroście jasności.
3. Dodatek preparatów pektynowych do soków przyczynia się do zahamowania spadku całkowitej pojemności przeciwutleniającej podczas przechowywania.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Dervisi P., Lamb J., Zabetakis I.: High pressure processing in jam manufacture: effects on textural and colour properties. *Food Chem.*, 2001, **73**, 85-91.
- [2] Fuleki T., Francis F.J.: Quantitative methods for anthocyanins. *J. Food Sci.*, 1968, **33**, 72.
- [3] Gao X., Ohlander M., Jeppsson N., BjörTrajkovski V.: Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) during maturation. *J. Agr. Food Chem.*, 2000, **48**, 1485-1490.
- [4] Heins A., Stöckmann H., Schwarz K.: Designing „anthocyanin-tailored” food composition. In: *Biologically-active phytochemicals in food: Analysis, bioavailability and function*. Royal Soc. Chem., 2001, pp. 281-377.
- [5] Iversen C. K.: Black currant nectar: effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. *J. Food Sci.*, 1999, **64**, 1, 37-41.
- [6] Kalisz S., Wolniak M.: Zmiany związków fenolowych podczas przechowywania soków malinowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47) Supl.**, 93-100.
- [7] Kodeks praktyki do oceny soków owocowych i warzywnych. KUPSiNB. Warszawa 2001.
- [8] Nosecka B., Bugała A., Mierwiński J., Smoleński T., Stęпка G., Strojewska I., Szczepaniak I., Świetlik J.: Rynek owoców i warzyw. Stan i perspektywy. IERiGŻ, Warszawa 2006, **29**, 10-17.
- [9] Oszmiański J., Kalisz B., Kalisz S.: Influence of skullcap flavones on colour, anthocyanin stability and antioxidant activity of some berry juices. *Fruit Proc.*, 2001, **12**, 512.
- [10] Oszmiański J., Wolniak M., Wojdyło A., Wawer I.: Comparative study of polyphenolic content and antiradical activity of cloudy and clear apple juices. *J. Sci. Food Agric.*, 2007, **4 (87)**, 4, 573-579.

- [11] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 września 2003 w sprawie szczególnych wymagań w zakresie jakości handlowej soków i nektarów owocowych. Dz. U. 2003 r. Nr 177, poz. 1735 z późniejszymi zmianami (Dz. U. 2004 r. Nr 282, poz. 2810).
- [12] Sokół-Łętowska A., Kucharska A.: Zmiany barwy, zawartości polifenoli i właściwości przeciwrodnikowych soku z czarnej porzeczki podczas przechowywania. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.* 2001, **1**, 24-26.
- [13] Wolniak M., Kalisz S.: Wpływ pektyn nisko metylowanych na zawartość antocyjanów i polifenoli ogółem oraz ich aktywność przeciwrodnikową oznaczoną metodą EPR w sokach truskawkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **4 (49)**, 39-46.

#### CHANGES OF SELECTED QUALITATIVE DISTINGUISHING FEATURES DURING STORAGE OF RESTORED JUICES FROM CONCENTRATES

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

The objective of this study was the assessment of total polyphenolic content and antioxidant activity in strawberry and blackcurrant juices with addition of pectins in comparison to clear juices. Samples were storage at 20°C without light. During 4 months storage the decrease in anthocyanins and polyphenols content was observed in both juices as well as radical scavenging activity was lower than for control samples. The composition of these juices were determined by HPLC and radical scavenging properties were measured by EPR using stable 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. After preparation of blackcurrant juices antioxidant activity values were similar to samples with addition of pectins and control. antioxidant activity was 3,48 and 3,41 mM Troloxu/100 ml respectively. After 4 months antioxidant activity were 3,29 and 3,01 mM Troloxu/100 ml respectively. It was shown that anthocyanins are stabilizing by pectin addition.

**Key words:** strawberry, blackcurrant, juices, anthocyanins, antioxidant activity, EPR, free radical ☒



MAGDALENA KOPERA, MARTA MITEK

## WPLYW PROCESU ODWADNIANIA OSMOTYCZNEGO NA ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI W SUSZACH GRUSZKOWYCH (*PYRUS COMMUNIS* I *PYRUS PYRIFOLIA*)

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu procesu odwadniania osmotycznego na zawartość związków polifenolowych w suszach gruszkowych. Materiałem do badań były owoce gruszy azjatyckich (*Pyrus pyrifolia* Nakai) odmian Hosui i Shinseiki oraz owoce gruszy europejskiej (*Pyrus communis* L.) odmiany Konferencja. Kostki gruszek o boku 10 mm odwadniano osmotycznie w roztworach sacharozy, koncentratu gruszkowego i mieszaninie koncentratu gruszkowego i roztworu sacharozy (1:1). Proces odwadniania prowadzono w temp. 20°C przez 1, 3 i 6 godz. Następnie owoce po odwadnianiu suszono konwekcyjnie w temp. 70°C przez 4,5 godz. W owocach świeżych, po zabiegach wstępnych oraz w otrzymanych suszach oznaczono zawartość polifenoli ogółem oraz zawartość poszczególnych związków fenolowych metodą HPLC.

Odwadnianie osmotyczne wpłynęło na zawartość polifenoli ogółem w próbkach gruszek. Stwierdzono, że odwadnianie w roztworze koncentratu gruszkowego, jak i w mieszaninie koncentratu i sacharozy spowodowało wzrost zawartości polifenoli. Inaczej oddziaływał roztwór sacharozy, powodując zmniejszenie zawartości polifenoli, tym większe im dłużej trwał proces odwadniania osmotycznego. Po 6 godz. procesu w roztworze sacharozy zawartość polifenoli w kostkach była o 50% mniejsza niż w surowcach. Proces suszenia konwekcyjnego spowodował zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem w suszach w stosunku do materiału odwadnianego.

**Słowa kluczowe:** gruszka, polifenole, susze, odwadnianie osmotyczne

### Wprowadzenie

Coraz częściej suszone owoce stanowią cenny dodatek do wielu produktów spożywczych, takich jak: płatki śniadaniowe, jogurty, serki twarogowe, pieczywo cukiernicze. Susze owocowe zaliczane są do produktów zachowujących w znacznym stopniu skład chemiczny świeżych owoców, z wyjątkiem zawartości wody i składników lot-

nych. Gruszki azjatyckie charakteryzujące się jasnym miąższem o porowatej i kruchej teksturze mogą stanowić doskonały materiał do produkcji tego typu produktu.

Obecnie jako obróbkę wstępną przed suszeniem stosuje się odwadnianie osmotyczne, które zwiększa trwałość barwników podczas samego procesu, jak i w okresie przechowywania suszy oraz przyczynia się do lepszego zachowania właściwości smakowo-zapachowych produktu [3, 10]. Ponadto odwadnianie osmotyczne jest metodą umożliwiającą uzyskanie produktu o bardzo dobrej jakości przez usuwanie wody bez przemiany fazowej [5].

Produkty spożywcze odwodnione osmotycznie są tylko częściowo utrwalone. Należy traktować je jako półprodukty, a proces odwadniania osmotycznego jako obróbkę wstępną. Najpopularniejszą metodą zapewniającą trwałość odwodnionych owoców jest suszenie konwekcyjne. Owoce poddane procesowi osmotyczno-konwekcyjnemu zachowują w prawie niezmienionym stanie barwę, zapach i smak [4]. Osmotyczno-konwekcyjna metoda produkcji suszy powoduje zachowanie wielu cech charakterystycznych dla świeżych owoców i umożliwia przechowywanie produktu bez obawy o jego jakość i przydatność do spożycia. Oprócz wielu walorów wymienionych wcześniej, surowiec poddany osmotycznemu odwodnieniu charakteryzuje się porowatą strukturą, gładką powierzchnią, prawie niezmienionym kształtem i wielkością, co poprawia jego walory sensoryczne i ułatwia odtwarzanie w wodzie [1].

Celem pracy było określenie wpływu procesu odwadniania osmotycznego na zawartość związków polifenolowych w suszach z owoców gruszy.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem do badań były owoce grusz azjatyckich (*Pyrus pyryfolia* Nakai) odmian Hosui i Shinseiki oraz owoce gruszy europejskiej (*Pyrus communis* L.) odmiany Konferencja pochodzące z Pola Doświadczalnego Katedry Sadownictwa SGGW w Warszawie-Ursynowie, zebrane w stanie dojrzałości zbiorczej w 2003 roku.

Owoce po umyciu i obraniu krojono na kostki o boku 10 mm. W czasie krojenia materiał zanurzano w 0,5% roztworze kwasu cytrynowego o temp. 20°C na okres nie dłuższy niż 10 min w celu ograniczenia procesów enzymatycznego brunatnienia. Blanszowanie prowadzono w 9% roztworze sacharozy, w temp. 90°C w ciągu 0,5 min. Materiał chłodzono, zanurzając w zimnej wodzie przez 1 min. Do odwadniania osmotycznego używano trzech roztworów: zagęszczonego koncentratu gruszkowego o ekstrakcie 65%, roztworu sacharozy o stężeniu 65% i mieszaniny koncentratu gruszkowego i roztworu sacharozy (1:1). Owoce odwadniano w temp. 20°C przez 1, 3 i 6 godz. Stosunek owoców do roztworu odwadniającego wynosił 1 : 4. Suszenie konwekcyjne prowadzono w suszarce laboratoryjnej – Digitronic 2005162 firmy J.P. Selecta, w pojedynczej warstwie, w temp. 70°C przez 4,5 godz., przy prędkości przepływu powietrza 1,5 m/s. Po zakończonym procesie suszenia otrzymane produkty chłodzono do

temperatury pokojowej. W owocach świeżych, po zabiegach wstępnych oraz w otrzymanych suszach oznaczano zawartość polifenoli ogółem [6] oraz zawartość poszczególnych związków fenolowych metodą HPLC. Do rozdzielania i identyfikacji związków fenolowych stosowano chromatograf firmy PerkinElmer seria 200 z detektorem Diode Array Detektor (DAD). Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny LiChroCART® 125-3 (Merck KGaA), przy prędkości przepływu  $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . Rejestrację prowadzono przy długości fali: 280-360 nm. Temp. termostata kolumny wynosiła  $22^\circ\text{C}$ . Fazę ruchomą stanowiła mieszanina: woda (A) : 20% kwas mrówkowy (B) : 100% acetonitryl (C), o zmiennych parametrach gradientu A i C. Identyfikacji związków fenolowych dokonywano na podstawie czasu retencji porównywanego ze wzorcem oraz przy użyciu zbieranych przez DAD „widm” UV (spektrum w zakresie 200-700). Zawartość związków fenolowych podano w  $\text{mg}/100 \text{ g}$ .

Wyniki doświadczenia opracowano statystycznie przy użyciu dwuczynnikowej analizy wariancji w układzie losowym. Ocenę istotności wpływu poszczególnych czynników przeprowadzono na podstawie testu F Fishera-Snedecora. Do oceny istotności różnic między wartościami średnimi użyto testu Tukey’a, przyjmując poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Odwadnianie osmotyczne wpłynęło na zawartość polifenoli ogółem w odwadnianych próbkach gruszek. Proces prowadzony w roztworze koncentratu gruszkowego, jak i w mieszaninie koncentratu i sacharozy, spowodował wzrost zawartości polifenoli w owocach. Po 6 godz. odwadniania stwierdzono 2–3-krotny wzrost zawartości polifenoli ogółem, przy czym najwyższą ich zawartość notowano w próbkach owoców odmiany Konferencja. Inaczej oddziaływał roztwór sacharozy, powodując zmniejszenie zawartości polifenoli w kostkach, tym większe im dłużej trwał proces odwadniania osmotycznego. Po 6 godz. odwadniania osmotycznego w roztworze sacharozy zawartość polifenoli w kostkach była o 50% mniejsza niż w świeżych owocach. Również Ścibisz i Mitek [8] wykazały, że obróbka wstępna owoców przed suszeniem tj. blanszowanie lub/i odwadnianie osmotyczne powodowały obniżenie pojemności przeciwutleniającej owoców borówki wysokiej. Autorki tłumaczą to migracją związków polifenolowych do czynnika odwadniającego.

Proces suszenia konwekcyjnego spowodował zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem w suszach w stosunku do materiału odwadnianego (tab. 1). Zmiany zawartości polifenoli w suszach uwarunkowane były parametrami obróbki wstępnej. Wydłużony czas odwadniania w roztworze koncentratu i jego mieszaninie z sacharozą sprzyjał zachowaniu większej zawartości polifenoli w suszach. Natomiast w produkcie odwadnianym w sacharozie, mniejszej zawartości polifenoli przed suszeniem odpowiadał też ich niższy poziom w suszu (tab. 1). O negatywnym oddziaływaniu temperatury na

wartość odżywczą suszy informują niektórzy autorzy [2, 7, 9]. W badaniach Fabisiak i wsp. [2] stwierdzono, że zawartość polifenoli w suszach jabłkowych uległa zmniejszeniu o około 30 - 35% w odniesieniu do materiału surowego, natomiast Rząca i Witrowa-Rajchert [7] odnotowały ok. 15% redukcję polifenoli podczas procesu suszenia konwekcyjnego jabłek. Velioglu i wsp. [9] również stwierdzili, że proces suszenia wpływa destrukcyjnie na zawartość polifenoli i związków decydujących o aktywności przeciwutleniającej surowca.

Tabela 1

Zawartość polifenoli ogółem w owocach świeżych, owocach po odwadnianiu oraz suszach otrzymanych z owoców gruszy [mg/100 g].

Total phenolics content in fresh, osmo-dehydrated and dried of osmo-dehydrated pears [mg/100 g].

Substancja osmotyczna Osmotic solution	Produkty / Products					
	Owoce odwadniane osmotycznie Osmo-dehydrated fruits			Susze z owoców odwadnianych osmotycznie Dried of osmo-dehydrated fruits		
	Czas odwadniania [godz.] / Contact times [h]					
	1	3	6	1	3	6
Odmiana / Cultivar Hosui						
Owoce świeże / Fresh fruits : 37,0						
koncentrat / concentrate	C 54,9 a	C 69,2 b	C 93,5 c	C 52,6 a	C 65,1 b	C 88,2 c
sacharoza / sucrose	A 30,3 c	A 22,7 b	A 18,1 a	A 20,6 c	A 14,9 b	A 10,0 a
mix <sup>z</sup>	B 38,9 a	B 49,0 b	B 60,3 c	B 35,4 a	B 42,8 b	B 53,1 c
Odmiana / Cultivar Shinseiki						
Owoce świeże/ Fresh fruits: 30,0						
koncentrat / concentrate	B 49,9 a	C 62,8 b	C 84,9 c	C 47,8 a	C 59,2 b	C 80,1 c
sacharoza / sucrose	A 27,5 b	A 20,6 ab	A 16,4 a	A 18,7b	A 13,5 ab	A 9,1 a
mix <sup>z</sup>	A 35,4 a	B 44,5 a	B 54,8 b	B 32,1a	B 38,8 a	B 48,2 b
Odmiana / Cultivar Konferencja						
Owoce świeże/ Fresh fruits: 54,0						
koncentrat / concentrate	B 69,2 a	C 83,0 b	C 107,3 c	B 65,1 a	C 79,6 b	C 100,2 c
sacharoza / sucrose	A 42,5 c	A 31,4 b	A 20,3 a	A 31,5 c	A 22,2 b	A 15,3 a
mix <sup>z</sup>	B 64,2 a	B 72,6 b	B 83,1 c	B 60,9 a	B 67,7 b	B 74,9 c

Objaśnienie: / Explanation:

Wartości średnie oznaczone taką samą dużą literą (w kolumnach) i małą literą (w wierszach) nie różnią się między sobą statystycznie istotnie przy  $\alpha = 0,05$  / Mean values followed by the same capital letter (vertically) and little letter (horizontally) do not differ at 5% level of significance;

<sup>z</sup> - mieszanina koncentratu gruszkowego z roztworem sacharozy w stosunku 1:1 / mixture pears concentrate with sucrose solution 1:1.

Tabela 2

Zawartość związków fenolowych w gruszkach odwodnionych osmotycznie [g/100 g].  
Individual phenolics contents in osmo-dehydrated pears [g/100 g].

Polifenole HPLC Phenolics HPLC	Substancja osmotyczna Osmotic solution	Owoce odwadniane osmotycznie Osmo-dehydrated fruits		
		Czas odwadniania [godz.] / Contact times [h]		
		1	3	6
Odmiana / Cultivar: Hosui				
(+katechina (+catechins)	koncentrat / concentrate	A 0,14 a	B 0,18 ab	C 0,24 b
	sacharoza / sucrose	A 0,08 a	A 0,04 a	A 0,02 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,10 a	B 0,13 a	B 0,16 a
kwas chlorogenowy chlorogenic acid	koncentrat / concentrate	B 1,23 a	C 1,56 b	C 2,11 c
	sacharoza / sucrose	A 0,68 b	A 0,51 a	A 0,41 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,87 a	B 1,10 b	B 1,36 c
(-)epikatechina (-)epicatechin	koncentrat / concentrate	B 0,33 a	C 0,41 b	C 0,56 c
	sacharoza / sucrose	A 0,18 a	A 0,13 a	A 0,11 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,23 a	B 0,29 ab	B 0,37 b
kwas ferulowy ferulic acid	koncentrat / concentrate	B 0,09 a	C 0,12 b	C 0,17 c
	sacharoza / sucrose	A 0,05 a	A 0,00 b	A 0,00 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,07 a	B 0,08 ab	B 0,11 b
kwas synapinowy synapic acid	koncentrat / concentrate	B 0,11 a	C 0,15 a	C 0,20 b
	sacharoza / sucrose	A 0,06 b	A 0,01 a	A 0,00 a
	mix <sup>z</sup>	AB 0,08 a	B 0,10 b	B 0,13 c
Odmiana / Cultivar Shinseiki				
(+katechina (+catechins)	koncentrat / concentrate	A 0,10 a	B 0,13 a	C 0,22 b
	sacharoza / sucrose	A 0,05 b	A 0,00 a	A 0,00 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,07 a	B 0,09 b	B 0,14 c
kwas chlorogenowy chlorogenic acid	koncentrat / concentrate	B 3,04 a	C 4,64 b	C 6,20 c
	sacharoza / sucrose	A 1,64 a	A 1,84 a	A 1,59 a
	mix <sup>z</sup>	A 2,15 a	B 3,28 b	B 3,99 b
(-)epikatechina (-)epicatechin	koncentrat / concentrate	B 0,24 a	B 0,28 a	C 0,48 b
	sacharoza / sucrose	A 0,13 a	A 0,11 a	A 0,12 a
	mix <sup>z</sup>	AB 0,16 a	AB 0,20 a	B 0,31 b
kwas ferulowy ferulic acid	koncentrat / concentrate	B 0,11 a	C 0,11 a	C 0,27 b
	sacharoza / sucrose	A 0,06 b	A 0,00a	A 0,00 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,07 a	B 0,08 a	B 0,17 b
kwas synapinowy synapic acid	koncentrat / concentrate	B 0,20 a	B 0,17 a	C 0,42 b
	sacharoza / sucrose	A 0,10 a	A 0,05 a	A 0,11 a
	mix <sup>z</sup>	AB 0,14 a	AB 0,12 a	B 0,27 b
Odmiana / Cultivar Konferencja				
kwas chlorogenowy chlorogenic acid	koncentrat / concentrate	A 3,58 a	B 4,34 a	B 5,51 a
	sacharoza / sucrose	A 2,19 a	A 1,62 a	A 1,05 a
	mix <sup>z</sup>	A 3,34 a	B 3,72 a	B 4,33 a
(-)epikatechina (-)epicatechin	koncentrat / concentrate	B 0,53 a	B 0,65 ab	B 0,83 b
	sacharoza / sucrose	A 0,33 a	A 0,24 a	A 0,16 a
	mix <sup>z</sup>	AB 0,50 a	B 0,56 a	B 0,64 a

Objaśnienie jak w tab. 1. / Explication as in Tab. 1.

Tabela 3

Zawartość związków fenolowych w suszu z gruszek odwadnianych osmotycznie [mg/100 g].  
Individual phenolics contents in dried of osmo-dehydrated fruits pears [mg/100 g].

Polifenole HPLC Phenolics HPLC	Substancja osmotyczna Osmotic solution	Suszu z owoców odwadnianych osmotycznie Dried of osmo-dehydrated fruits		
		Czas odwadniania [godz.] / Contact times [h]		
		1	3	6
Odmiana / Cultivar Hosui				
(+)katechina (+)catechina	koncentrat / concentrate	A 0,09 a	A 0,09 a	B 0,09 a
	sacharoza / sucrose	A 0,08 a	A 0,07 a	A 0,06 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,09 a	A 0,09 a	B 0,09 a
kwas chlorogenowy chlorogenic acid	koncentrat / concentrate	A 0,75 a	A 0,77 a	B 0,79 a
	sacharoza / sucrose	A 0,67 a	A 0,62 a	A 0,54 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,75 a	A 0,76 a	B 0,79 a
(-)epikatechina (-)eocatechina	koncentrat / concentrate	A 0,20 a	A 0,21 a	B 0,21 a
	sacharoza / sucrose	A 0,18 a	A 0,17 a	A 0,15 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,20 a	A 0,20 a	B 0,21 a
kwas ferulowy ferulic acid	koncentrat / concentrate	A 0,06 a	A 0,06 a	B 0,06 a
	sacharoza / sucrose	A 0,04 a	A 0,00 a	A 0,00 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,06 a	A 0,06 a	B 0,06 a
kwas synapinowy synapic acid	koncentrat / concentrate	A 0,07 a	A 0,07 a	B 0,08 a
	sacharoza / sucrose	A 0,06 b	A 0,06 b	A 0,00 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,07 a	A 0,07 a	B 0,08 a
Odmiana / Cultivar Shinseiki				
(+)katechina (+)catechina	koncentrat / concentrate	B 0,07 a	B 0,07 a	B 0,08 a
	sacharoza / sucrose	A 0,00 a	A 0,00 a	A 0,00 a
	mix <sup>z</sup>	B 0,06 a	B 0,06 a	B 0,08 a
kwas chlorogenowy chlorogenic acid	koncentrat / concentrate	A 1,85 a	B 2,29 a	B 2,32 a
	sacharoza / sucrose	A 1,68 a	A 1,52 a	A 1,20 a
	mix <sup>z</sup>	A 1,84 a	B 2,25 a	B 2,31 a
(-)epikatechina (-)eocatechina	koncentrat / concentrate	A 0,15 a	A 0,14 a	B 0,18 a
	sacharoza / sucrose	A 0,13 a	A 0,09 a	A 0,09 a
	mix <sup>z</sup>	A 0,15 a	A 0,14 a	B 0,18 a
kwas ferulowy ferulic acid	koncentrat / concentrate	B 0,07 ab	B 0,05 a	B 0,10 b
	sacharoza / sucrose	A 0,00 a	A 0,00 a	A 0,00 a
	mix <sup>z</sup>	B 0,07 ab	B 0,04 a	B 0,10 b
kwas synapinowy synapic acid	koncentrat / concentrate	A 0,09 a	A 0,12 ab	B 0,16 b
	sacharoza / sucrose	A 0,04 a	A 0,11 b	A 0,08 ab
	mix <sup>z</sup>	A 0,09 a	A 0,12 ab	B 0,16 b
Odmiana / Cultivar Konferencja				
kwas chlorogenowy chlorogenic acid	koncentrat / concentrate	A 2,37 a	A 2,62 a	A 2,63 a
	sacharoza / sucrose	A 1,68 a	A 1,63 a	A 1,56 a
	mix <sup>z</sup>	A 2,67 a	A 2,69 a	A 2,69 a
(-)epikatechina (-)eocatechina	koncentrat / concentrate	AB 0,356 a	B 0,40 a	B 0,40 a
	sacharoza / sucrose	A 0,254 a	A 0,25 a	A 0,24 a
	mix <sup>z</sup>	B 0,405 a	B 0,41 a	B 0,41 a

Objaśnienie jak w tab. 1. / Explanation as in tab. 1.

Ogólna zawartość polifenoli, jak i poszczególnych związków fenolowych w odwadnianych owocach, zależała od czasu odwadniania i substancji osmotycznej. Po procesie odwadniania osmotycznego w próbkach z owoców 'Konferencji' zidentyfikowano dwa związki: kwas chlorogenowy i (-)epikatechinę, podczas gdy w gruszkach azjatyckich oprócz wymienionych także (+)katechinę, kwas ferulowy i synapinowy (tab. 2). Odwadnianie osmotyczne owoców w koncentracji gruszkowej spowodowało zwiększenie zawartości kwasu chlorogenowego i (-)epikatechiny w odwadnianych gruszkach, natomiast odwadnianie w roztworze sacharozy spowodowało zmniejszenie zawartości tych związków. Należy jednak zaznaczyć, że w wyniku odwadniania osmotycznego gruszek badanych odmian, niektóre ze związków zidentyfikowane w owocach przed odwadnianiem nie zostały stwierdzone po ich osmotycznym odwadnianiu, co przypuszczalnie było związane z migracją tych związków do środowiska roztworu odwadniającego.

Podczas procesu suszenia nastąpiło znaczące zmniejszenie zawartości związków fenolowych zawartych w suszach (tab. 3). Mimo zmniejszenia zawartości kwasów fenolowych i (-)epikatechiny po procesie suszenia konwekcyjnego, susze z gruszek wstępnie odwadnianych w roztworze koncentratu gruszkowego i roztworze mieszaniny sacharozy z koncentratem wykazywały istotnie większą zawartość analizowanych związków w odniesieniu do suszów gruszek odwadnianych wstępnie w roztworze sacharozy. Rząca i Witrowa-Rajchert [7], badając wpływ procesu suszenia konwekcyjnego na aktywność przeciwutleniającą suszu jabłkowego wykazały, że proces ten spowodował ok. 70% zmniejszenie aktywności w porównaniu z surowcem. Również Ścibisz i Mitek [8], badając aktywność przeciwutleniającą suszów z owoców borówki wysokiej, stwierdziły, że proces suszenia spowodował bardzo wysokie straty związków polifenolowych.

### **Wnioski**

1. Analiza wpływu substancji osmotycznej na jakość suszu gruszkowego wykazała, że niezależnie od odmiany susze z owoców odwadnianych w zagęszczonym soku gruszkowym odznaczają się, w porównaniu z produktami odwadnianymi w roztworze sacharozy, wyższą zawartością polifenoli.
2. Zawartość kwasów fenolowych i (-)epikatechiny po procesie suszenia zmniejszyła się, niemniej jednak susze z gruszek odwadnianych w roztworze koncentratu gruszkowego lub mieszaninie sacharozy z koncentratem wykazywały istotnie wyższą zawartość analizowanych związków w porównaniu z suszami z gruszek odwadnianych w roztworze sacharozy.
3. W materiale z gruszek odmiany Konferencja stwierdzono obecność kwasu chlorogenowego i (-)epikatechiny, podczas gdy w próbkach z gruszek azjatyckich, poza



- wymienionymi, stwierdzono również obecność (+)katechiny, kwasu ferulowego i synapinowego.
4. Zawartości katechin oraz kwasów: ferulowego i synapinowego była prawie 8-krotnie większa w kostkach odwadnianych w roztworze koncentratu gruszkowego niż w roztworze sacharozy.
  5. Proces suszenia konwekcyjnego spowodował zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem w suszach w stosunku do materiału po odwadnianiu osmotycznym.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Cerkowniak M., Lenart A.: Wpływ rodzaju substancji osmotycznej na zmiany temperatury i czasu suszenia konwekcyjnego jabłek, Zesz. Nauk. Politechniki Łódzkiej, Inżynieria Chemiczna i Procesowa, 1999, **825 (25)**, 9-18.
- [2] Fabisiak A., Witrowa-Rajchert D., Głuszko J.: Wpływ temperatury na wybrane właściwości jabłek suszonych konwekcyjnie i sublimacyjnie. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2003, **2 (35)** Supl., 19-27.
- [3] Lenart A., Cerkowniak M.: Osmo-convective drying of apple. The Third Main Meeting, Copernicus Programme: Process Optimization and Minimal Processing of Foods. Katholieke Universiteit Leuven, Leuven (Belgium), 1997, **3**, 26-32.
- [4] Lenart A., Lewicki P.P.: Owoce i warzywa utrwalone sposobem osmotyczno-owiewowym. Przem. Spoż., 1996, **50 (8)**, 70-72.
- [5] Lenart A.: Osmotyczne odwadnianie jako obróbka wstępna przed suszeniem konwekcyjnym owoców i warzyw. Przem. Spoż., 1990, **44 (12)**, 307-309.
- [6] Peri C., Pompei G.: An assay different phenolic fraction in wines. Am. J. Enol. Vitic, 1971, **22 (2)**, 55-58.
- [7] Rząca M., Witrowa-Rajchert D.: Aktywność przeciwrodnikowa związków fenolowych zawartych w suszu jabłkowym. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2006, **2 (47)** Supl., 280-289.
- [8] Ścibisz I., Mitek M.: Aktywność przeciwutleniająca i zawartość związków fenolowych w suszach z owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2006, **4 (49)**, 68-76.
- [9] Velioğlu Y., Mazza G, Gao L, Oomah B.: Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. J. Agric. Food Chem., 1998, **46**, 4113-4117.
- [10] Witrowa-Rajchert D., Lewicki P.P., Lenart A., Pałacha Z., Sitkiewicz I.: Kinetyka suszenia konwekcyjnego warzyw wstępnie odwodnionych osmotycznie. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. PAN, Budowa i Eksploatacja Maszyn Spożywczych, 1996, **430**, 205-210.



**EFFECT OF OSMOTIC DEHYDRATION ON POLYPHENOLS CONTENT IN DRIED PEARS  
(*PYRUS COMMUNIS* I *PYRUS PYRIFOLIA*)**

## S u m m a r y

The purpose of study was to determine the effects of osmotic dehydration process on polyphenols content in dried pears. The materials for the study involved samples of the fruits of Asian pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai) cultivars: Hosui, Shinseiki and the fruits of European pears (*Pyrus communis* L.) cultivar Conference. Pears samples shaped as 10 mm were osmotic dehydrated in sucrose solution, pear concentrate and mixture of sucrose solution and pear concentrate (1:1). Temperature of osmotic dehydration of pears was at 20°C, during 1, 3 and 6 hours. Next, after dehydration fruits were dried at 70°C temperature during 4,5 h. In fresh, osmo-dehydrated and dried of osmo-dehydrated pears total phenolics and phenolic compounds content were analyzed using the HPLC technique.

Osmotic dehydration influenced in total phenolics content in the samples of pears. It was stated that dehydration in a solution of concentrated pears and and mixture of sucrose solution and pear concentrate increased total phenolics contents of the osmo-dehydrated fruits. Solution of sucrose had reduced total phenolics contents the more the longest dehydration lasted. After 6 h of osmotic dehydration of pears in sucrose solution 50% lost of phenolics content was observed. A convective drying process caused a decrease of the total phenolics content in comparison to basic material.

**Key words:** pear, polyphenols, dried, osmotic dehydration ☒

MAŁGORZATA RZĄCA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT

## WPLYW PARAMETRÓW SUSZENIA KONWEKCYJNO- MIKROFALOWEGO NA AKTYWNOŚĆ PRZECIWRODNIKOWĄ JABŁEK

### Streszczenie

Celem pracy było porównanie wpływu suszenia konwekcyjno-mikrofalowego i konwekcyjnego (w temp. 70°C) na aktywność przeciwutleniającą i zawartość polifenoli w jabłkach. Suszenie z wykorzystaniem mikrofal skróciło czas suszenia nawet o 63%, w porównaniu z metodą konwekcyjną. W suszach otrzymanych przy zastosowaniu mikrofal o mocy 300 W zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniająca były na podobnym lub nawet wyższym poziomie niż w jabłkach surowych. Użycie mikrofal o mniejszej mocy (150 W) spowodowało istotne zmniejszenie aktywności przeciwutleniającej o 21-26% i zawartości polifenoli, ale był on i tak mniejszy niż w przypadku jabłek odwadnianych konwekcyjnie.

**Słowa kluczowe:** jabłka, suszenie mikrofalowe, suszenie konwekcyjne, aktywność przeciwrodnikowa, zawartość polifenoli

Suszenie konwekcyjne owoców i warzyw jest często stosowane w przemyśle, ze względu na prostotę budowy i łatwą eksploatację urządzeń. Długi czas suszenia oraz wysoka temperatura prowadzą jednak do wielu niekorzystnych zmian surowca m.in. tekstury, barwy, kurczenia się, strat wartości odżywczej, w tym również zmniejszenia zawartości polifenoli i utraty właściwości przeciwutleniających. Przeciwutleniacze zawarte w warzywach i owocach odgrywają istotną rolę w diecie człowieka. Wspomagają ochronę organizmu człowieka przed chorobami cywilizacyjnymi oraz procesem starzenia, wywołanych m.in. oddziaływaniem wolnych rodników na komórki [2].

Chęć uzyskania wyrobów o lepszej jakości spowodowała poszukiwanie nowych metod suszenia żywności, które nie tylko dają lepszy produkt, ale również charakteryzują się niższym kosztem wytwarzania. W ostatnich latach obserwuje się tendencję do łączenia metody suszenia konwencjonalnego i mikrofalowego. Mikrofałe łatwo wnika- ją do produktu oddając swoją energię ogrzewają go od wewnątrz, a nie tylko na po-

wierzchni, jak to ma miejsce przy suszeniu konwekcyjnym za pomocą gorącego powietrza [3, 7]. Tak więc brak naprężeń termicznych w materiale pozwala na uniknięcie powstawania utwardzonych struktur utrudniających rehydrację, a tym samym obniżających jakość suszu [15].

Aktywność przeciwutleniająca i zawartość polifenoli zależą m.in. od okresu zbioru, części surowca roślinnego, rodzaju i odmiany, czasu magazynowania [4, 6] oraz od metody i zastosowanych parametrów suszenia [13]. Ze względu na to, że konsumenci coraz częściej wybierają żywność wygodną i szybką w przygotowaniu, produkcja dań gotowych oraz produktów przeznaczonych do bezpośredniego spożycia dynamicznie się rozwija. Bardzo częstym składnikiem takiej żywności są suszone warzywa i owoce. Dlatego też ich produkcja stale wzrasta i w 2000 r. osiągnęła w Polsce 17,7 tys. ton, a w 2004 r. 27,9 tys. ton [11]. Jednocześnie informacje i doniesienia naukowe na temat aktywności przeciwutleniającej suszonej żywności są stosunkowo nieliczne, dlatego też istnieje potrzeba podjęcia badań w tym zakresie.

Celem pracy było określenie wpływu parametrów suszenia konwekcyjno-mikrofalowego, tj. mocy mikrofal i temperatury owiewającego powietrza, na aktywność przeciwutleniającą i zawartość polifenoli w tkance jabłek oraz porównanie uzyskanych rezultatów z wynikami dotyczącymi suszu otrzymanego metodą konwekcyjną w temp. 70°C.

### **Material i metody badań**

Do suszenia przeznaczono jabłka odmiany Idared, które krojono w plastry o średnicy 30 mm i grubości  $5 \pm 0,5$  mm. Wybrano sześć różnych kombinacji suszenia mikrofalowego przy zastosowaniu dwóch poziomów mocy mikrofal: 150 i 300 W oraz trzech temperatur powietrza owiewowego: 20, 30 i 40°C. Suszenie prowadzono w suszarce laboratoryjnej, umożliwiającej regulację temperatury powietrza, mocy mikrofal i pomiar zmian masy materiału. Przepływ powietrza był prostopadły do warstwy materiału o prędkości około 3,5 m/s. Wsad do suszarki wynosił 250 g. Suszenie konwekcyjne prowadzono w suszarce laboratoryjnej, stosując przepływ powietrza o prędkości 1,5 m/s i temp. 70°C wzdłuż warstwy materiału, a masa surowca wynosiła 250 g.

W materiale surowym oraz w suszu oznaczano zawartość suchej substancji zgodnie z PN-90/A-75101/03 [8].

Właściwości przeciwrodnikowe oznaczano metodą polegającą na określeniu stopnia wygaszania wolnych rodników DPPH<sup>\*</sup> przez przeciwutleniacze zawarte w surowych jabłkach i suszach. W celu sporządzenia ekstraktu do analiz odważano 5 g rozdrobnionego miąższu surowych jabłek i dodawano 50 ml 80% etanolu. W przypadku suszu stosowano naważkę równoważną 5 g jabłka surowego i dodawano do niej taką ilość wody, aby sumaryczna masa wynosiła 5 g. Po wprowadzeniu 50 ml 80% etanolu próbę homogenizowano przez 10 min i gotowano pod chłodnicą zwrotną przez

15 min. Tak przygotowany roztwór sączono. W ekstrakcie oznaczano aktywność przeciwrodnikową zgodnie z metodyką podaną przez Brand-Williams i wsp. [1]. Pomiar polegał na określeniu absorbancji, przy długości fali 515 nm, sześciu roztworów zawierających taką samą objętość roztworu DPPH<sup>•</sup> w ilości 2 ml o stężeniu odpowiadającym absorbancji próby kontrolnej z zakresu 0,6-0,7 (próba kontrolna = 2 ml roztworu DPPH<sup>•</sup> + 2 ml 80% etanolu), przy wybranych objętościach ekstraktu z przedziału 0,02-0,20 ml. Pomiaru dokonywano 30 min po dodaniu roztworu DPPH<sup>•</sup>. Na tej podstawie wykreślono zależność liniową pomiędzy objętością ekstraktu a stopniem wygaszania rodników DPPH<sup>•</sup>. Z równania prostoliniowego obliczano objętość ekstraktu, powodującą 50% redukcję rodników. Wartość tę przeliczano na masę suchej substancji odpowiadającą danej objętości ekstraktu. Tak więc efektywność wygaszania wolnych rodników przez badane susze wyrażano w formie współczynnika IC<sub>50</sub>, określającego ilość potrzebnego suszu do 50% redukcji wolnych rodników DPPH<sup>•</sup>.

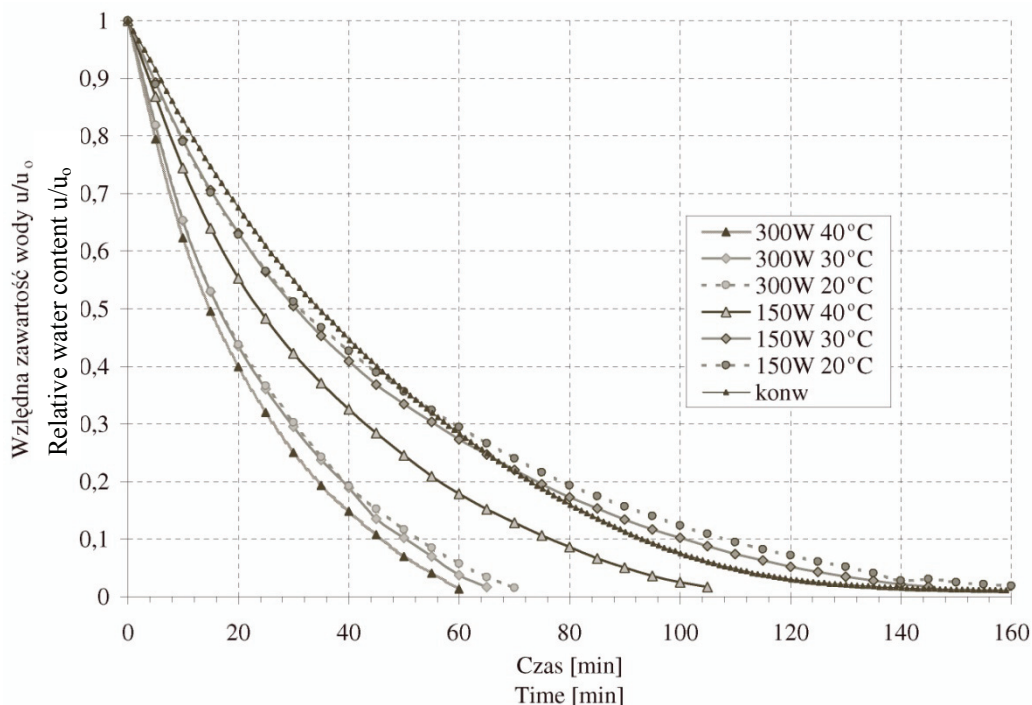
Zawartość związków polifenolowych oznaczano metodą Folina-Ciocalteu'a [14], stosując jako wzorzec kwas chlorogenowy. Do analiz wykorzystano ekstrakt przygotowany do oznaczania stopnia wygaszania wolnych rodników.

W celu zbadania wpływu dwóch parametrów suszenia, tj. mocy mikrofal i temperatury powietrza, przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji bez powtórzeń. Za pomocą testu t-Studenta zbadano istotność różnic pomiędzy badanymi parametrami średnimi. Porównania wielokrotne (szczegółowe) umożliwiły uzyskanie podziału średnich na grupy jednorodne, czyli nieróżniące się istotnie w ujęciu statystycznym.

## Wyniki i dyskusja

Jakość suszonych surowców roślinnych w dużym stopniu zależy od warunków procesu. Czas potrzebny do wysuszenia plasterków jabłka do zawartości wody równej 0,1 kg H<sub>2</sub>O/kg s.s. wynosił 160 min w przypadku suszenia metodą konwekcyjną, natomiast suszenie przy użyciu mikrofal trwało od 60 do 160 min (rys. 1). Zawartość suchej substancji w suszu otrzymanym konwekcyjnie wynosiła 93%. Natomiast w suszu konwekcyjno-mikrofalowym, otrzymanym za pomocą mikrofal o mocy 150 W, wraz ze zmniejszającą się temperaturą zawartość suchej substancji wynosiła odpowiednio 90, 90 i 89%, a przy 300 W - 92, 90 i 91%. Suszenie z wykorzystaniem mikrofal skróciło czas suszenia kostek jabłka o 63%, przy zastosowanej mocy mikrofal równej 300 W i temp. 40°C, w porównaniu z suszeniem konwekcyjnym. Im mniejszą moc mikrofal oraz niższą temperaturę powietrza suszącego zastosowano, tym czas suszenia był dłuższy; przy parametrach: 150 W i temp. 20 oraz 30°C był on porównywalny z czasem suszenia konwekcyjnego. Podobne wyniki, z zastosowaniem metody mikrofalowej, otrzymali Lewicki i wsp. [7], którzy uzyskali blisko 2 razy krótszy czas suszenia jabłek w kształcie kostki sześcienniej o boku 1 cm w porównaniu z suszeniem konwekcyjnym w temp. 70°C. Również w przypadku marchwi stwierdzono skrócenie

czasu suszenia o 25-70%, w zależności od zastosowanej mocy mikrofal i temperatury powietrza suszącego [10].



Rys. 1. Kinetyka konwekcyjnego i konwekcyjno-mikrofalowego suszenia jabłek.

Fig. 1. Kinetics of convective and air-microwave drying of apples.

Podczas suszenia konwekcyjnego aktywność przeciwrodnikowa jabłek zmniejszyła się do około 70% aktywności surowca przed suszeniem, a zawartość polifenoli do 90% (tab. 1).

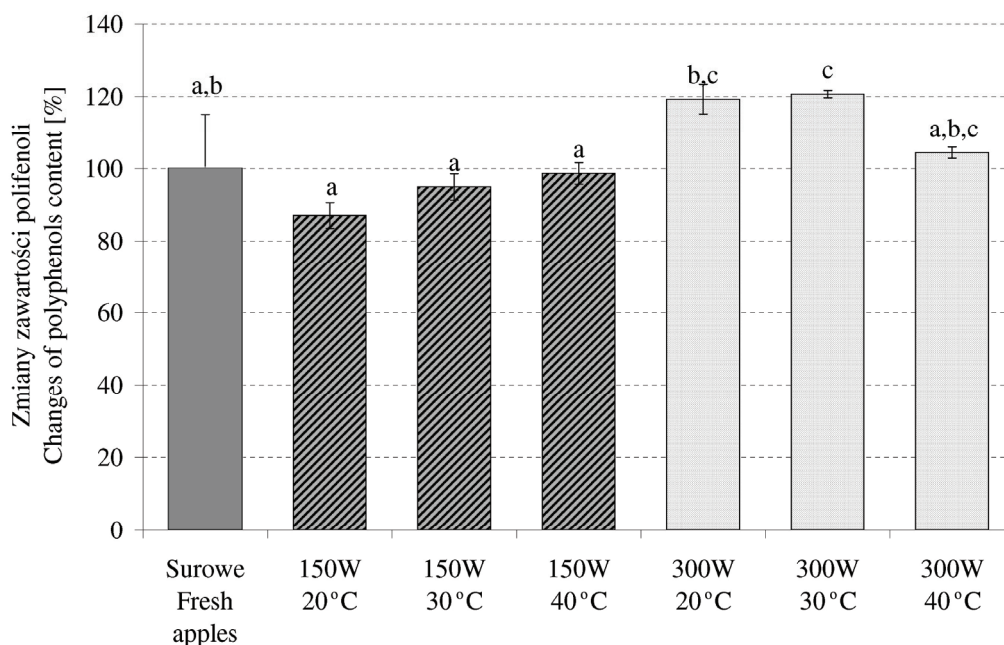
Tabela 1

Aktywność przeciwrodnikowa i zawartość polifenoli w jabłkach surowych oraz w suszu jabłkowym otrzymanym metodą konwekcyjną.

Radical scavenging activity and polyphenols content in raw and dried apples gained by convective method.

Rodzaj materiału Material type	Aktywność przeciwrodnikowa Radical scavenging activity	Zawartość polifenoli Polyphenols content
	[mg s.s.] [mg d.m.]	[mg kw chl./100g s.s.] [mg chl. acid/100g d.m]
Surowe jabłka Fresh apples	2,88 ± 0,45	1265 ± 190
Susz jabłkowy konwekcyjny Convective dried apples	3,74 ± 0,02	1134 ± 37

Zastosowanie mikrofal do suszenia owoców w porównaniu z suszeniem konwekcyjnym wpływa na zmniejszenie negatywnych skutków przemian biochemicznych, prawdopodobnie ze względu na krótszy czas kontaktu materiału z tlenem [5]. W suszach otrzymanych przy zastosowaniu mikrofal o mocy 300 W zawartość polifenoli i aktywność przeciwrodnikowa, w porównaniu z surowym jabłkiem, były na podobnym lub wyższym poziomie (rys. 2 i 3). Na przykład w suszach owiewanych powietrzem o temp. 20 i 30°C i przy mocy mikrofal 300 W odnotowano znaczący wzrost zawartości polifenoli (rys. 2). Obserwacja ta jednak wynika z małej selektywności metody Folina-Ciocalteu'a, gdyż na wyniki oznaczenia może wpływać obecność w surowcu fruktozy, glukozy lub kwasu askorbinowego [9]. Bezdyskusyjny jest natomiast fakt, że aktywność przeciwutleniająca suszu była wyższa wówczas, gdy do ich otrzymania zastosowano wyższą temperaturę powietrza, a więc i krótszy czas (rys. 3).



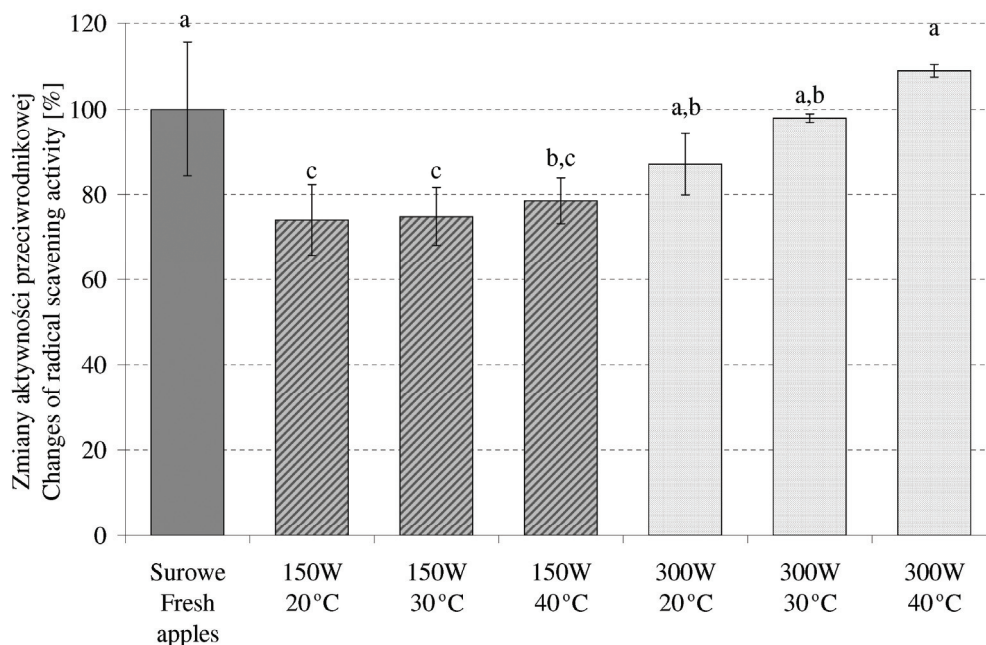
Objaśnienie: / Explanatory notes:

zawartość polifenoli w surowych jabłkach przyjęto jako 100% / polyphenols content in raw apples set as 100%

Rys. 2. Zmiany zawartości polifenoli w suszach jabłkowych.

Fig. 2. Changes of polyphenols content in dried apples.





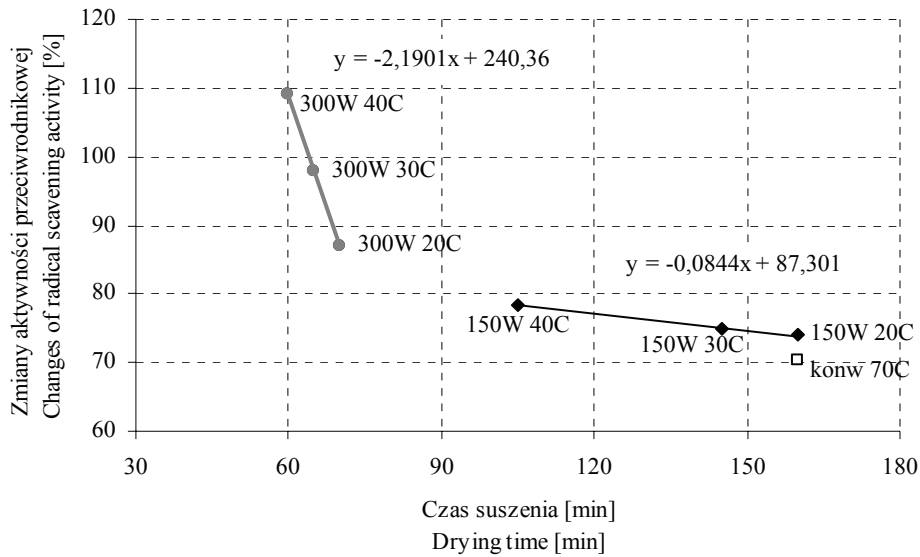
Objaśnienia jak na rys. 2. / Explanatory notes as in Fig. 2.

Rys. 3. Zmiany aktywności przeciwrodnikowej suszonych jabłek.

Fig. 3. Changes of radical scavenging activity of dried apples.

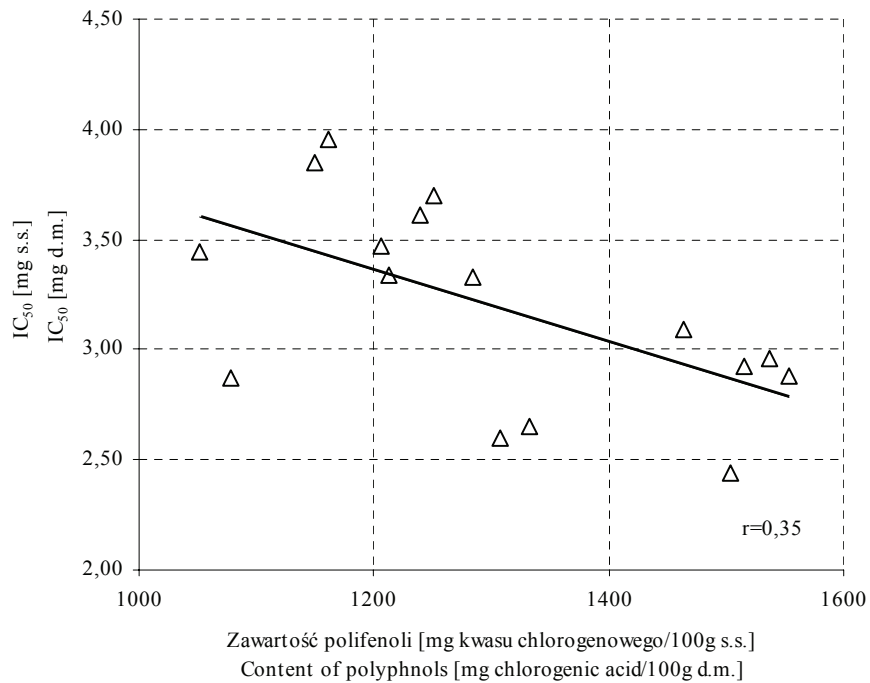
Użycie mniejszej mocy mikrofal spowodowało statystycznie istotne zmniejszenie aktywności przeciwutleniającej o 21-26% w stosunku do jabłek surowych (rys. 3), ale były to wartości mniejsze niż odnoszące się do jabłek suszonych konwekcyjnie (30%). W tym przypadku spadek aktywności przeciwrodnikowej można tłumaczyć dłuższym czasem suszenia. Nie stwierdzono natomiast statystycznie istotnych zmian zawartości polifenoli w czasie suszenia z zastosowaniem mniejszej mocy mikrofal w porównaniu z surowymi jabłkami (rys. 2).

Czas suszenia skraca się wraz z zastosowaniem wyższej mocy mikrofal i wyższej temperatury. Stwierdzono zależność, że im dłuższy czas suszenia i im niższa temperatura powietrza suszącego, tym zawartość polifenoli i aktywność przeciwrodnikowa były mniejsze, zarówno w suszeniu mikrofalowym przy mocy mikrofal 150 W, jak i 300 W (rys. 4). Aktywność przeciwrodnikowa jest odwrotnie proporcjonalna do czasu suszenia mikrofalowego, ale w różnym stopniu, w zależności od mocy mikrofal. Przy niższej mocy mikrofal następował mniejszy spadek aktywności przeciwrodnikowej wraz z wydłużeniem czasu suszenia. Przy zastosowaniu mikrofal o mocy 150 W wydłużenie czasu suszenia o 10 min powodowało zmniejszenie aktywności przeciwrodnikowej o ok. 1%, natomiast przy 300 W spadek ten był znacznie szybszy i wyniósł



Rys. 4. Zmiany aktywności przeciwrodnikowej jabłek suszonych mikrofalowo w zależności od czasu suszenia.

Fig. 4. Changes of radical scavenging activity of microwave dried apples depending on drying time.



Rys. 5. Zależność między współczynnikiem IC<sub>50</sub> i zawartością polifenoli.

Fig. 5. Dependence between coefficient IC<sub>50</sub> and polyphenols content.



aż 22%. Wyniki te znalazły potwierdzenie w przeprowadzonej analizie wariancji, która wykazała, że na aktywność przeciwrodnikową większy wpływ miała, ściśle skorelowana z czasem suszenia, temperatura powietrza suszącego niż moc mikrofal.

Na rys. 5. przedstawiono zależność aktywności przeciwrodnikowej i zawartości polifenoli. Wartość współczynnika korelacji,  $r = 0,35$ , mniejsza od wartości tablicowej dla  $\alpha=0,05$ , świadczy o braku zależności liniowej pomiędzy badanymi wartościami. Zwiększenie zawartości polifenoli wpływa jedynie nieznacznie na wzrost aktywności przeciwrodnikowej badanych suszy. Poza polifenolami na aktywność przeciwrodnikową składają się także inne związki, np. witaminy czy barwniki. Podczas suszenia mikrofalowego mogą one ulegać niewielkim zmianom, mogą też tworzyć się nowe związki, mające charakter przeciwutleniaczy.

### Wnioski

1. Suszenie konwekcyjno-mikrofalowe w porównaniu z suszeniem konwekcyjnym znacząco skraca czas suszenia jabłek.
2. Aktywność przeciwutleniająca oraz zawartość polifenoli w suszach jabłkowych zależą od stosowanej metody i parametrów suszenia, przy czym wyższe wartości otrzymuje się dla produktu traktowanego mikrofalami o większej mocy.
3. Im dłuższy czas suszenia i niższa temperatura owiewającego powietrza, tym mniejsza zawartość polifenoli i aktywność przeciwrodnikowa.
4. Zaobserwowano tendencję, że wraz ze wzrostem zawartości polifenoli wzrasta aktywność przeciwrodnikowa suszy konwekcyjno-mikrofalowych, jednak zależność ta nie została potwierdzona statystycznie.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura


- [1] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. U.-Techn.*, 1995, **28**, 25-30.
- [2] Dietrych-Szóstak D., Burda S.: Występowanie i rola przeciwutleniaczy w żywności. *Biul. Inform. Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa, Puławy*, 1999, **11**, 18-22.
- [3] Giese J.: Advances in microwave food processing. *Food Technol.*, 1992, **46**, 118-123.
- [4] Kondo S., Tsuda K., Muto N., Ueda J.: Antioxidative activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 2002, **96 (1-4)**, 177-185.
- [5] Kramkowski R.: Ocena jakości suszu z produktów spożywczych. *Maszyny Przetwórstwa Płodów Rolnych, Pleszew*, 2001, s. 111-112.

- [6] Łata B., Przeradzka M.: Changes of antioxidant content in fruit peel and flesh of selected apple cultivars during storage. *J. Fruit Ornam. Plant Res.*, 2002, **10**, 5-13.
- [7] Lewicki P.P., Witrowa-Rajchert D., Sawczuk A.: Suszenie konwekcyjne jabłek i marchwi wspomagane mikrofalami. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **2 (27)**, 28-42.
- [8] PN-90/A-75101/03 Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [9] Polovka M., Brezova V., Stasko A.: Antioxidant properties of tea investigated by EPR spectroscopy, *Biophysical Chemistry*, 2003, **106**, 39-56.
- [10] Prabhanjan D.G., Ramaswamy H.S., Raghavan G.S.V.: Microwave-assisted convective air drying of thin layer carrots. *J. Food Engin.*, 1995, **25**, 283-293.
- [11] Raport o stanie i perspektywach przemysłu rolno-spożywczego. Rada Gospodarki Żywnościowej przy Ministrze Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Warszawa, maj 2006, s. 81-124.
- [12] Ruiz G., Martinez-Monzó J., Barat J.M., Chiralt A., Fito P.: Applying microwaves in drying of orange slices. *XII Int. Drying Symp.*, 2000, pp. 239-241.
- [13] Rząca M., Witrowa-Rajchert D.: Aktywność przeciwrodnikowa związków fenolowych zawartych w suszu jabłkowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47)**, 280-289.
- [14] Sluis A., Dekker M., Skrede G., Jongen W.: Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. Effect of existing production methods. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50 (25)**, 7211-7214.
- [15] Szarysz M.: Matematyczne modelowanie mikrofalowo-konwekcyjnego suszenia surowców rolniczych na przykładzie jabłek. *Zesz. Nauk. Akademii Rolniczej we Wrocławiu*, 2001, **420**, 7-15, 71.

#### INFLUENCE OF CONVECTIVE-MICROWAVE DRYING PARAMETERS ON RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF DRIED APPLES

##### Summary

The aim of the research was comparison of microwave-convective and convective (at temp. 70°C) drying influence on radical scavenging activity and polyphenols content of dried apples. Microwave drying shortened the time of drying even of 63% in comparison to convective drying. Radical scavenging activity and polyphenols content in the dried material, received with the use of 300 W microwave power, were similar or even higher level than in the raw apple. Significant decrease of the radical scavenging activity of 21-26% and polyphenols content was caused by the use of lower microwave power (150 W), but the value was quite lower than in case of apples received by the convective drying.

**Key words:** apples, microwave drying, convective drying, antiradical activity 

IWONA ŚCIBISZ, MARTA MITEK

## WPLYW PROCESU MROŻENIA I ZAMRAŻALNICZEGO PRZECHOWYWANIA OWOCÓW BORÓWKI WYSOKIEJ NA ZAWARTOŚĆ ANTOCYJANÓW

### Streszczenie

Celem pracy było określenie stabilności barwników antocyjanowych w czasie produkcji mrozonek z owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). Ponadto zbadano wpływ czasu i temperatury przechowywania mrozonek na zawartość związków antocyjanowych.

Podczas procesu zamrażania nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian zawartości antocyjanów ogółem. Metodą chromatografii cieczowej wyodrębniono z owoców 14 związków antocyjanowych. Pochodne malwidyny i delfinidyny były dominującymi barwnikami, stanowiącymi ponad 75% wszystkich zidentyfikowanych antocyjanów. Owoce zamrożone, w porównaniu z surowcem świeżym, charakteryzowały się nieznacznie większą zawartością pochodnych delfinidyny oraz petunidyno-3-arabinozydu. Obserwowany przyrost zawartości antocyjanów w owocach mrożonych związany mógł być z poprawą efektywności ekstrakcji barwników. Podczas 6-miesięcznego przechowywania zamrażalniczego owoców w temp. -18 i -35°C nie następowały istotne zmiany zawartości antocyjanów.

**Słowa kluczowe:** owoce borówki wysokiej, antocyjany, mrożenie, przechowywanie

### Wprowadzenie

Bogatym źródłem barwników antocyjanowych są owoce borówki wysokiej, zwanej potocznie w naszym kraju amerykańską. Zawartość antocyjanów w owocach tego gatunku waha się w bardzo szerokim zakresie od 25 do 495 mg/100 g. Zależy ona od odmiany, wielkości owoców, stopnia ich dojrzałości, warunków klimatycznych i agrotechnicznych uprawy oraz okresu i warunków przechowywania owoców [9]. Owoce borówki wysokiej charakteryzują się bardzo różnorodnym składem antocyjanowym, co wyróżnia je spośród innych owoców jagodowych [5]. Zawierają 14 antocyjanów podstawowych, będących monoglikozydami malwidyny, delfinidyny, petunidyny, cyjani-

---

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

dyny oraz peonidyny, a w niektórych odmianach borówki występują również antocyjany acylowane. Reszty glikozydowe antocyjanów tworzą trzy monosacharydy: galaktoza, glukoza oraz arabinoza [3].

Borówka wysoka uprawiana w Polsce przeznaczona jest prawie wyłącznie na rynek owoców świeżych. W krajach, w których borówkę uprawia się w dużych ilościach, głównym kierunkiem ich przerobu jest mrożenie. Najczęściej borówki mrożone są w tunelach fluidyzacyjnych, dzięki czemu otrzymuje się bardzo wysokiej jakości produkt, określany mianem IQF (Individualy Quick Frozen). Na rynku światowym, obok opakowań detalicznych, występują także owoce mrożone w opakowaniach zbiorczych, które jako półprodukt, kierowane są do produkcji dżemów, konfitur i nadzień cukierniczych [13].

Celem pracy było określenie wpływu procesu mrożenia oraz przechowywania zamrażalniczego na zawartość antocyjanów w owocach borówki wysokiej.

### **Material i metody badań**

Przedmiotem badań były owoce borówki wysokiej odmiany Earlyblue pochodzące z gospodarstwa sadowniczego w Piskórcie koło Prażmowa, oddalonego 15 km od Warszawy. Zebrane owoce pochodziły ze zbioru trzeciego i były całkowicie wybarwione, o dojrzałości konsumpcyjnej, bez oznak zepsucia oraz bez uszkodzeń mechanicznych. Owoce zebrano 22 lipca 2004 roku.

Umyte i osuszone powierzchniowo świeże owoce borówek w ilości po 0,5 kg pakowano w torebki foliowe, które umieszczano w komorach zamrażalniczych w temp.  $-18 \pm 2^\circ\text{C}$  (typ dkkGS150) oraz  $-35 \pm 2^\circ\text{C}$  (typ Husqvarna 25). Na zaplanowany cykl doświadczenia zużyto 40 kg owoców. Pierwsze analizy chemiczne mrozonek wykonywano po upływie co najmniej 24 godz. od chwili umieszczenia owoców w komorze zamrażalniczej. Owoce świeże do momentu wykonania wszystkich analiz chemicznych przechowywano w warunkach chłodniczych ( $6^\circ\text{C}$ ), maksymalnie 36 godz. od terminu zbioru. Przed przystąpieniem do analiz owoce borówek rozmrażano do uzyskania temperatury pokojowej, co trwało około 1,5 godziny.

W owocach świeżych, w owocach bezpośrednio po zamrożeniu oraz w mrożonkach po 2, 4 i 6 miesiącach przechowywania oznaczano zawartość: antocyjanów ogółem oraz poszczególnych glikozydów antocyjanowych. Oznaczenie antocyjanów ogółem prowadzono metodą Swain i Hillis [11]. Wyniki oznaczeń podano w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd. Oznaczenie zawartości poszczególnych antocyjanów prowadzono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Próbkę owoców ekstrahowano mieszaniną aceton/metanol/woda (35/35/30) zakwaszoną 0,1% HCl. Po odparowaniu acetonu i metanolu w wyparce próżniowej próbkę наносzono na minikolumny Sep-Pak C<sub>18</sub>. Cukry i pozostałe substancje nieabsorbujące się na złożu wypłukiwano 0,1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Pozostałość wymywano 75% metanolem zakwaszonym 0,1% HCl

i oznaczano przy użyciu chromatografu firmy Shimadzu z detektorem spektrofotometrycznym SPD-10 Avpt współpracującym z pompą LC10-Atpt, wyposażonym w piec. Rozdział prowadzono w kolumnie Luna RP – 18 (5  $\mu$ m) przy prędkości przepływu 1 cm<sup>3</sup>/min. W oznaczeniu antocyjanów jako eluentu używano 100% acetonitrylu (odczynnik A) oraz 10% kwasu mrówkowego (odczynnik B), wg gradientu: 4 min 5,5% A, 7 min 9% A, 18 min 11% A, 21 min 14% A, 26 min 22% A, 30 min 30% A, 32 min 5,5% A, 35 min 5,5% A. Rejestrację antocyjanów prowadzono przy długości fali 520 nm. Identyfikację monomerów antocyjanów prowadzono na podstawie danych literaturowych [3, 5, 12], a wyniki ilościowe oznaczeń podawano w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy wykorzystaniu pakietu statystycznego Statgraphic Plus 4.1. Analizy wykonywano w trzech powtórzeniach. Wyniki badań oznaczeń zawartości antocyjanów ogółem oceniono przy użyciu analizy wariancji wieloczynnikowej. Do porównania średnich użyto testu t-Tukey'a, przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Zawartość antocyjanów ogółem jaką otrzymano w owocach borówki wysokiej odmiany Earlyblue (236,9 mg/100 g) jest wyższa od wyników podawanych przez Ehlenfeldt i Prior [4] oraz Lenartowicza i wsp. [8], którzy badali owoce borówki wysokiej uprawianej w naszym kraju.

Podczas procesu zamrażania nie obserwowano statystycznie istotnych zmian zawartości antocyjanów ogółem w owocach borówki wysokiej (tab. 1). Ilość antocyjanów ogółem w świeżym surowcu była zbliżona do zawartości stwierdzonej w owocach mrożonych zarówno, w temp. -18°C jak i w -35°C.

W celu dogłębnej analizy zmian zawartości poszczególnych związków antocyjanowych podczas procesu zamrażania przeprowadzono rozdział chromatograficzny barwników antocyjanowych. Metodą chromatografii cieczowej wyodrębniono z owoców borówki wysokiej 14 związków antocyjanowych (tab. 1). Glikozydy malwidyny, delfinidyny oraz petunidyny były głównymi antocyjanami w badanych owocach i stanowiły odpowiednio 50, 25 i 21% wszystkich antocyjanów. Glikozydy peonidyny oraz cyjanidyny stanowiły natomiast jedynie 4% wszystkich zidentyfikowanych związków antocyjanowych. Podobne wyniki uzyskali Cho i wsp., [3] oraz Taruscio i wsp. [12]. Owoce zamrożone, w porównaniu z surowcem świeżym, charakteryzowały się istotnie wyższą zawartością pochodnych delfinidyny oraz petunidyno-3-arabinozydu, którego ilość w owocach świeżych wynosiła 16,8 mg/100 g, natomiast w mrożonkach 18,1 mg/100 g (temp. -18°C) oraz 17,6 mg/100 g (temp. -5°C).

Wzrost zawartości oznaczonych antocyjanów w mrożonych owocach związany mógł być z poprawą efektywności ekstrakcji barwników. Powstające w czasie mroże-

nia kryształły lodu mogły powodować mechaniczne uszkodzenie tkanek owoców, co ułatwiło przechodzenie związków antocyjanowych do roztworu ekstrakcyjnego. Według Stewart [10] użycie owoców mrożonych w produkcji soku borówkowego powoduje zwiększenie stopnia wydobywania barwników antocyjanowych, cukrów oraz innych składników ekstraktu.

Tabela 1

Zawartość antocyjanów ogółem oraz poszczególnych antocyjanów w świeżych i mrożonych owocach borówki wysokiej.

Total anthocyanins and individual anthocyanins contents in fresh and frozen highbush blueberries fruits.

Zawartość antocyjanów [mg/100 g owoców] Anthocyanin contents [mg/100 g fruits]		Owoce świeże Fresh fruits	Owoce mrożone Frozen fruit	
			Temperatura mrożenia [°C] Temperature of freezing [°C]	
			-18	-35
Antocyjany ogółem / Total anthocyanins		236,9a	240,6a	240,2a
Antocyjany Individual anthocyanins	Mv-3-gal	42,2a	42,5a	42,4a
	Mv-3-glu	37,6a	37,3a	37,5a
	Mv-3-ara	31,3a	31,7a	31,5a
	Dp-3-gal	17,8b	18,5a	18,4a
	Dp-3-glu	15,9b	16,8a	16,4a
	Dp-3-ara	22,7b	24,0a	23,6a
	Pt-3-gal	14,1a	14,0a	14,3a
	Pt-3-glu	16,6a	16,5a	16,2a
	Pt-3-ara	16,8b	18,1a	17,6a
	Cy-3-gal	1,0a	1,0a	0,9a
	Cy-3-glu	2,8a	2,4a	2,8a
	Cy-3-ara	4,5a	4,2a	4,3a
	Pn-3-gal	0,1a	0,0a	0,0a
Pn-3-glu	2,7a	2,5a	2,5a	
Ogółem / Total		226,1	229,5	228,4

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone tą samą literą w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie według testu t-Tukey'a na poziomie istotności  $\alpha=0,05$  / Mean values followed by the same letter in a rows do not differ significantly at  $p=0.05$  according to t-Tukey test.

Podczas 6-miesięcznego przechowywania zamrażalniczego owoców borówki wysokiej nie następowały istotne zmiany zawartości antocyjanów ogółem w żadnym z badanych terminów badań (tab. 2). Nie wykazano także istotnego wpływu temperatury przechowywania na zawartość poszczególnych antocyjanów. Podobne wyniki

otrzymali Ancos i wsp. [1] oraz González i wsp. [6] podczas przechowywania mrożonych malin i jeżyn. Zdecydowanie wyższe straty barwników antocyjanowych, sięgające nawet 90%, obserwowano podczas zamrażalniczego przechowywania wiśni [2].

Tabela 2

Zawartość antocyjanów ogółem oraz poszczególnych antocyjanów w mrożonych owocach przechowywanych 6 miesięcy w temp. -18 i -35°C.

Total anthocyanin and individual anthocyanins contents of frozen highbush blueberries stored during 6 months at -18 and -35°C.

Temperatura przechowywania [°C] Temperature of storage [°C]	Czas przechowywania [miesiące] Time of storage [months]							
	0	2	4	6	0	2	4	6
	Antocyjany ogółem [mg/100 g] Total anthocyanins [mg/100 g]				Mv-3-gal [mg/100 g]			
- 18	240,6aA	237,1 aA	236,3 aA	239,2 aA	42,5 aA	42,3 aA	42,1 aA	43,3 aA
- 35	240,2aA	239,2 aA	239,0 aA	237,1 aA	42,4aA	42,4 aA	42,3 aA	42,0 aA
	Mv-3-glu [mg/100 g]				Mv-3-ara [mg/100 g]			
- 18	37,3 aA	37,0 aA	37,0 aA	37,8 aA	31,7 aA	31,6 aA	31,4 aA	32,1 aA
- 35	37,5 aA	37,6 aA	37,5 aA	37,2 aA	31,5 aA	31,3 aA	31,4 aA	31,2 aA
	Dp-3-gal [mg/100 g]				Dp-3-glu [mg/100 g]			
- 18	18,5 aA	17,9 aA	17,6 aA	17,4 aA	16,8 aA	16,1 aA	16,0 aA	15,9 aA
- 35	18,4 aA	18,0 aA	17,8 aA	17,9 aA	16,4 aA	16,0 aA	15,8 aA	15,7 aA
	Dp-3-ara [mg/100 g]				Pt-3-gal [mg/100 g]			
- 18	24,0 aA	23,9 aA	23,8 aA	23,7 aA	14,0 aA	14,1 aA	14,2 aA	14,6 aA
- 35	23,6 aA	23,4 aA	23,2 aA	22,8 aA	14,3 aA	14,4 aA	14,5 aA	14,1 aA
	Pt-3-glu [mg/100 g]				Pt-3-ara [mg/100 g]			
- 18	16,5 aA	15,9 aA	16,0 aA	16,1 aA	18,1 aA	17,8 aA	17,6 aA	18,1 aA
- 35	16,2 aA	16,3 aA	16,0 aA	15,7 aA	17,6 aA	17,3 aA	17,2 aA	16,9 aA
	Cy-3-gal [mg/100 g]				Cy-3-glu [mg/100 g]			
- 18	1,0 aA	0,9 aA	1,0 aA	0,9 aA	2,4 aA	2,2 aA	2,3 aA	2,6 aA
- 35	0,9 aA	0,8 aA	0,8 aA	0,8 aA	2,8 aA	2,9 aA	2,9 aA	3,0 aA
	Cy-3-ara [mg/100 g]				Pn-3-gal [mg/100 g]			
- 18	4,2 aA	3,9 aA	4,0 aA	4,2 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,1 aA
- 35	4,3 aA	4,3 aA	4,4 aA	4,2 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA
	Pn-3-glu [mg/100 g]				Ogółem [mg/100 g] Total [mg/100 g]			
- 18	2,5 aA	2,4 aA	2,4 aA	2,5 aA	229,5 aA	226,0 aA	225,4 aA	229,0 aA
- 35	2,5 aA	2,5 aA	2,5 aA	2,3 aA	228,4 aA	227,2 aA	226,3 aA	223,8 aA

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone tą samą małą literą w wierszach oraz dużą literą w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie według testu t-Tukey'a na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  / Mean values followed by the same small letter in a rows and capital letter in column do not differ significantly at  $p = 0.05$  according to t-Tukey test.

Porównując otrzymane wyniki można zauważyć, że pod koniec okresu przechowywania w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  następował pewien pozorny wzrost zawartości antocyjanów w mrożonkach, który związany był prawdopodobnie z tzw. „ususzką”. W celu potwierdzenia tego wykonano oznaczenie zawartości suchej substancji w owocach przechowywanych w warunkach zamrażalniczych. Sucha substancja owoców składowanych w temp.  $-35^{\circ}\text{C}$  przez 6 miesięcy nie różniła się statystycznie istotnie w porównaniu z wartością w owocach zaraz po zamrożeniu, natomiast w przypadku borówek przechowywanych w wyższej temperaturze ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) obserwowano wzrost o 8% (tab. 3).

Tabela 3

Zawartość suchej substancji w mrożonych owocach przechowywanych 6 miesięcy w temp.  $-18$  i  $-35^{\circ}\text{C}$ .  
Dry mater contents of frozen highbush blueberries stored during 6 months at  $-18$  and  $-35^{\circ}\text{C}$ .

Temperatura przechowywania [ $^{\circ}\text{C}$ ] Temperature of storage [ $^{\circ}\text{C}$ ]	Sucha substancja [%] Dry mater [%]			
	Czas przechowywania [miesiące] Time of storage [months]			
	0	2	4	6
- 18	15,8a	16,0ab	16,4b	17,1c
- 35	15,9a	15,8a	15,9a	16,2a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone tą samą małą literą w wierszach nie różni się statystycznie istotnie według testu t-Tukey'a na poziomie istotności  $\alpha=0,05$ .

Mean values followed by the same small letter in a rows do not differ significantly at  $p=0.05$  according to t-Tukey test.

Z badań Kmiecika i wsp. [7] wynika, że straty barwników antocyjanowych podczas przechowywania owoców w zakresie ujemnych temperatur zależą przede wszystkim od gatunku zamrażanych owoców, a także, choć w mniejszym stopniu, od metody ich rozmrażania. W przypadku borówki czernicy najlepszą techniką rozmrażania owoców według tych autorów okazało się zastosowanie temperatury chłodniczej. Różnica zawartości antocyjanów w owocach rozmrażanych w temp.  $2-4^{\circ}\text{C}$  a w temperaturze pokojowej  $18-20^{\circ}\text{C}$ , którą stosowano także do owoców borówki wysokiej w niniejszej pracy nie przekraczała 10%.

## Wnioski

1. Pochodne malwidyny i delfinidyny są dominującymi antocyjanami owoców borówki wysokiej, stanowią one 75% wszystkich zidentyfikowanych antocyjanów.
2. Proces zamrażania owoców borówki wysokiej do temp  $-18^{\circ}\text{C}$  i  $-35^{\circ}\text{C}$  nie powoduje strat zawartości antocyjanów ogółem.



3. Stwierdzono większą zawartość pochodnych delfinidyny oraz petunidyno-3-arabinozydu w owocach mrożonych, co związane może być z poprawą efektywności ekstrakcji tych barwników w czasie ich oznaczania.
4. Sześciomiesięczne zamrażalnicze składowanie owoców borówki wysokiej w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  oraz  $-35^{\circ}\text{C}$  nie miało istotnego wpływu na stabilność antocyjanów.

*Praca naukowa finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych w latach 2004-2006 jako projekt badawczy nr 2P06T05826. Była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Ancos B., Gonzalez E. M., Cano M. P.: Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **(48)**, 565-4570.
- [2] Chaovanalikit A., Wrolstad R. E.: Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries. *J. Food Sci.*, 2004, **1 (69)**, FDT73-FCT83.
- [3] Cho M. J., Howard L. R., Prior R. L., Clark J. R.: Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Sci. Food Agric.*, 2004, **(84)**, 1771-1782.
- [4] Ehlenfeld M. K., Prior R. L.: Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentration in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **(49)**, 2222-2227.
- [5] Gao L., Mazza G.: Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. *J. Food Sci.*, 1994, **5 (59)**, 1057-1059.
- [6] González E., de Begoña A., Cano M.: Relation between bioactive compounds and free radical – scavenging capacity in berry fruits during frozen storage. *J. Sci. Food Agric.*, 2003, **(83)**, 722-726.
- [7] Kmiecik W., Jaworska G., Budnik A.: Wpływ różnych technik rozmrażania mrożonek z owoców jagodowych na ich jakość. *Roczn. PZH*, 1995, **2 (46)**, 135-143.
- [8] Lenartowicz W., Zbroszczyk J., Płocharski W.: The quality of highbush blueberry fruit. *Fruit Science Reports*, 1990, **2 (18)**, 77-85.
- [9] Mazza G., Miniati E.: Anthocyanins in fruit, vegetables and grain. CRS Press Boca Raton, Florida, 1993.
- [10] Stewart K.: Processing in cranberry, blueberry, currant, and gooseberry. W: *Processing fruits; science and technology* - pod red. Somogyi L. P., Technomic Pub. Co., Lancaster Pa., 1996.
- [11] Swain T., Hillis W. E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci Food Agric.*, 1959, **1 (10)**, 63-68.
- [12] Taruscio T., Barney D. L., Exon J.: Content and profile of flavanoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of Northwest Vaccinium berries. *Food Chem.*, 2004, **(52)**, 3169-3176.
- [13] Villata M.: Cultivated blueberries: a true-blue baking ingredient. *Cereal Food World*, 1998, **3 (43)**, 128-130.


---

**INFLUENCE OF FREEZING PROCESS AND FROZEN STORAGE ON ANTHOCYANIN  
CONTENTS OF Highbush BLUEBERRIES**

S u m m a r y

The aim of this study was to determine the anthocyanin dyes during production of frozen investigate highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L). In addition, our objective was to determine the effect of frozen storage temperature and time on anthocyanins content.

During the freezing process the significant changes of total anthocyanins content of blueberry were not observed. A HPLC method was used for the separation of 14 individual anthocyanins. Derivates of malvidin and delphinidin constituted about 75% of the total anthocyanin content of fruits. Measurements of the individual anthocyanins showed there were significant differences between fresh and frozen fruits in contents of delphinidin glycosides and peonidin-3-galactoside. It is the most probable that the anthocyanin in frozen fruits becomes more easily extractable. No significant changes in anthocyanins content of blueberries were found during the long-term frozen storage at -18°C and -35°C.

**Key words:** highbush blueberries, anthocyanins, freezing, frozen storage 

TOMASZ KRUPA, PIOTR LATOCHA

## AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA ORAZ ZAWARTOŚĆ WITAMINY C I ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH W OWOCACH RÓŻNYCH GENOTYPÓW AKTINIDII (*ACTINIDIA* Lindl.)

### Streszczenie

Materiał badawczy stanowiły owoce dwóch genotypów *Actinidia arguta* (L1, M1) i trzech mieszańców *A. arguta* × *A. purpurea* (D8, D11, D14). Jako materiał porównawczy użyto odmiany *A. arguta* ‘Ananasnaja’ (=‘Anna’), najpowszechniej uprawianej na świecie aktinidii ostrolistnej. Wszystkie rośliny uzyskano w programie hodowlanym SGGW, a owoce pochodziły z roślin uprawianych na polu doświadczalnym SGGW na Ursynowie w Warszawie. Badania prowadzono w latach 2005-2006. W owocach badanych genotypów oznaczono zawartość: witaminy C i polifenoli, a także określono aktywność przeciwutleniającą.

Uzyskane wyniki potwierdziły, że owoce aktinidii ostrolistnej są bogatym źródłem witaminy C, jednak jej zawartość zależy od indywidualnych cech genotypu. W owocach mieszańców *A. arguta* × *A. purpurea* stwierdzono większą zawartość witaminy C w porównaniu z genotypami *A. arguta*. Mieszańce D11 i D14 wykazały istotnie wyższą aktywność przeciwutleniającą, silnie skorelowaną z zawartością witaminy C. Charakteryzowały się też większą zawartością związków fenolowych niż owoce pozostałych badanych aktinidii.

**Słowa kluczowe:** *Actinidia arguta*, *Actinidia purpurea*, aktywność przeciwutleniająca, witamina C, DPPH, związki fenolowe

### Wprowadzenie

Najbardziej znanymi gatunkami aktinidii są aktinidia smakowita (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang et A.R.Ferguson) – zwana Kiwi oraz bardzo podobna do niej aktinidia chińska (*A. chinensis* Planch). W wielu placówkach naukowych na świecie prowadzone są badania, których celem jest wprowadzenie do uprawy także innych, mniej znanych gatunków aktinidii. Najważniejszym z nich jest aktinidia ostrolistna (*A. arguta* (Siebold et Zucc.) Planch. ex Miq.), nazywana w wielu krajach ‘mini kiwi’,

---

Dr inż. T. Krupa, Katedra Sadownictwa, dr inż. P. Latocha, Katedra Ochrony Środowiska, Wyzd. Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

'baby-kiwi' czy 'grape-kiwi'. Wyróżnia się niewielkimi owocami (mniej więcej wielkości orzecha włoskiego), o gładkiej, jadalnej skórce i ciekawym smaku przypominającym mieszankę owoców tropikalnych [7]. Ich pora dojrzewania przypada w Polsce na wrzesień/październik. Gatunek ten uprawiany jest na małą skalę na plantacjach towarowych w Nowej Zelandii, Kanadzie, USA, Chile i w Europie. Także w Polsce powstały już pierwsze, niewielkie plantacje. W SGGW, od 1996 roku, prowadzony jest program hodowlany, którego celem jest uzyskanie nowych odmian aktinidii, o cechach dostosowanych do polskich warunków klimatycznych. W ramach tego programu prowadzono hodowlę w obrębie dwóch gatunków *A. arguta* i *A. purpurea*, a ich wynikiem są obiecujące genotypy.

Owoce aktinidii są bogatym źródłem przeciwutleniaczy determinujących ich właściwości prozdrowotne. Wspomagają one naturalne mechanizmy obronne organizmu. Zawartość związków przeciwutleniających w owocach zależy od cech genetycznych gatunku i odmiany, jednak warunki środowiskowe mogą ją modyfikować. Owoce aktinidii są powszechnie uznawane za bogate źródło witaminy C. Ferguson i Ferguson [2] informują, że jej średnia zawartość w owocach odmian Harvard (*A. deliciosa*) i Hort 16A (*A. chinensis*) wynosi odpowiednio 85 i 100 mg/100 g ś.m., zaś Rassam i Laing [12] w swoich badaniach nad sześcioma odmianami *A. chinensis* oznaczyli jej zawartość w granicach od 98 do 163 mg/100 g ś.m. Podobnie wysoką zawartość witaminy C w owocach różnych gatunków aktinidii stwierdzili także Nishiyama i wsp. [8]. Uzyskane przez nich wyniki wskazują na podobny lub wyższy poziom tej witaminy w owocach *A. arguta* niż w *A. deliciosa* i *A. chinensis*. Owoce aktinidii charakteryzują się również wysokim poziomem aktywności przeciwutleniającej. Z badań Park i wsp. [10] wynika, że aktywność przeciwutleniająca, wyrażona jako skuteczność inhibicji rodników DPPH, owoców kiwi odmiany Hayward osiąga bezpośrednio po zbiorze 57,1%, a po 6 dniach dojrzewania i traktowania etylenem aż 81,3%. Na wysoką aktywność przeciwutleniającą *A. arguta* wskazują także Okamoto i Goto [9], którzy dowiedli, że owoce odmian uprawianych w Japonii mają większe właściwości przeciwutleniające (DPPH) niż kiwi czy jabłka.

Celem pracy było określenie właściwości przeciwutleniających owoców 6 genotypów aktinidii ostrolistnej i jej mieszańców w odniesieniu do zawartości w nich związków fenolowych i witaminy C.

### **Material i metody badań**

Badania prowadzono w latach 2005 i 2006 na owocach 3 genotypów *A. arguta* – M1, L1 i 'Ananasnaja' (= 'Anna') oraz 3 mieszańcach *A. arguta* × *A. purpurea* – D8, D11 i D14. Wszystkie genotypy oznaczone numerami uzyskano w programie hodowlanym SGGW. Odmiana Ananasnaja jest obecnie najpowszechniej na świecie uprawianą odmianą tego gatunku [15] i z tego względu można ją uznać za standard. Od-

mianę tę sprowadzono do kolekcji roślin SGGW w 1994 r. ze Szwajcarii. Owoce wszystkich badanych genotypów zbierano w fazie dojrzałości konsumpcyjnej z dorosłych, w pełni owocujących krzewów rosnących na polu doświadczalnym SGGW na Ursynowie w Warszawie. Wszystkie analizy wykonywano w trzech powtórzeniach, każdorazowo z partii 0,5 kg owoców. Owoce przed wykonaniem analiz (1-2 dni) przechowywano w chłodziarce (5°C).

Analizę zawartości witaminy C prowadzono według Kalt i wsp. [4] z modyfikacjami. Uzyskaną w procesie ekstrakcji próbkę oczyszczano na filtry 0,45 µm Millex®-HV (Millipore). Analizę ilościową witaminy C prowadzono przy użyciu chromatografu cieczowego firmy PerkinElmer serii 200 z detektorem Diode Array Detektor (DAD). Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny Symmetry C18, 5µ, 150 x 4,6 mm przy przepływie 0,8 ml/min. Temp. termostataowania kolumny wynosiła 25°C. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina woda (A) : fosforan amonu (B) : kwas metafosforowy (C) w proporcjach 498,75 g (A) : 1,15 g (B) : 0,1 g (C).

Analizę jakościową i ilościową fenolokwasów i flawonoidów prowadzono techniką HPLC według zmodyfikowanej metody Gao i Mazza [3]. Homogenizat owocowy ekstrahowano 25 ml metanolu zakwaszonego 1 cm<sup>3</sup> 36% HCl, następnie wirowano w wirówce Eppendorf 4250, a z klarownego przesącza odparowywano pod próżnią w temp. 40°C metanol. Pozostały osad rozcieńczano 5 ml metanolu. Analizę rozdziału i zawartości fenolokwasów wykonywano w zestawie HPLC firmy PerkinElmer serii 200 z detektorem Diode Array Detektor (DAD). Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny Spheri-5 RP-18, 5µ, 220 x 4,6 mm przy przepływie 1 ml/min. Temp. termostataowania kolumny wynosiła 22°C. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina woda (A) : kwas mrówkowy (B) : acetonitryl (C) o zmiennych parametrach gradientu A i C. Identyfikacje związków fenolowych dokonano na podstawie standardów.

Aktywność przeciwutleniającą owoców określono według metody Saint Criq de Gaulejac i wsp. [11] z użyciem syntetycznego rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyna, Sigma). Aktywność przeciwutleniającą obliczano na podstawie pomiarów absorbancji próby właściwej (ekstrakt z owoców + DPPH) wykonywanych po 10 min przy  $\lambda = 517$  nm w stosunku do próby kontrolnej (metanol + DPPH). Wyniki wyrażano w przeliczeniu na ekwiwalent Troloxu (µmol Troloxu/g).

Wyniki opracowano statystycznie metodą jednoczynnikowej analizy wariancji z wykorzystaniem programu statystycznego Statgraphics® Plus (StatPoint, Inc.). Do oceny istotności różnic między wartościami średnimi zastosowano test Tukey'a, przyjmując poziom istotności  $\alpha = 0,05$ . W badaniach zależności między aktywnością przeciwutleniającą a zawartością związków fenolowych i witaminy C stosowano metodę regresji liniowej prostej.

## Wyniki i dyskusja

Wykazano, że owoce mieszańców *A. arguta* x *A. purpurea* są bogatym źródłem witaminy C. Największą jej zawartość stwierdzono w owocach mieszańca D11 (144,7 mg/100 g ś.m.). Dużą zawartość witaminy C oznaczono w owocach genotypów D14 i M1, a najmniej w genotypie L1 (33,7 mg/100 g ś.m.) (tab. 1). Znaczna zawartość witaminy C genotypów D11 i D14 była zapewne spowodowana czynnikiem genetycznym, choć mieszańcowe pochodzenie genotypów (*A. arguta* × *A. purpurea*) nie musi być jedynym czynnikiem decydującym o ilości tego składnika w owocach, co potwierdza mała zawartość tej witaminy w owocach genotypu D8. Chesoniene [1] oraz Skripczienko i Moroz [14] podają, że zawartość witaminy C w niektórych gatunkach aktinidii może wynosić nawet 1164 mg/100 g ś.m. (*A. kolomikta*), podczas gdy w najpopularniejszej odmianie kiwi Hayward (*A. deliciosa*) jej zawartość nie przekracza 85 mg/100 g ś.m. Nishiyama i wsp. [8] stwierdzili bardzo dużą zmienność zawartości witaminy C pomiędzy poszczególnymi genotypami *A. arguta*. Według autorów zależnie od ocenianego genotypu zawartość tego składnika wynosiła od 37 do 185 mg /100 g ś.m.

Tabela 1

Zawartość witaminy C i zidentyfikowanych związków fenolowych w owocach badanych genotypów aktinidii [mg/100 g ś.m.]

Contents of vitamin C and phenolic compounds identified in fruit of the analyzed genotypes of hardy kiwifruit [mg/100 g f.m.].

Składnik Component	Genotyp / Genotype					
	D 8	D 11	D 14	M1	L1	Ananasnaja
Witamina C Vitamin C	49,5 b	144,7 e	84,4 d	78,8 cd	33,7 a	67,4 c
Kwas p-hydroksybenzoesowy p-hydroxybenzoic acid	0,77 a	2,34 d	1,93 c	1,35 b	0,83 a	2,88 e
Kwas wanilinowy Vanilic acid	0,79 a	2,34 d	0,89 a	1,04 ab	1,53 c	1,25 b
Kwas chlorogenowy Chlorogenic acid	ni.	2,99 b	5,46 c	0,77 a	2,09 b	8,28 d
L-epikatechina L-epicatechin	ni.	ni.	ni.	1,09 b	ni.	0,39 a
Kwas p-kumarowy p-cumaric acid	ni.	1,52 b	ni.	ni.	ni.	0,21 a
Kwas galusowy Galic acid	6,33 a	7,56 ab	24,33 e	11,99 c	9,09 b	17,26 d
Kwas benzoesowy Benzoic acid	1,18 c	1,16 c	1,22 c	0,45 a	0,66 b	1,28 c

Objaśnienia / Explanatory notes:

ni. – nie zidentyfikowano / not identified; wartości średnie oznaczone taką samą literą w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie przy  $\alpha = 0,05$ ; Mean values denoted by the same letter in the lines do not differ statistically significant at  $\alpha = 0.05$ .

Poza witaminą C, właściwości przeciwutleniające wykazuje duża liczba związków z grupy polifenoli. W badanych owocach aktinidii ostrolistnej i jej mieszańcach zidentyfikowano kwas p-hydroksybenzoesowy, wanilinowy, chlorogenowy, p-kumarowy, galusowy, benzoesowy oraz L-epikatechinę, a ich występowanie warunkowane było głównie czynnikiem genetycznym (tab. 1). Zawartość tych związków w owocach poszczególnych genotypów ulegała dużym wahaniom, stąd można podjąć się określenia występujących tendencji. Ogólnie, mieszańce D11 i D14 charakteryzowały się większą zawartością fenolokwasów niż pozostałe genotypy aktinidii. Należy jednak zwrócić uwagę, że odmiana Ananasnaja charakteryzowała się równie wysoką zawartością tych składników i jako jedyna zawierała wszystkie zidentyfikowane związki. Wstępne badania Latochy i Olszewskiej-Kaczyńskiej [6] wykazały, że ogólna zawartość flawonoidów w owocach *A. arguta* może wynosić 20-30 mg/100 g suchej masy.

Tabela 2

Współczynniki korelacji liniowej (r) między aktywnością przeciwutleniającą (DPPH) a zawartością witaminy C i zawartością związków fenolowych.

Coefficients of the (r) linear correlation between the antioxidant activity (DPPH) and the contents of vitamin C and phenolic compounds.

Parametr Parameter	Witamina C Vitamin C	Kwas p- hydroksybenzoesowy p-hydroxybenzoic acid	Kwas wani- linowy Vanilic acid	Kwas chloro- genowy Chlorogenic acid	Kwas galusowy Galic acid	Kwas benzoesowy Benzoic acid
DPPH	0,91**	0,43	0,49*	-0,09	0,20	0,29

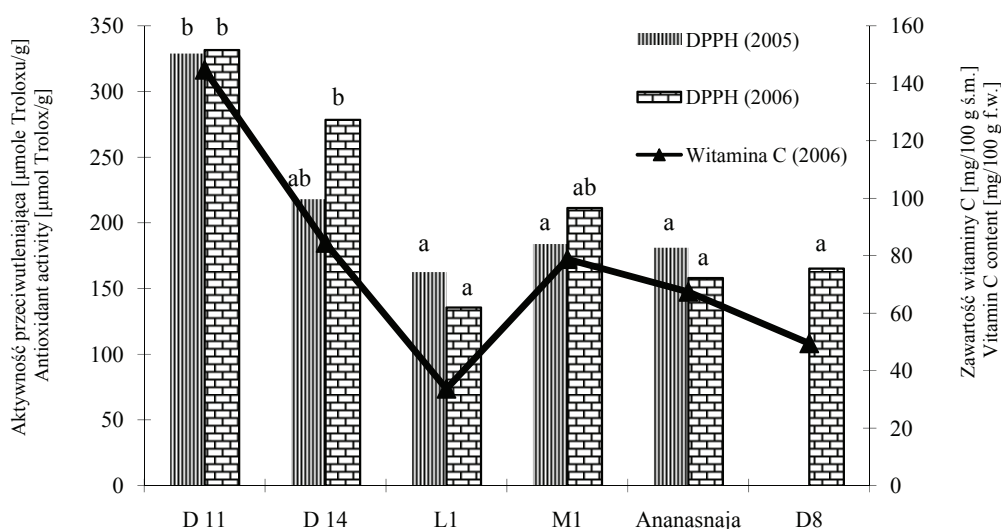
Objaśnienia: / Explanatory notes:

n = 18; \*-  $r_{0,05} = 0,47$ ; \*\* -  $r_{0,01} = 0,59$

Aktywność przeciwutleniająca owoców na ogół jest związana z zawartością polifenoli, co potwierdzają badania Velioglu i wsp. [16]. Również Krupa i Tomala [5] uzyskali wysoki współczynnik korelacji pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą, a zawartością polifenoli w owocach borówki wysokiej. W doświadczeniu stwierdzono, że aktywność przeciwutleniająca, wyrażana jako ekwiwalent Troloxu na 1 g owoców istotnie zależała od odmiany i genotypu (rys. 1). Analiza statystyczna wyników wykazała istotnie wyższą aktywność przeciwutleniającą owoców aktinidii uzyskanych w wyniku prac hodowlanych w SGGW (D11 i D14) niż odmiany Ananasnaja. W obu sezonach genotypy L1 i 'Ananasnaja' (*A. arguta*) charakteryzowały się prawie 2-krotnie niższą aktywnością przeciwutleniającą niż genotypy D11 i D14 (*A. arguta* × *A. purpurea*). W kształtowaniu właściwości przeciwutleniających ważną rolę odgrywiają nie tylko związki fenolowe, ale i witamina C. Najwyższa zmierzona aktywność prze-

ciwutleniającą genotypu D11 najprawdopodobniej związana była z większą o 50% zawartością witaminy C w owocach od pozostałych badanych genotypów, a najmniejsza zawartość witaminy C w genotypie L1 zapewne wpłynęła na niską aktywność przeciwutleniającą owoców tej odmiany.

Aktywność wszystkich badanych genotypów była dodatnio skorelowana z zawartością witaminy C ( $r = 0,91$ ) i zawartością kwasu wanilinowego ( $r = 0,49$ ), co może oznaczać, że przede wszystkim witamina C decydowała o aktywności przeciwutleniającej badanych owoców aktinidii (tab. 2).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone taką samą literą, oddzielnie z każdego roku badań, nie różnią się statystycznie istotnie przy  $\alpha = 0,05$  / mean values denoted by the same letter, separately for each year of the research conducted, do not differ statistically significant at  $\alpha = 0.05$ .

Rys. 1. Aktywność przeciwutleniająca i zawartość witaminy C w owocach aktinidii ostrolistnej.

Fig. 1. Antioxidant activity and content of vitamin C in hardy kiwifruit.

## Wnioski

1. W owocach aktinidii, mieszańców D11 i D14 (*A. arguta* x *A. purpurea*) uzyskanych w programie hodowlanym SGGW, stwierdzono występowanie znacznych zawartości witaminy C.
2. Owoce mieszańców aktinidii ostrolistnej i purpurowej wykazują wysoką aktywność wiązania wolnych rodników DPPH, wynikającą przede wszystkim z wysokiej zawartości witaminy C.



3. Najwyższą aktywnością przeciwutleniającą, oznaczoną metodą z rodnikiem DPPH, charakteryzowały się owoce aktinidii genotypów D11 i D14, a najniższą L1.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura


- [1] Chesoniene L.: Comparison of some biological features and fruiting potential of *Actinidia kolomikta* cultivars. *Acta Hort.*, 2000, **538**, 769-774.
- [2] Ferguson A.R., Ferguson L.R.: Are kiwifruit really good for you? *Acta Hort.*, 2003, **610**, 132-138.
- [3] Gao L., Mazza G.: Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolic in blueberries. *J. Food Sci.*, 1994, **57**, 1057-1059.
- [4] Kalt W., Forney C.F., Martin A., Prior R.L.: Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 4638-4644.
- [5] Krupa T., Tomala K.: Zmiany ilościowe związków przeciwutleniających w jagodach borówki wysokiej 'Bluecrop' podczas ich przechowywania. *Zesz. Nauk. ISiK.*, 2004, **12**, 237-243.
- [6] Latocha P., Olszewska-Kaczynska I.: Preliminary morphological, chemical and sensory analyses of fruit of different actinidia genotypes (*Actinidia* Lindl.). *Annals Warsaw Agricultural University – SGGW, Horticulture, Landscape Architecture*, 2003, **24**, 51-57.
- [7] Matich A. J., Young H., Allen J.M., Wang M.Y., Fielder S., Mc Neilage M., Mac Rae E.A.: *Actinidia arguta*: volatile compounds in fruit and flowers. *Phytochemistry* 2003, **63**, 285-301.
- [8] Nishiyama I., Yamashita Y., Yamanaka M., Shimohashi A., Fukuda T., Oota T.: Varietal difference in vitamin C content in the fruit of kiwifruit and other *Actinidia* species. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **452 (17)**, 5472-5475.
- [9] Okamoto G., Goto S.: Juice Constituents in *Actinidia arguta* Fruits Produced in Shinjo, Okayama Scientific Reports of the Faculty of Agriculture Okayama University 2005, **94**, 9-13.
- [10] Park Y.S., Jung S.T., Gorinstein S.: Ethylene treatment of 'Hayward' kiwifruits (*Actinidia deliciosa*) during ripening and its influence on ethylene biosynthesis and antioxidant activity. *Scientia Horticulturae*, 2006, **108**, 22-28.
- [11] Park Y.S., Jung S.T., Kang S.G., Drzewiecki J., Namiesnik J., Haruenkit R., Barasch D., Trakhtenberg S., Gorinstein S.: *In vitro* studies of polyphenols, antioxidants and other dietary indices in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Inter. J. Food Sci. Nutr.*, 2006, **57 (1/2)**, 107-122.
- [12] Rassam M., Laing W.: Variation in ascorbic acid and oxalate levels in the fruit of *Actinidia chinensis* tissues and genotypes. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 2322-2326.
- [13] Saint Crieg de Gaulejac N., Provost C., Viras N.: Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47 (2)**, 425-431.
- [14] Skripczenko I.W., Moroz P.A.: Aktinidia (sorty, wyroszczenia, rozmnożenia). *Nacjonalnyj Botaniczeskij Sad im. M.M. Griszka, NAN Ukrainy, Kijew* 2002.
- [15] Strik B.C., Hummer.: 'Ananasnaya' Hardy Kiwifruit. *J. Am. Pom. Soc.* 2006, **60 (3)**, 106-112.
- [16] Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D.: Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 4113-4117.

**ANTIOXIDANT ACTIVITY AND CONTENTS OF VITAMIN C AND PHENOLIC  
COMPOUNDS IN FRUIT OF VARIOUS HARDY KIWIFRUIT (*ACTINIDIA* Lindl.)  
GENOTYPES**

S u m m a r y

The research material constituted fruit of two genotypes of *A. arguta* (L1, M1) and of three hybrid genotypes of *A. arguta* × *A. purpurea* (D8, D11, D14). The material for comparison was an 'Ananasnaja' (= 'Anna') cultivar known as the most commonly cultivated hardy kiwifruit throughout the world. All the plants were obtained under a special plant growing programme at the SGGW University in Warsaw, and the fruit came from plants grown at the SGGW experimental field station in Ursynów in Warsaw. The research was carried out during 2005 and 2006. The contents of vitamin C and polyphenols were determined in the fruit of the genotypes under research, as was the antioxidant activity.

The results obtained confirmed the fruit of *A. arguta* to be a rich source of vitamin C, however, its content depended on individual features of the genotype. It was found that the content of vitamin C was higher in the fruit of hybrid genotypes of *A. arguta* × *A. purpurea* if compared with the genotypes of *A. arguta*. The hybrid genotypes of D11 and D14 showed a significantly higher antioxidant activity that was correlated with the content of vitamin C. They were also characterized by a higher content of phenolic compounds than the fruit of other *Actinidia* species studied.

**Key words:** *Actinidia arguta*, *Actinidia purpurea*, antioxidant activity, vitamin C, DPPH, phenolic compounds 

EWA MAJEWSKA, ANNA DELMANOWICZ

## PROFILE ZWIĄZKÓW LOTNYCH WYBRANYCH MIODÓW PSZCZELICH

### Streszczenie

Celem pracy było określenie przydatności techniki mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas (GC-MS) do określania autentyczności botanicznej. Materiałem badawczym były miody nektarowe dostępne na rynku warszawskim: eukaliptusowy, kasztanowy, lawendowy, malinowy, mniszkowy, pomarańczowy i rozmarynowy. Do ekstrakcji związków lotnych fazy nadpowierzchniowej miodów wykorzystywano technikę mikroekstrakcji do fazy stałej SPME poprzez adsorpcję związków na włóknie DVB/CAR/PDMS – Divinylobenzen/Cerboxen/Polidimetylosiloxan. Analizę związków lotnych wykonywano przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas SHIMADZU GCMS-QP2010S. Chromatograf gazowy wyposażony był w kolumnę kapilarną typu DB–5 30 m x 0,25 mm x 0,5 μm (faza niepolarna o udziale 5% grup fenylowych).

Zastosowana analiza jakościowa profili związków lotnych pozwoliła na zróżnicowanie botaniczne badanych produktów i udowodniła, że metoda mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas (GC-MS) okazała się przydatna w określaniu autentyczności botanicznej miodów nektarowych.

**Słowa kluczowe:** profile zapachowe, miód, autentyczność, związki lotne

### Wprowadzenie

Miód jest słodką substancją produkowaną przez pszczoły *Apis mellifera* z nektaru roślin lub wydzielin żywych części roślin lub wydzielin owadów wysysających żywe części roślin, zbieranych przez pszczoły, przerabianych przez łączenie specyficznych substancji z pszczoł, składanych, odwodnionych, gromadzonych i pozostawionych w plastrach miodu do dojrzewania [1].

Tradycyjnie określenie botanicznego i geograficznego pochodzenia miodu określane jest analizą pyłku znajdującego się w miodzie. Metoda ta polega na zidentyfikko-

---

Dr inż. E. Majewska, mgr inż. A. Delmanowicz, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

waniu pyłku kwiatowego poprzez analizę mikroskopową i wymaga bardzo doświadczonego analityka. Jest bardzo czasochłonna i zależna od zdolności eksperta i jego orzeczenia. W związku z tym od wielu lat poszukiwane są inne metody, które pozwalałyby na określenie pochodzenia botanicznego i geograficznego miodów.

Profile zapachowe są najbardziej typowymi cechami produktu żywnościowego, które wpływają zarówno na jakość sensoryczną, jak i na jego autentyczność. Substancje lotne są głównymi czynnikami odpowiedzialnymi za aromat, który przyczynia się do smakowitości produktu. Jest to szczególnie widoczne w przypadku takiego produktu, jak miód. Wskutek dużej ilości składników lotnych, profil zapachowy miodu jest jego cechą charakterystyczną i mógłby być wykorzystywany przy określaniu jego botanicznego i geograficznego pochodzenia. Niektórzy autorzy proponują pewne specjalne składniki lotne, które mogłyby być charakterystyczne dla miodów w zależności od ich kwiatowego źródła [2]. Chociaż istnienie takich składników w ocenie pochodzenia miodów jest nadzwyczaj korzystne, jednak wiedza na ten temat jest raczej ograniczona.

Celem pracy było określenie przydatności techniki mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas (GC-MS) do określania autentyczności botanicznej miodów pszczelich.

### **Material i metody badań**

Przedmiotem badań były miody nektarowe dostępne na rynku warszawskim: eukaliptusowy (E), kasztanowy (K), lawendowy (L), malinowy (M), mniszkowy (Mn), pomarańczowy (P) i rozmarynowy (R). Badane miody, oprócz miodu mniszkowego, nie są miodami charakterystycznymi dla terenów Polski, ale uwzględniono je w badaniach, aby różnicować materiał doświadczalny.

Do ekstrakcji związków lotnych fazy nadpowierzchniowej miodów wykorzystywano technikę mikroekstrakcji do fazy stałej SPME poprzez adsorpcję związków na włóknie DVB/CAR/PDMS – Divinylobenzen/Cerboxen/ Polidimetylosiloxan. Analizę związków lotnych prowadzono przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas SHIMADZU GCMS-QP2010S. Chromatograf gazowy wyposażony był w kolumnę kapilarną typu DB-5 30 m x 0,25 mm x 0,5  $\mu$ m (faza niepolarna o udziale 5% grup fenyloowych).

Chromatograf gazowy GC: Gaz nośny – hel, przepływ gazu nośnego – 1,0  $\text{cm}^3/\text{min}$ , wprowadzanie próbki w systemie bezdzielnikowym (tzw. splitless). Program temperatury pracy kolumny: temp. początkowa 40°C, izoterma 3 min, następnie wzrost temp. o 5°C/1 min aż do temp. 180°C i izoterma końcowa przez 10 min, temp. komory nastrzykowej wynosiła 230°C.

Spektrometr mas: temp. źródła jonów wynosiła 175°C, temperatura interface (linii łączącej GC-MS) 175°C, napięcie detektora 0,9 kV, praca w systemie Scan, jony mo-

lekularne związków monitorowano w zakresie przemieszczenia filtra kwadropulowego 35-600 m/z.

Do szklanej butelki, poddanej wcześniej dearomatyzacji, odważano 5 g miodu, 3 g chlorku sodu (poddanego wcześniej dearomatyzacji) i 20 ml wody uprzednio zgotowanej i ochłodzonej. Butelkę szczelnie zamykano i za pomocą mieszadła elektrycznego rozpuszczano składniki w wodzie. Układ kondycjonowano przez 20 min w temp. 30°C. Z odpowiednio przygotowanej próbki adsorbowano związki z układu poprzez ekspozycję włókna SPME nad próbką w ciągu 20 min w temp. 30°C. Włókno ostrożnie umieszczano w takim samym położeniu, jak przed ekstrakcją, w celu uzyskania jak najwyższej odtwarzalności. Następnie włókno wprowadzano do dozownika, gdzie pozostawało 1 min. W tym czasie następowała desorpcja związków do kapilary. Próbki wszystkich odmian miodu (z wyjątkiem miodu pomarańczowego) pod względem czasu termostatowania, czasu ekstrakcji i temperatury ekstrakcji było wykonywane podwójnie. Optymalizacja metody przeprowadzono doświadczalnie.

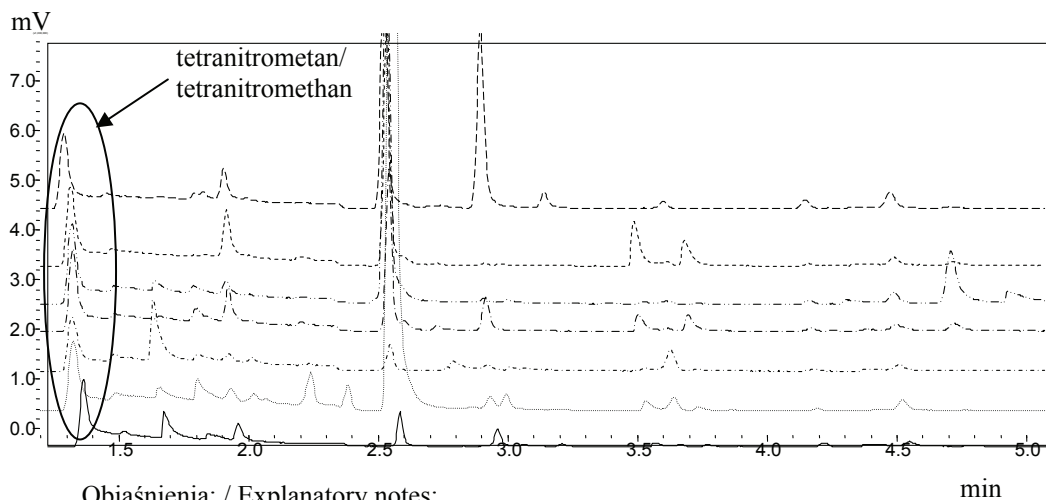
Identyfikacji związków dokonywano na podstawie porównania widm masowych analizowanych związków z widmami masowymi związków zgromadzonych w bibliotece Wiley 7N2 i NIST 147. Wykorzystywano w tym celu oprogramowanie systemu GC-MS Lab Solutions. Do porównania zawartości związków w próbkach brano pod uwagę powierzchnię rozdzielonych pików.

## Wyniki i dyskusja

Analiza jakościowa profili związków lotnych badanych miodów przy zastosowaniu techniki SPME GC-MS pozwoliła na zidentyfikowanie 79 związków (tab. 1). Są to aldehydy, alkohole, estry, furany, ketony, kwasy, pochodne benzenu czy węglany. Występowanie tych związków w miodach potwierdzają badania przeprowadzone przez Plutowską i Wardenckiego [5]. Parametry podane w tab. 1. zostały przeliczone na podstawie powierzchni pola pod pikami z otrzymanych chromatogramów w stosunku do tetranitrometanu, którego pole powierzchni pod pikiem przyjęto jako 100%. Zastosowanie tetranitrometanu do przeliczeń wynika z faktu, że występował on we wszystkich analizowanych próbkach, przy czym wysokości pików tego związku w poszczególnych chromatogramach były zbliżone do siebie najbardziej (rys. 1).

Każdy przeanalizowany miód nektarowy charakteryzował się specyficzną dla swego gatunku kompozycją frakcji lotnej, dzięki której możliwe stało się rozróżnienie próbek między sobą. Takiej charakterystyki dokonano na podstawie obecności (lub braku) jednego lub kilku związków, które występowały tylko w jednym z analizowanych miodów. Ocena próbek została przedstawiona zgodnie z następującym wzorcem. Każdej analizowanej próbce była przypisywana wartość 1, jeżeli dany związek był w niej wykryty lub wartość 0, jeżeli był on nieobecny. Część substancji lotnych występowała w kilku miodach, stąd nie mogły być one uznane za markery charakterystycz-

ne. W związku z powyższym nie zostały one wzięte pod uwagę podczas analizowania chromatogramów.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Miód eukaliptusowy / Eucalyptus honey	.....
Miód kasztanowy / Chestnut honey	-----
Miód lawendowy / Lavender honey	-----
Miód malinowy / Raspberry honey	.....
Miód mniskowy / Dandelion honey	-----
Miód pomarańczowy / Orange honey	————
Miód rozmarynowy / Rosemary honey	-----

Rys. 1. Fragmenty chromatogramów badanych miodów.

Fig. 1. Fragments of seven chromatograms analyzed honey.

Dokonując analizy związków lotnych można zauważyć, że dwa związki są charakterystyczne jedynie dla miodu eukaliptusowego (rys. 2). Są to: waleryl acetylu o czasie retencji 9,857 min oraz drugi związek o czasie retencji 10,281 min. Przy zastosowanej kolumnie nie jest możliwa jego identyfikacja, przypuszczalnie może to być ester 2-hydroksy-3-metylobutyłowy kwasu propanowego lub ester 2-pentylu kwasu metoksyoctowego. Verzera i wsp. [7] stwierdzili, że związki lotne charakterystyczne dla miodu eukaliptusowego to m.in. nonanol i nonanal, oktan i nonan. Te związki są obecne również w analizowanym miodzie. Jednakże związki te występują także w innych badanych miodach, co dyskwalifikuje je jako markery miodu eukaliptusowego. Być może pomocna byłaby tu analiza ilościowa, na podstawie której można

Tabela 1

Związki lotne wykryte w wybranych handlowych miodach pszczelich, analizowanych met. GC/MS.  
Volatile compounds detected in the selected commercial bee honey samples analyzed using a GC/MS method.

Lp.	Nazwa związku Name substance	E	K	L	M	Mn	P	R
1	tetranitrometan	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2	siarczek dimetylu	32,3	48,9	64,5	34,1	65,8	34,0	42,0
3	dichlorometan	-	-	-	25,3	-	-	31,6
4	2-metylopentan	-	-	-	36,4	-	-	-
5	3-metylopentan	-	-	-	14,1	-	-	-
6	n-heksan	293,3	90,9	205,0	943,1	154,6	26,5	35,4
7	2-metylofuran	16,7	7,0	-	-	6,3	-	-
8	trichlorometan	2,6	23,5	155,9	8,5	1,5	15,4	10,8
9	4-metylo-1-pentanol	4,7	-	-	8,8	-	-	3,1
10	2-metylo-1,3-pentadien	-	-	14,6	-	-	2,6	-
11	3-metylobutanal	1,7	19,2	-	13,1	45,2	4,7	5,1
12	cykloheksan	3,9	1,6	6,0	11,5	3,4	2,1	46,1
13	2-metylobutanal	-	16,7	-	5,0	27,7	2,5	-
14	2,2-dimetyloheksan	4,5	4,2	7,3	2,6	3,1	4,9	3,9
15	n-heptan	11,0	7,4	16,6	8,0	7,6	8,1	14,6
16	2,5-dimetylofuran	51,9	6,7	1,6	-	2,4	-	-
17	3-hydroksy-2-butanon	31,1	-	-	-	-	-	-
18	2-metylobutanonitryl	-	-	-	-	12,2	1,2	-
19	3-metylobutanonitryl	-	-	5,7	36,0	220,6	8,2	-
20	metylobenzen	22,1	6,1	8,3	-	4,3	-	10,0
21	3-metylopentanal	10,2	5,5	8,3	3,5	2,0	3,0	9,1
22	metylobenzen	33,1	18,5	9,1	4,4	5,6	36,7	9,3
23	3-metylopentanal	-	-	-	117,4	273,2	4,9	-
24	3-hepten-2-on	-	-	-	-	-	74,1	-
25	1-okten	-	13,7	9,0	5,7	11,5	3,3	6,1
26	4-metylo-2,3-pentanodion	20,6	-	-	-	-	-	-
27	n-oktan	292,4	166,8	234,2	387,4	139,1	115,7	430,1

cd. Tab. 1

28	n-heksanal	-	2,2	10,9	-	4,5	-	-
29	2-okten	-	-	-	-	12,8	-	-
30	2-dekanal	-	-	-	2,7	10,9	-	-
31	ester butylowy kwasu octowego	114,2	7,5	10,4		91,3	-	-
32	2,4-dimetyloheptan	4,9	1,9	2,4	15,6	44,8	-	-
33	waleryl acetylu	65,8	-	-	-	-	-	-
34	4,4-dimetyl-3-oksopentanonitryl	-	-	-	138,2	872,1	6,5	-
35	ester 2-hydroksy-3-metylobutylowy kwasu propanowego	105,4	-	-	-	-	-	-
36	4-heptanol	281,6	-	-	-	-	-	-
37	etylobenzen	-	-	-	-	-	24,3	-
38	2,3,4-trimetylheksan	-	-	-	8,1	11,0	-	-
39	1,2-dimetylobenzen	3,3	1,4	99,1	2,2	2,0	80,3	8,3
40	1,3-dimetylobenzen	-	-	-	2,2	-	28,0	3,3
41	2-metyl-5-propylfuran	-	-	-	-	5,9	-	-
42	winylobenzen	-	18,4	-	-	-	-	-
43	n-nonan	36,0	19,4	48,4	39,4	38,9	27,3	49,0
44	2,4,6-oktatrien	-	4,2	-	-	-	-	
45	2,6,6-trimetylohept-2-en	11,2	1,5	127,1	1,6	-	5,8	11,9
46	kwas 4-metylo-2-pentanowy	573,0	-	-	-	-	2,6	-
47	2,2-dimetylo-3-metylenobicykloheptan	-	-	2,5	-	-	-	6,3
48	kwas pentanowy	754,1	-	-	-	-	7,8	-
49	4-metyleno-6,6-dimetylobicyklohept-2-en	-	1,7	5,5	-	-	-	-
50	aldehyd benzoesowy	-	11,6	-	-	37,9	5,8	-
51	5-izoprenyl-2-metylo-2-winylotetrahydrofuran	-	-	10,1	3,1	14,0	220,3	9,0
52	n-dekan	8,4	85,3	5,8	33,5	14,5	4,8	9,9
53	n-oktanal	-	5,8	8,8	7,5	10,4	-	7,6
54	5-izoprenyl-2-metylo-2-winylotetrahydrofuran (drugi izomer)	-	-	-	4,4	12,4	292,9	12,7
55	3,3-metylocykloheksylodien aldehydu octowego	-	46,1	-	-	-	-	-
56	1,2,4-trimetylenocykloheksan	-	6,4	-	-	-	-	-



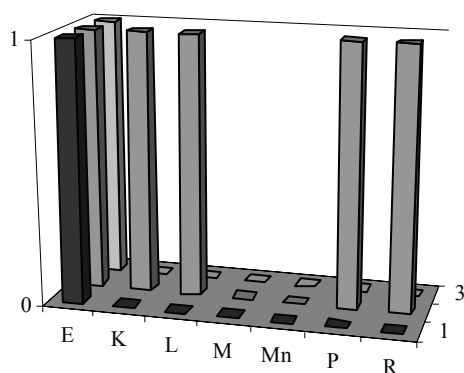
cd. Tab. 1

57	1,3,8-p-metanotrien	4,3	9,1	8,6	3,3	8,5	9,0	2,9
58	2-etylo-1-heksanol	15,8	12,4	13,1	8,9	8,1	7,8	10,9
59	2-propylo-1-pentanol	4,1	5,1	19,0	5,3	2,1	26,4	7,3
60	1,8-cyneol	-	-	6,0	-	-	-	-
61	fenyloetanal	-	-	16,9	-	-	12,1	8,8
62	3,7-dimetylodekkan	2,8	1,7	1,8	10,4	14,8	4,0	1,2
63	2-metyl-1-nonen	26,7	-	-	-	-	-	-
64	1-metylo-4-(1-metyloetylo)-1,4-cykloheksadien	-	13,7	9,8	-	-	-	-
65	1-metylo-4-(1-metyloetyleno)-benzen	9,6	71,9	16,2	6,7	11,3	18,2	6,4
66	n-undekkan	-	23,0	54,3	16,1	-	-	-
67	3,7-dimetylo-1,5,7-oktatrien-3-ol	-	5,0	134,9	-	-	17,7	-
68	n-nonanal	6,4	46,0	-	326,6	74,7	15,4	86,9
69	dekametylocyklopentasiloksan	8,1	3,8	2,5	4,5	6,0	4,3	3,6
70	2-(5-metylo-5-winylotetrahydro-2-furanylo)propanol	-	-	8,3	3,7	74,3	31,3	2,8
71	2-(5-metylo-5-winylotetrahydro-2-furanylo)propanol	-	-	-	-	128,6	32,1	-
72	3,7-dimetylo-1,6-oktadien-3-ol	-	6,0	-	-	47,1	11,8	-
73	1-nonanol	14,9	8,2	9,2	-	-	2,5	7,0
74	3,3-dimetylocykloheksanoetanal	-	-	-	-	-	39,5	-
75	n-dekanal	4,3	11,9	5,5	31,5	19,7	5,1	14,0
76	4,4-dimetylo-3-cyklohekseno-1-etanal	-	-	-	-	-	112,4	-
77	ester etylowy kwasu nonanowego	2,7	3,2	2,6	2,8	2,2	35,8	3,5
78	tetradekametyloheksasiloksan	-	-	-	-	-	-	5,7
79	1,1,4,7-tetrametylo-1a,22,3,4,5,6,7,7b-oktahydro-1H-cyklopropanoazulen	-	-	5,8	-	-	-	-

rozróżnić miody: eukaliptusowy, z kwiatów pomarańczy i z dzikich kwiatów. W przypadku zastosowania innej metody [6], związkami charakteryzującymi miód eukaliptusowy okazały się okten czy 2,3-pentanodion.

Przeprowadzając analizę obrazów chromatograficznych miodu kasztanowego zidentyfikowano 4 związki, które odróżniają tę próbę od pozostałych. Są to 3,3-metylocykloheksylodien aldehydu octowego i styren, które przedstawiono na rys. 3., oraz 1,2,4-trimetylenocykloheksan i 2,4,6-oktatrien. Radovic i wsp. [6] podają, że

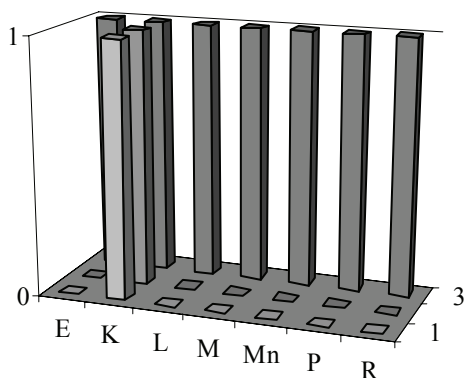
związki furanowe są charakterystyczne dla aromatu miodu kasztanowego. Za pomocą jednego z nich, 2-metyldihydrofuranonu, można odróżnić próbkę tej odmiany miodu od pozostałych. Pomocne mogą się okazać także alkohol metylobenzylowy, lub 3-heksen-1-ol wraz dimetylostyrenem.



- 1) waleryl acetylu/acetyl waleryl
- 2) 1-nonanol/1-nonanol
- 3) ester 2-hydroksy-3-metylobutyłowy kwasu propanowego/propanon acid, 2-hydroksy-3metylobuthylo ester

Rys. 2. Charakterystyczne związki lotne miodu eukaliptusowego.

Fig. 2. Characteristic volatile compounds of the eucalyptus honey



- 1) Styren/styren
- 2) 3,3-metylocykloheksylodien aldehydu octowego/Acetaldehyde, (3,3-dimethylcyclohexylidene)-
- 3) n-nonan/n-nonan

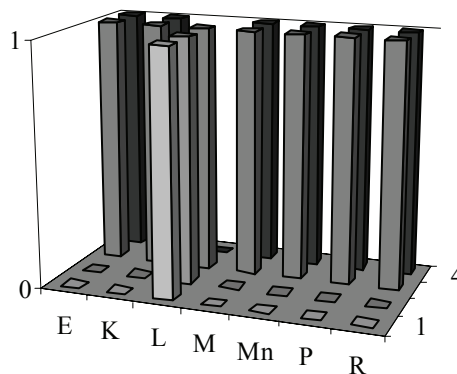
Rys. 3. Charakterystyczne związki lotne miodu kasztanowego.

Fig. 3. Characteristic volatile compounds of the chestnut honey.

Identyfikacji miodu lawendowego można dokonać na podstawie obecności 1,8-cyneol lub też piku o czasie retencji 29,487 min (1 - 1,1,4,7-tetrametylo-1a,22,3,4,5,6,7,7b-oktahydro-1H-cyklopropanoazulen lub 2,2,4a-trimetylo-8-metylenodekahydrocyklo-butanoinden) (rys. 4). W miodzie lawendowym, jako jedynym, nie oznaczono ani n-nonanal, ani 3-metylobutanalu. Nieobecność tych związków również

odróżnia ten miód od pozostałych. Podobnie Radovic i wsp. [6] stwierdzili, że można odróżnić miód lawendowy od badanych przez niego na podstawie występowania heptanal lub też braku obecności 4-oksoizoforonu.

- 1) 1,1,4,7-tetrametylo-1a,2,2,3,4,5,6,7,7b-oktahydro-1H-cyklopropanoazulen
- 2) 1,8-cyneol/1,8-cineole
- 3) 3,7-dimetylodekkan/  
3,7-dimethylodecan
- 4) 3-metylobutanal/butanal,  
3-methyl-

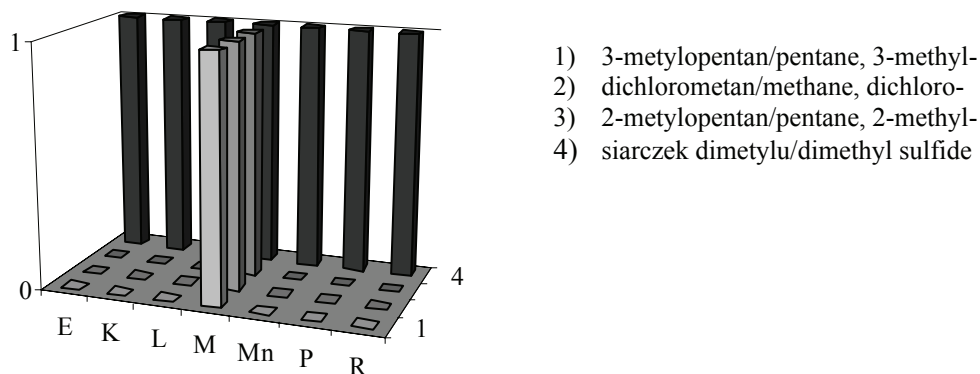


Rys. 4. Charakterystyczne związki lotne miodu lawendowego.

Fig. 4. Characteristic volatile compounds of the lavender honey.

Aldehyd fenylooctowy nie może posłużyć sam jako marker miodu lawendowego, choć Bouseta i wsp. [3] wymieniają jego obecność, jednak twierdzą, że związek ten występuje także w miodzie pomarańczowym. W przypadku miodów badanych w tej pracy ww. aldehyd został wykryty w trzech miodach: wcześniej wspomnianym lawendowym, a także pomarańczowym i rozmarynowym. Bouseta i wsp. [3] sugerują, że identyfikacja tego miodu wymaga scharakteryzowania miodu pod względem obecności fenyloetanolu i kumaryny łącznie.

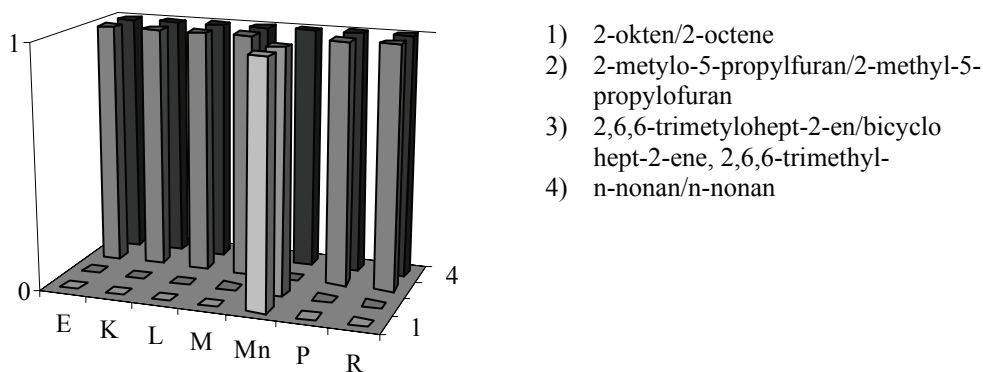
Guyot-Declerck i wsp. [4] przeprowadzili analizę związków lotnych dwóch miodów lawendowych w dwóch równoległych próbach przechowywanych w temp. 3 i 40°C. Z badań tych wynika, że obecność kumaryny w miodzie związana jest z niewłaściwymi parametrami przechowywania, co z kolei wskazuje, że kumaryna może być dobrym markerem stosowanym do określania świeżości miodu. Podczas analizy obrazu chromatograficznego badanego miodu lawendowego nie wykryto kumaryny. Dodatkowo wcześniejsze analizy nie wykazały, że próbka mogłaby być przechowywana w niewłaściwych warunkach, co dodatkowo potwierdza brak tego właśnie związku lotnego.



Rys. 5. Charakterystyczne związki lotne miodu malinowego.

Fig. 5. Characteristic volatile compounds of the raspberry honey.

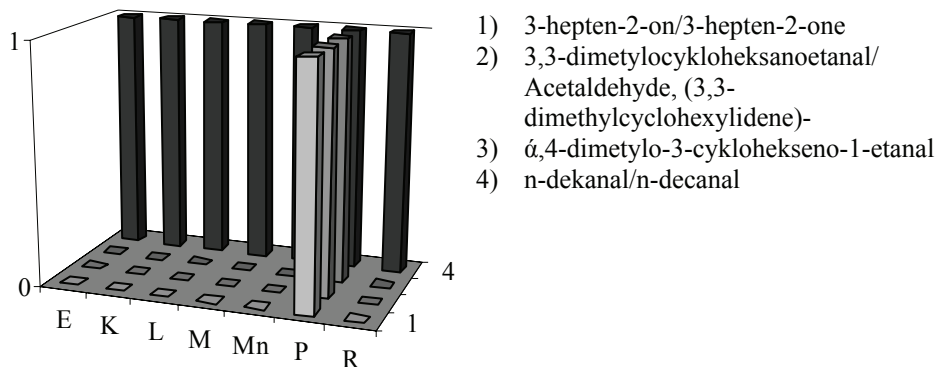
W celu identyfikacji miodu malinowego należy wziąć pod uwagę dwa związki: 3-metylopentan oraz 2-metylopentan (rys. 5). Dichlorometan, również przedstawiony na wykresie, nie może posłużyć jako marker miodu malinowego, ponieważ jego obecność można również wykryć w miodzie rozmarynowym.



Rys. 6. Charakterystyczne związki lotne miodu mniskowego.

Fig. 6. Characteristic volatile compounds of the dandelion honey.

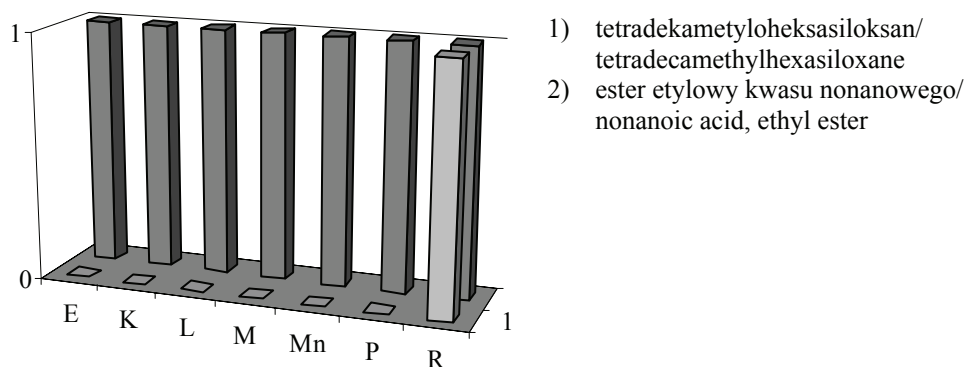
Analizując dane dotyczące związków lotnych miodu mniskowego stwierdza się, że można dokonać odróżnienia tej próby od pozostałych na podstawie występowania 2-oktenu i 2-metylo-5-propylofuranu oraz nieobecności 2,6,6-trimetylohept-2-enu (rys. 6.). Nie jest możliwe porównanie profili związków lotnych miodu malinowego i mniskowego z badaniami innych naukowców, ponieważ brak jest takich publikacji.



Rys. 7. Charakterystyczne związki lotne miodu pomarańczowego.

Fig. 7. Characteristic volatile compounds of the orange honey.

Po przeprowadzeniu analizy związków lotnych miodu pomarańczowego można wybrać 4 związki, które posłużą jako markery tej odmiany. Są to (obecne na rys. 7.) 3-hepten-2-on, 3,3-dimetylocykloheksanoetanal i 3,3-dimetylocykloheksanoetanal oraz etylobenzen.



Rys. 8. Charakterystyczne związki lotne miodu rozmarynowego.

Fig. 8. Characteristic volatile compounds of the rosemary honey.

Analizując chromatogram miodu rozmarynowego stwierdzono, że można dokonać identyfikacji tej odmiany na podstawie tetradekametyloheksasiloksanu, który jako jedyny został zidentyfikowany w analizowanej próbce (rys. 8). Natomiast Radovic i wsp. [6] dokonali odróżnienia próbki miodu rozmarynowego na podstawie braku obecności 2-acetylofuranu. Niestety dane te nie mogą zostać porównane z danymi doświadczalnymi, ponieważ związek ten nie został zidentyfikowany.

Zastosowana analiza jakościowa pozwoliła na rozróżnienie botaniczne badanych produktów i wykazała, że możliwe jest stwierdzenie autentyczności botanicznej miodów nektarowych. Aby takiej analizie dokonać należałoby przeprowadzić dokładną analizę jakościową chromatogramów poszczególnych odmian miodów, a następnie na ich podstawie przeprowadzić określenie autentyczności innych prób. Dodatkowo rozszerzenie tych badań o analizę ilościową umożliwiłoby również zróżnicowanie próbek pod względem pochodzenia geograficznego [4].

### Wnioski

1. Zastosowana analiza jakościowa profili związków lotnych pozwoliła na zróżnicowanie botaniczne badanych produktów i udowodniła, że metoda mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas (GC-MS) okazała się przydatna w określaniu autentyczności botanicznej miodów nektarowych.
2. W celu dowiedzenia autentyczności botanicznej miodów należy kontynuować badania poprzez dokładną analizę jakościową chromatogramów poszczególnych odmian miodów, a następnie na ich podstawie przeprowadzić określenie autentyczności innych prób.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura


- [1] Dyrektywa Rady 2001/110/WE z dnia 20 grudnia 2001 r. w sprawie miodu, Dz. U. L 10, 2002, 47.
- [2] Bonga G., Giumanini A.G., I Gliozzi G.: Chemical composition of chestnut honey: Analysis of the hydrocarbon fraction. *J. Agric. Food Chem.*, 1986, **34**, 319-326.
- [3] Bouseta A., Scheirman V., Collin S.: Flavor and free amino acid composition of lavender and eucalyptus honeys. *J. Food Sci.*, 1996, **61**, 683-694.
- [4] Guyot-Declerck C., Renson S., Bouseta A., Collin S.: Floral quality and discrimination of *Lavandula stoechas*, *Lavandula angustifolia*, and *Lavandula angustifolia*×*latifolia* honeys. *Food Chem.*, 2002, **79**, 453-459.
- [5] Plutowska B., Wardencki W.: Aromagrams – Aromatic profiles in the appreciation of food quality. *Food Chem.*, 2007, **101**, 845-872.
- [6] Radovic B.S., Careri M., Mangia A., Musci M., Gerboles M., Anklam E.: Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chem.*, 2001, **72**, 511-520.
- [7] Verzera A., Campisi S., Zappala M., Bonaccorsi I.: SPME-GC/MS Analysis of honey volatile components for the characterization of different floral origin. [www.iscpubs.com/articles/aln/n0107ver.pdf](http://www.iscpubs.com/articles/aln/n0107ver.pdf), 25.09.200

**THE AROMA PROFILE IN SELECTED BEE HONEY**

## S u m m a r y

The objective of the study was to verify the authenticity floral honey by using solid phase microextraction technique (SPME) together with gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). Seven different floral honey varieties were selected for the research: eucalyptus, chestnut, lavender, raspberry, dandelion, orange blossom and rosemary. The isolation of the aroma compounds was performed using the SPME procedure. A DVB/CAR/PDMS fibre was used to extract headspace volatiles from honey. The analysis of the extracts was performed using an SHIMADZU GCMS-QP2010S. The column used was an DB-5 capillary column (30 m x 0.25 mm i.d., 0.5 µm film thickness).

Quantitative analysis of aroma profiles let us differentiate samples of honey, and it has proven that solid phase microextraction technique (SPME) together with gas chromatography coupled with mass spectrometry turned out in definition of botanical authenticity of honey.

**Key words:** honey, aroma profile, authenticity, volatile compound 

PRZEMYSŁAW KRAWCZYK, BEATA DRUŻYŃSKA

## PORÓWNANIE OZNACZANIA ZAWARTOŚCI KATECHIN W LIŚCIACH ZIELONEJ I CZARNEJ HERBATY METODĄ WANILINOWĄ I METODĄ HPLC

### Streszczenie

Celem pracy było porównanie standardowej metody chemicznej (metoda wanilinowa) oznaczania katechin z metodą HPLC oraz skuteczności ekstrakcji katechin z liści zielonej i czarnej herbaty z wykorzystaniem dwóch mieszanin różnych rozpuszczalników. Za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej oznaczano (+)-katechinę, (-)-epikatechinę, galusan (-)-epigalokatechiny, natomiast chemiczną metodą wanilinową oznaczano katechiny ogółem. Badane związki ekstrahowano za pomocą dwóch mieszanin rozpuszczalników: aceton : woda (7 : 3) oraz metanol : woda (8 : 2).

Oznaczona średnia zawartość katechin ogółem chemiczną metodą wanilinową kształtowała się na poziomie od 2,76 do 8,94 g/100 g s.s. i zależała od rodzaju herbaty i sposobu ekstrakcji. Najwięcej (8,94 g/100 g s.s.) znajdowało się w zielonej herbacie ekstrahowanej roztworem acetonu, natomiast najmniej (2,76 g/100 g s.s.) w czarnej herbacie ekstrahowanej roztworem metanolu. Z wyników uzyskanych metodą HPLC suma zawartości (+)-katechiny, (-)-epikatechiny i galusanu (-)-epigalokatechiny wynosiła od 2,63 g do 13,45 g/100 g s.s.

Ekstrakcja mieszaniną rozpuszczalników aceton : woda (7 : 3) wykazała około dwukrotnie wyższą skuteczność ekstrakcji katechin w porównaniu z mieszaniną metanol : woda (8 : 2). Zawartość katechin oznaczonych metodą HPLC była większa niż uzyskana metodą chemiczną.

**Słowa kluczowe:** herbata, katechiny, metoda wanilinowa, HPLC

### Wprowadzenie

Flawonoidy należą do naturalnych przeciwutleniaczy, które zaliczane są do znacznie większej grupy – polifenoli. Głównym źródłem flawonoidów są owoce i warzywa, a także herbata. Duża konsumpcja herbaty spowodowana jest jej powszechnym dostępem oraz charakterystycznym cierpkim i gorzkawym smakiem. Wśród flawonoidów występujących w herbacie należy wyróżnić flawanole, które są reprezentowane

---

*Mgr inż. P. Krawczyk, Katedra Technologii Żywności, dr inż. B. Drużyńska, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*



przez katechiny. Ze względu na wzrost zainteresowania żywnością prozdrowotną, informacje na temat naturalnych przeciwutleniaczy zawartych w tak powszechnie spożywanym napoju, mogą być ważną informacją dla konsumenta [1, 5, 11, 13].

Najczęściej stosowanymi rozpuszczalnikami do ekstrakcji polifenoli z roślin są: metanol, etanol, aceton, woda, octan etylu, propanol, a także ich kombinacje. Do ekstrakcji katechin stosuje się głównie wodne roztwory metanolu i acetonu o stężeniach 70–90%, w różnych zakresach temperaturowych [8, 18].

Do określenia zawartości katechin stosuje się metody chemiczne (spektrofotometryczna metoda wanilinowa) oraz instrumentalne (wysokosprawna chromatografia cieczowa). Próba wanilinowa jest specyficzna dla flawan-3-oli, tanin skondensowanych i dihydrochalkonów, które mają pojedyncze wiązanie w pozycji -2,3 i zawierają wolne grupy metahydroksy- w pierścieniu B. W wyniku reakcji katechin z waniliną powstaje barwny związek analizowany spektrofotometrycznie [4, 7]. Jednak reaktywność waniliny z katechinami jest różna od reaktywności z taninami skondensowanymi [3]. Do oznaczenia katechin, jako typowych flawan-3-oli, standardem referencyjnym może być (+)-katechina lub (-)-epikatechina, a pomiar absorpcji należy przeprowadzić przy długości fali 500 nm [12]. Do analizy katechin metodą HPLC używa się roztworów metanolu lub acetonitrylu z niewielkim dodatkiem kwasu octowego, fosforowego lub mrówkowego, które znacznie poprawiają rozdzielność chromatograficzną. Efektywna zawartość kwasu ortofosforowego w fazie powinna zawierać się w przedziale 0,04–0,1%. Wszystkie katechiny, kwas galusowy oraz kofeina wykazują maksimum absorpcji przy długościach fali: 210 nm oraz w zakresie 275–280 nm [13, 14, 16].

Niniejsza praca miała na celu:

1. Określenie zawartości (+)-katechiny, (-)-epikatechiny, galusanu (-)-epigalokatechiny za pomocą metody HPLC.
2. Porównanie skuteczności ekstrakcji katechin z liści zielonej i czarnej herbaty za pomocą dwóch różnych mieszanin rozpuszczalników.
3. Porównanie chemicznej metody waniliowej oznaczania zawartości katechin z metodą HPLC.

### **Material i metody badań**

Material doświadczalny stanowiły dwa rodzaje herbaty: zielona (Chiny) oraz czarna (Sri Lanca). Badane związki ekstrahowano za pomocą dwóch mieszanin rozpuszczalników: aceton : woda (7 : 3) oraz metanol : woda (8 : 2) [8, 10, 18]. Stopień czystości rozpuszczalników: aceton - min. 99,5% i alkohol metylowy - min. 99,5%.

Do kolby stożkowej odważano około 5 g liści zielonej lub czarnej herbaty i dodawano 100 ml rozpuszczalnika (Ac : H<sub>2</sub>O (7 : 3), MeOH : H<sub>2</sub>O (8 : 2)). Ekstrakcję prowadzono w temp. pokojowej przez 30 min w wytrząsarce WL-1. Otrzymany eks-

trakt sączono. Klarowny przesącz przechowywano w warunkach zamrażalniczych (temp.  $-18^{\circ}\text{C}$ ) maksymalnie przez dwa tygodnie [6, 8, 18].

W badanych ekstraktach oznaczano zawartość: katechin ogółem spektrofotometryczną metodą chemiczną (wanilinową), badając absorbancję barwnego związku powstałego w czasie reakcji flawon-3-oli z waniliną (cz.d.a., P.O.Ch., Gliwice) przy  $\lambda=500\text{ nm}$  [7, 12]. Do wykreślenia krzywych wzorcowych sporządzono 5 różnych stężeń (-)-epikatechiny, i wykonano po 3 równoległe oznaczenia każdego z nich. Analizę wykonano w 3 powtórzeniach.

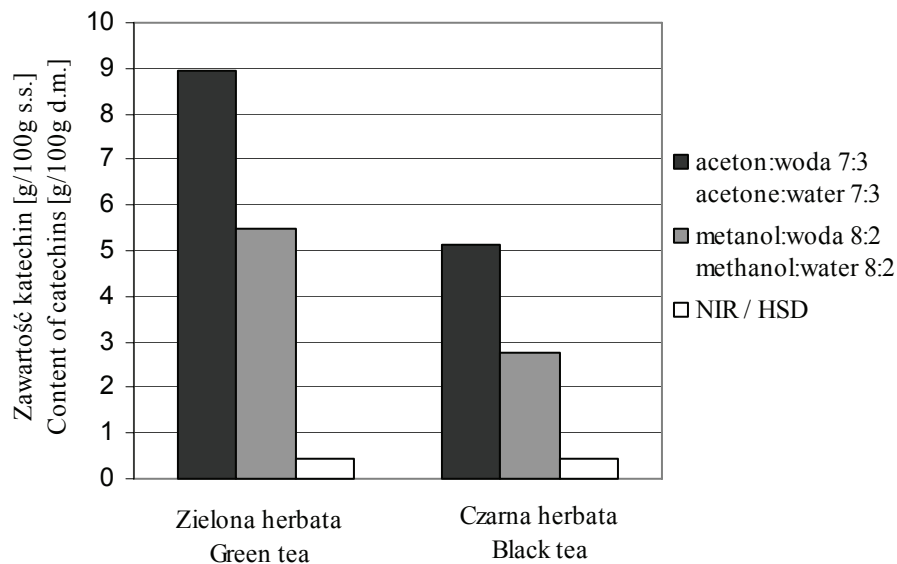
Katechiny oznaczano również metodą HPLC, używając kolumny RP-C<sub>18</sub> (150 x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ ), z detektorem diodowym  $\lambda=279\text{ nm}$ , prowadząc analizę w systemie gradientowym. Jako eluent stosowano mieszaninę buforu fosforanowego 0,01 mol/dm<sup>3</sup> i alkoholu metylowego z przepływem 1 ml/min [9, 15, 16]. Zastosowanymi wzorcami były: (-)-epikatechyna (min. 90%, Sigma–Aldrich), (+)-katechyna (min. 98%, Sigma–Aldrich, Niemcy) oraz galusan (-)-epigalokatechiny (min. 95%, Sigma–Aldrich, Niemcy). Obserwowano zależność powierzchni otrzymanych pików od stężenia każdego z trzech analizowanych związków. Krzywe wzorcowe badanych substancji wyznaczono na podstawie 7 poziomów stężeń i 5 równoległych oznaczeń każdego z nich. Analizę wykonano w 10 powtórzeniach. Zawartości (+)-katechiny i (-)-epikatechiny w badanych produktach wyrażano w mg/100 g s.s., a galusanu (-)-epigalokatechiny i katechin ogółem w g/100 g s.s.

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statgraphics Plus 4.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi określano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji przy  $\alpha = 0,05$ , a najmniejszą istotną różnicę wyznaczano testem Tukey'a.

## Wyniki i dyskusja

W przypadku krzywej wzorcowej metody wanilinowej rzeczywisty liniowy przedział roboczy zawierał się od 0,36 do 1,82 mg/10 ml roztworu wzorcowego. Mieszaninę rozpuszczalników aceton : woda charakteryzowała krzywa kalibracyjna (w której: y – absorbancja, x – zaw. katechin) o postaci  $y = 0,1029x + 0,0057$  ( $r = 0,99$ ), a mieszaninę metanol : woda  $y = 0,3872x + 0,0615$  ( $r = 0,99$ ). Sun i wsp. [11], używając jako standardu (+)-katechiny uzyskali krzywą kalibracyjną tej metody o współczynniku korelacji  $r = 0,99$ .

Oznaczona średnia zawartość katechin ogółem metodą wanilinową kształtowała się na poziomie od 2,76 do 8,94 g/100 g s.s. i była zależna od rodzaju herbaty i rodzaju mieszaniny ekstrakcyjnej (rys. 1). Ekstrakcja mieszaniną aceton : woda wykazywała około dwukrotnie wyższą skuteczność w porównaniu z mieszaniną metanol : woda.



Rys. 1. Zawartość katechin w liściach zielonej i czarnej herbaty oznaczonych metodą waniilinową w zależności od rodzaju mieszaniny ekstrakcyjnej.

Fig. 1. The content of catechins determined using vanillin assay in green and black tea leaves depending on kind of extraction mixture.

W metodzie HPLC zależność liniową wyznaczono w zakresie stężeń: (+)-katechyna 9,7–194,0  $\mu\text{g/ml}$ , (-)-epikatechyna 9,0–180,9  $\mu\text{g/ml}$ , galusan (-)-epigalokatechiny 9,5–237,5  $\mu\text{g/ml}$ , natomiast odpowiednie równania i współczynniki korelacji przedstawiały się następująco:  $y = 14730x + 10478$ ,  $r = 0,99$ ;  $y = 15235x + 15050$ ,  $r = 0,99$  oraz  $y = 29916x - 51470$ ,  $r = 0,99$ .

Wilska-Jeszka [17] podaje, że zawartość (+)-katechiny w zielonej herbacie waha się pomiędzy 1–2%, (-)-epikatechiny 1–3%, a w przypadku galusanu (-)-epigalokatechiny zakres ten wynosi 9–13%.

W badanej zielonej herbacie jedynie przy zastosowaniu ekstrakcji wodnym roztworem acetonu, wartości poszczególnych katechin zawierały się w takich przedziałach. Według danych literaturowych w zielonej herbacie zawartość (-)-epikatechiny powinna być wyższa niż (+)-katechiny [2, 9, 15, 16], co nie potwierdziło się w przeprowadzonych badaniach. W zielonej herbacie stwierdzono zawartość (-)-epikatechiny w zakresie od 0,35–0,49 g/100 g s.s., natomiast w czarnej herbacie od 0,07–0,23 g/100 g s.s. (tab. 1). Na zmienną zawartość miał prawdopodobnie wpływ sposób ekstrakcji. Według Nishitani i Sagesaka [9] zawartość tego związku powinna zawierać się w przedziale 0,43–0,97 g/100 g s.s. w zielonej herbacie i 0,04–0,32 g/100 g s.s. w czarnej herbacie. Porównując wyniki otrzymane z obu analiz można stwierdzić, że

zawartość (-)-epikatechiny oznaczono w niniejszej pracy na zbliżonym poziomie. Przy użyciu wodnego roztworu acetonu jako rozpuszczalnika, zawartość galusanu (-)-epigalokatechiny w zielonej herbacie wyniosła ok. 10,5 g/100 g s.s. i była największa spośród wszystkich otrzymanych wyników. Zawierała się ona w przedziale wartości podanych przez Wilską-Jeszczę [17]. Podczas analizy HPLC ponownie znacznie skuteczniejszy w wydobywaniu katechin okazał się roztwór acetonu, gdyż średnio ekstrahował ponad dwukrotnie więcej badanych substancji.

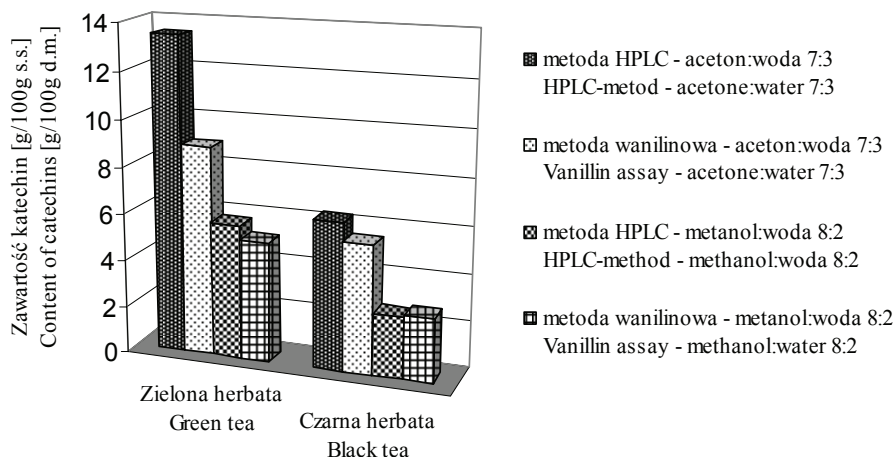
Tabela 1

Zawartość flawanoli oznaczonych metodą HPLC w zielonej i czarnej herbacie w zależności od rodzaju mieszaniny ekstrakcyjnej.

The content of flavanols determined using HPLC-method in green and black tea depending on kind of extraction mixture.

Zawartość flawanoli Flavanols content	Zielona herbata / Green tea		Czarna herbata / Black tea	
	Aceton:woda Acetone:water	Metanol:woda Metanol:water	Aceton:woda Acetone:water	Metanol:woda Metanol:water
(+)-katechyna [mg/100g s.s.] (+)-katechin [mg/100g d.m.]	2323,1	1315,6	489,1	188,9
NIR / HSD	23,2		6,6	
(-)-epikatechyna [mg/100g s.s.] (-)-epicatechin [mg/100g d.m.]	486,5	352,0	230,9	72,2
NIR / HSD	4,2		3,0	
galusan(-)-epigalokatechiny [g/100g s.s.] (-)-epigallocatechin gallate [g/100g d.m.]	10,64	5,03	5,61	2,37
NIR / HSD	0,19		0,13	

Suma zawartości (+)-katechiny, galusanu (-)-epigalokatechiny i (-)-epikatechiny oznaczona metodą HPLC wynosiła od 2,63 do 13,45 g/100 g s.s. Ilości katechin otrzymanych obiema metodami znajdowały się na zbliżonym poziomie. Największa różnica wystąpiła przy porównaniu wyników odnoszących się do zielonej herbaty ekstrahowanej wodnym roztworem acetonu. Jednak w metodzie HPLC nie badano takich katechin, jak: galusan (-)-epikatechiny, (-)-epigalokatechyna, (+)-galokatechyna, które również zaliczane są do głównych flawanoli herbaty. W konsekwencji wpłynęło to na zaniżoną zawartość katechin oznaczonych tą metodą, w porównaniu z metodą wanilinową, za pomocą której oznaczano katechiny ogółem. Na podstawie tego spostrzeżenia można stwierdzić, że za pomocą metody HPLC oznacza się większą ilość katechin, dysponując odpowiednimi wzorcami odniesienia.



Rys. 2. Zawartość sumy katechin oznaczonych metodą HPLC oraz katechin ogółem oznaczonych metodą wanilinową w zielonej i czarnej herbacie w zależności od rodzaju mieszaniny ekstrakcyjnej.

Fig. 2. The content of total catechins determined using HPLC-method and vanillin assay in green and black tea depending on kind of extraction mixture.

## Wnioski

1. Zawartość (+)-katechiny, (-)-epikatechiny, galusanu (-)-epigalokatechiny jest znacząco wyższa w liściach zielonej herbaty w porównaniu z herbatą czarną.
2. Ekstrakcja mieszaniną rozpuszczalników aceton : woda (7 : 3) wykazuje około dwukrotnie wyższą skuteczność ekstrakcji katechin w porównaniu z mieszaniną metanol : woda (8 : 2).
3. Zawartość katechin oznaczanych metodą HPLC jest wyższa niż uzyskana metodą wanilinową.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

## Literatura

- [1] Bartnikowska E.: Antyoksydanty pokarmowe a korzyści zdrowotne. W: „Czy wiesz co jesz?” - pod red. Wysockiej H. i Ozimek I. Wyd. Prószyński i s-ka, Warszawa 2000, s. 208-214.
- [2] Bonoli M., Pelillo M., Toschi T.G., Lercker G.: Analysis of green tea catechins: comparative study between HPLC and HPCE. *Food Chem.*, 2003, **81**, 631-638.
- [3] Deshpande S.S., Cheryan M., Salunkhe D.K.: Tannin analysis of food products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1986, **24**, 401-449
- [4] Hagerman A.E.: Tannin Chemistry. Vanillin Method. Department of Chem. and Biochem. Miami University, 2002.
- [5] Higdon J.V., Frei B.: Tea catechins and polyphenols: Health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2003, **43** (1), 89-143.

- [6] Ito R., Yamamoto A., Kodama S., Kato K., Yoshimura Y., Matsunaga A., Nakazawa H.: A study on the change of enantiomeric purity of catechins in green tea infusion. *Food Chem.*, 2003, **83**, 563-568.
- [7] Katalinic V., Milos M., Modun D., Music I., Boban M.: Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chem.*, 2004, **86**, 593-600.
- [8] Naczki M., Shahidi F.: Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chrom. A*, 2004, **1054**, 95-111.
- [9] Nishitani E., Sagesaka Y.M.: Simultaneous determination of catechins, caffeine and other phenolic compounds in tea using new HPLC method. *J. Food Com. Anal.*, 2004, **17**, 675-685.
- [10] Perva-Uzunalic A., Skerget M., Knez Z., Weinreich B., Otto F., Grüner S.: Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chem.*, 2006, **96**, 597-605.
- [11] Robak J., Zachwieja Z.: Rola polifenoli zawartych w diecie w profilaktyce schorzeń. *Brom. Chem. Toks.*, 1999, **32 (3)**, 215-220.
- [12] Sun B., Ricardo-da-Silva J.M., Springer I.: Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 4267-4274.
- [13] Wang H., Gordon J.P., Helliwell K.: Tea flavonoids: their functions, utilization and analysis. *Trends in Food Sci. Technol.*, 2000, **11**, 152-160.
- [14] Wang H., Gordon J.P., Helliwell K.: Determination of hamamelitannin, catechins and gallic acid in witch hazel bark, twig and leaf by HPLC. *J. Pharmac. Biomed. Anal.*, 2003, **33**, 539-544.
- [15] Wang H., Gordon J.P., Helliwell K.: HPLC determination of catechins in tea leaves and tea extracts using relative response factors. *Food Chem.*, 2003, **81**, 307-312.
- [16] Wang H., Helliwell K., You X.: Isocratic elution system of the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. *Food Chem.*, 2000, **68**, 115-121.
- [17] Wilska-Jeszka J.: Inne naturalne składniki żywności. W: *Chemia żywności - pod red. Sikorskiego Z.*. WNT, Warszawa 2002, s. 457-480.
- [18] Zuo Y., Chen H., Deng Y.: Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta*, 2002, **57**, 307-316.

#### COMPARISON OF DETERMINATION OF CATECHINS IN GREEN AND BLACK TEA LEAVES USING VANILLIN ASSAY AND HPLC-METHOD

##### Summary

The objective of this study was compare standard chemical method (vanillin assay) to determine total catechins with HPLC-method and effectiveness of extraction catechins from green and black tea leaves using two kinds of solvents. The (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin gallate using high performance liquid chromatography method and total catechins using vanillin assay were determined. The compounds were extracted using two kinds of solvents: acetone:water (7 : 3) and methanol:water (8 : 2).

The average of total catechins determined by vanillin assay was from 2.76 g to 8.94 g/100 g d.m. depending on kinds of teas and used extract solvents. The most of catechins (8.94 g/100 g d.m.) were extracted from green tea leaves by acetone solution and at least (2.76 g/100 g d.m.) from black tea leaves by methanol solution. The total rate of content (+)-catechin, (-)-epicatechin and (-)-epigallocatechin gallate determined using HPLC-method was from 2.63 g to 13.45 g/100 g d.m.

The mixture acetone:water (7 : 3) has twice higher effectiveness of extraction in relation to mixture methanol:water (8 : 2). HPLC-method made possible to determine a higher quantity of analysed catechins in comparison to chemical method (vanillin assay).

**Key words:** tea, catechins, vanillin assay, HPLC ☒

MARTA CIECIERSKA, MIECZYŚLAW W. OBIEDZIŃSKI, MARTA ALBIN

## ZANIECZYSZCZENIE HERBAT WIELOPIERŚCIENIOWYMI WĘGLOWODORAMI AROMATYCZNYMI

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zanieczyszczenia wybranych rodzajów herbat przez WWA, w tym 4 związki z grupy tzw. lekkich WWA wg EPA oraz 15 związków wytypowanych do badań przez Komitet Naukowy UE.

Materiał badawczy stanowiły popularne gatunki handlowe herbaty zielonej, czerwonej i czarnej. Metodyka badań obejmowała wyodrębnienie WWA z matrycy żywnościowej, oczyszczenie ekstraktu ze związków interferujących poprzez zastosowanie chromatografii żelowej (GPC) oraz jakościowe i ilościowe oznaczenie WWA przy użyciu chromatografii cieczowej z selektywnymi detektorami (HPLC–FLD/DAD).

Stwierdzono istotne zróżnicowanie poziomów zanieczyszczenia poszczególnych gatunków handlowych herbat we wszystkich analizowanych rodzajach herbat (zielonej, czerwonej i czarnej). Uzyskano natomiast zbliżone profile jakościowe zawartości WWA z bardzo wysokim udziałem lekkich WWA w sumarycznej zawartości tych związków. W analizowanych herbatach nie wykryto obecności benzo[a]pirenu oraz związków zaliczanych do najbardziej kancerogennych WWA, a więc dibenzopirenów.

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

### Wprowadzenie

Liczne badania naukowe dowodzą prozdrowotnych właściwości herbaty. Uważa się, że regularne picie herbaty zmniejsza ryzyko chorób układu krążenia, przeciwdziała nadciśnieniu, obniża poziom cholesterolu, zapobiega schorzeniom nowotworowym oraz spowalnia proces starzenia. Herbata ma ponadto właściwości przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe oraz przeciwwrzodowe [6, 8, 11, 14, 15, 16].

W efekcie skażenia środowiska naturalnego, a więc powietrza, wody i gleby, produkty żywnościowe pochodzenia roślinnego, w tym również liście herbaty mogą być zanieczyszczone wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (WWA).



Związki te stanowią bardzo zróżnicowaną i wszechobecną grupę ksenobiotyków występujących w środowisku człowieka. W powietrzu WWA występują w formie par lub są skondensowane na cząsteczkach pyłów i kurzu. W zależności od warunków atmosferycznych WWA mogą ulegać przemieszczaniu na tereny znacznie odległe od źródeł ich emisji. Opadające z atmosfery pyły wraz ze skondensowanymi na ich powierzchni poliarenami sprzyjają zanieczyszczeniu roślin oraz surowców rolnych [2, 7]. Uważa się, że powierzchnia liści eksponowanych na depozyt WWA istotnie wpływa na efektywność zatrzymywania pyłu przenoszącego te związki. Charakteryzujące się dużą powierzchnią liście herbaty mogą zatem sprzyjać wysokiemu poziomowi zanieczyszczenia WWA. Herbaty mogą być jednak skażone poliarenami nie tylko poprzez depozycję środowiskową, ale również na skutek procesów obróbki surowca, a więc suszenia czy też prażenia niektórych ich rodzajów [4, 5, 9, 10].

Dotychczas w badaniach żywności podejmowano się oznaczania 16 WWA wg EPA (United States Environmental Protection Agency; EPA/540/1 – 86/013, 1984). 4 grudnia 2002 r. Komitet Naukowy ds. Zanieczyszczeń Żywności Europejskiej Agencji Bezpieczeństwa Żywności Unii Europejskiej w opinii na temat WWA przedstawił listę 15 WWA – bardziej potencjalnie rakotwórczych i toksycznych związków od 16 WWA wg EPA [3]. Obecnie zgodnie z zaleceniem Komisji Europejskiej 2006/108/EC z 4 lutego 2005 r. [12] istnieje potrzeba badań nad poziomami benzo[a]pirenu oraz pozostałych związków należących do 15 WWA wytypowanych przez Komitet Naukowy ds. Żywności UE w produktach spożywczych. Wiadome jest jednak, że WWA występują w produktach żywnościowych zawsze jako złożone mieszaniny różnorodnych związków, w tym tzw. lekkich oraz ciężkich WWA.

Celem pracy było zatem określenie zanieczyszczenia wybranych rodzajów herbat, dostępnych na rynku, przez WWA, w tym 4 związki z grupy tzw. lekkich WWA (należących do 16 WWA wg EPA) oraz 15 WWA wytypowanych przez Komitet Naukowy UE zgodnie z zaleceniem Komisji Europejskiej [12].

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły popularne gatunki handlowe herbat liściastych: zielonej (Sencha, Nepal, Gunpowder), czerwonej (Oolong, Pu Erh Superior, Pu Erh) i czarnej (Golden Yunnan, Assam, Ceylon) zakupione na lokalnym rynku. Badaniom poddano po 3 próbki każdego rodzaju herbaty. Każdą z 3 próbek tego samego rodzaju analizowano w 3 powtórzeniach.

Zastosowana metodyka badań obejmowała ekstrakcję WWA z matrycy żywnościowej, następnie oczyszczenie ekstraktu od związków interferujących przy wykorzystaniu chromatografii preparatywnej (GPC) oraz jakościowe i ilościowe oznaczenie związków techniką chromatografii cieczowej z selektywnymi detektorami (HPLC-FLD/DAD).



Naważkę liści herbacianych zalewano 100 ml mieszaniny heksan/aceton (60 : 40, v/v) oraz umieszczano w łaźni ultradźwiękowej (30 min). Uzyskany ekstrakt po prze-filtrowaniu zagęszczano do kropli rozpuszczalnika, a następnie rozpuszczano w mieszaninie cykloheksan : octan etylu. W celu oddzielenia frakcji WWA od związków interferujących zastosowano kolumnę do chromatografii żelowej TSK Gel G1000HXL, 300 x 7,8 mm, 5  $\mu$ m. Do rozdziału wprowadzano 1 cm<sup>3</sup> uprzednio przygo-towanej mieszaniny. Rozdział prowadzono metodą izokratyczną przy przepływie 0,8 ml/min, a fazę ruchomą stanowiła mieszanina cykloheksan : octan etylu (50 : 50, v/v).

Zebraną frakcję WWA po zagęszczeniu oraz rozpuszczeniu w 1 cm<sup>3</sup> acetonitrylu poddawano analizie metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej przy użyciu aparatu HPLC Shimadzu 2010, składającego się z pompy LC-10AT<sub>VP</sub>, detektora diodowego SPD-M10A<sub>VP</sub>, detektora fluorescencyjnego RF-10A<sub>XL</sub>, degazera DGU-14A, autosamplera SIL-10AD<sub>VP</sub> oraz kontrolera SCL-10A<sub>VP</sub>, współpracującego z systemem do zbierania i przetwarzania danych LabSolution 2.1. Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny chromatograficznej BAKERBOND PAH-16Plus 250 x 3 mm, 5  $\mu$ m firmy WITKO – Baker. Temp. termostataowania kolumny wynosiła 30°C. Analizy wykonywano metodą gradientową przy przepływie 0,5 ml/min, stosując mieszaninę acetonitryl : woda, 50 : 50 (A) oraz acetonitryl (B). Zastosowano następujący program elucji gradientowej: 0–25 min 30% B, 25–50 min 30% B do 100% B, 50–68,5 min 100% B.

Warunki detekcji: detektor diodowy – 254 nm; detektor fluorescencyjny – zmienne nastawienia wzbudzenia i emisji (Ex/Em): 256/370, 270/420, 270/500, 270/470 nm. Analizę jakościowo-ilościową wykonywano metodą standardów zewnętrznych, które stanowiły mieszaninę 15 WWA wg KN UE oraz 4 lekkich WWA z listy EPA.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu komputerowego Statgraphics Plus 4.1. Ocena istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi sumarycznej zawartości WWA w ramach trzech gatunków herbat wykonano stosując test Tukey'a, przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Średnią zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych oraz sumaryczną zawartość WWA w badanych gatunkach herbat zielonych, czerwonych i czarnych wraz z odchyleniem standardowym przedstawiono w tab. 1.

Pomiędzy poszczególnymi gatunkami handlowymi herbat we wszystkich analizowanych rodzajach herbat – zielonej, czerwonej i czarnej – stwierdzono statystycznie istotne zróżnicowanie poziomów sumarycznej zawartości WWA. W grupie herbat zielonych statystycznie najniższym poziomem zanieczyszczenia policyklicznymi węglowodorami aromatycznymi charakteryzowała się herbata Sencha (62,14  $\mu$ g/kg), natomiast najwyższym poziomem WWA odznaczała się herbata Nepal (231,73  $\mu$ g/kg).

Spośród herbat czerwonych statystycznie najwyższy poziom zanieczyszczenia WWA odnotowano w herbacie Pu Erh Superior (243,27  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), a najniższy w Oolong (69,86  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Analizując sumaryczne skażenie herbat czarnych, najmniejszą zawartość polia-  
renów oznaczono w herbacie Assam (18,76  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), natomiast największym skażeniem WWA charakteryzowała się herbata Golden Yunnan (285,81  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Spośród wszystkich przebadanych w niniejszej pracy rodzajów i gatunków herbat, Golden Yunnan wykazała największą zawartość WWA, co potwierdziła przeprowadzona analiza statystyczna.

Obserwacja ta znajduje potwierdzenie w badaniach Fiedlera i wsp. [4], którzy wykazali istotnie wyższy poziom zanieczyszczenia herbat czarnych w porównaniu z herbatami zielonymi. Można zatem stwierdzić, że herbatę zieloną charakteryzuje potencjalnie niższy poziom skażenia WWA, bowiem powstaje ona z liści niepoddanych fermentacji, a więc natychmiast po zerwaniu liści przeprowadzany jest proces suszenia. Analizy różnych rodzajów herbat wykonane przez naukowców chińskich również potwierdziły najwyższą zawartość sumy polia-  
renów w herbacie czarnej [10]. W badaniach Lin i Zhu [9], dotyczących wpływu procesu przetwórczego na zanieczyszczenie czarnej herbaty WWA, dowiedziono, że duża zawartość tych związków jest przede wszystkim wynikiem procesu suszenia surowca, uzyskiwanego poprzez spalanie drewna opałowego, podczas którego wytwarzane WWA są następnie absorbowane przez liście herbaty.

Uzyskane w niniejszej pracy bardzo duże zróżnicowanie poziomów skażenia herbat polia-  
renami znajduje także potwierdzenie w badaniach Lin i wsp. [10]. Wykazali oni, że w różnych rodzajach herbat sumaryczna zawartość 16 WWA (wg listy EPA) zawierała się w granicach od 323 do 8800  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Schlemitz i Pfannhauser [13] oraz Fiedler i wsp. [4] również potwierdzili szeroki zakres poziomów zanieczyszczenia różnych rodzajów herbat liściastych przez WWA. Oznaczyli oni sumaryczną zawartość 16 WWA odpowiednio w granicach od 497 do 1162  $\mu\text{g}/\text{kg}$  oraz od 13,41 do 7536,33  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Profile jakościowe zawartości WWA w analizowanych herbatach charakteryzowały się obecnością fenantrenu, antracenu, fluorantenu i pirenu, a więc lekkich WWA rekomendowanych do badań przez EPA oraz benzo[a]antracenu, chryzenu, 5-metylochryzenu, benzo[b]fluorantenu, benzo[k]fluorantenu oraz benzo[g,h,i]perylenu, należących do grupy polia-  
renów zalecanych do badań przez Komitet Naukowy ds. Żywności UE. W analizowanych herbatach nie wykryto obecności benzo[a]pirenu, a więc związku uważanego za wskaźnik występowania innych kancerogennych węglowodorów pięcio- i sześciopierścieniowych. Nie wykryto również związków zaliczanych do najbardziej kancerogennych WWA, a więc dibenzopirenów.

Tabela 1

Średnia zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w badanych herbatach [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ].  
 Mean content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in teas under investigation [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ].

WWA PAH	Herbaty zielone / Green teas			Herbaty czerwone / Red teas			Herbaty czarne / Black teas		
	Sencha	Nepal	Gunpowder	Oolong	Pu Erh Superior	Pu Erh	Golden Yunnan	Assam	Ceylon
Fen	16,93 ± 2,16	33,14 ± 2,20	29,14 ± 2,30	19,08 ± 1,55	79,34 ± 5,22	53,22 ± 4,94	75,96 ± 6,50	3,43 ± 0,44	10,96 ± 1,12
Antr	3,77 ± 0,45	13,15 ± 0,77	9,08 ± 1,18	6,17 ± 0,55	23,66 ± 2,25	23,33 ± 2,01	14,73 ± 1,16	5,42 ± 0,57	11,95 ± 0,72
Flu	14,50 ± 1,99	61,61 ± 4,77	34,30 ± 0,61	18,80 ± 1,50	79,37 ± 6,68	43,79 ± 4,35	70,40 ± 7,17	1,15 ± 0,22	11,02 ± 1,39
Pir	12,78 ± 1,47	52,80 ± 4,14	9,99 ± 1,07	14,24 ± 1,34	43,85 ± 4,17	27,97 ± 2,96	81,83 ± 6,79	3,18 ± 0,39	11,13 ± 1,44
C[cd]p	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.
B[a]a	1,47 ± 0,28	22,91 ± 2,22	2,85 ± 0,38	3,39 ± 0,43	5,89 ± 0,67	4,43 ± 0,56	15,37 ± 1,54	1,76 ± 0,25	3,85 ± 0,31
Chr	5,86 ± 0,89	19,88 ± 1,08	2,42 ± 0,49	5,17 ± 0,66	7,21 ± 0,88	6,75 ± 0,60	18,87 ± 1,58	0,95 ± 0,11	2,40 ± 0,27
5-MChr	3,00 ± 0,36	2,27 ± 0,13	3,38 ± 0,68	1,12 ± 0,17	2,98 ± 0,27	1,30 ± 0,23	1,01 ± 0,21	2,86 ± 0,33	1,46 ± 0,20
B[j]f	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.
B[b]f	0,79 ± 0,27	13,48 ± 1,16	1,19 ± 0,16	0,74 ± 0,06	n.w./n.d.	0,74 ± 0,11	2,54 ± 0,33	n.w./n.d.	0,50 ± 0,10
B[k]f	0,90 ± 0,26	8,49 ± 1,05	0,66 ± 0,13	1,16 ± 0,28	0,97 ± 0,22	1,32 ± 0,15	5,10 ± 0,48	n.w./n.d.	0,64 ± 0,16
B[a]p	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.
D[ah]a	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.
D[al]p	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.
B[gh]jp	2,13 ± 0,08	4,00 ± 0,37	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.
I[cd]p	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.
D[ae]p	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.
D[ai]p	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.
D[ah]p	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.	n.w./n.d.
ΣWWA	62,14 ± 6,57 <sup>a1</sup>	231,73 ± 14,22 <sup>c1</sup>	93,02 ± 4,08 <sup>b1</sup>	69,86 ± 4,98 <sup>d2</sup>	243,27 ± 17,94 <sup>e2</sup>	162,84 ± 15,76 <sup>b2</sup>	285,81 ± 21,07 <sup>c3</sup>	18,76 ± 2,13 <sup>a3</sup>	53,90 ± 4,18 <sup>b3</sup>
ΣPAHs									

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Fen - Fenantren / Phenantrene, Antr - Antracen / Anthracene, Flu - Fluoranten / Fluoranthene, Pir - Pirene / Pyrene, C[cd]p - Cyklopenta[cd]piren / Cyclopenta[cd]pyrene, B[a]a - Benzo[a]antracen / Benzo[a]anthracene, Chr - Chryzen / Chrysene, 5-MChr - 5-Metylochryzen / 5-Methylchrysene, B[j]f - Benzo[j]fluoranten / Benzo[j]fluoranthene, B[b]f - Benzo[b]fluoranten / Benzo[b]fluoranthene, B[k]f - Benzo[k]fluoranten / Benzo[k]fluoranthene, B[a]p - Benzo[a]piren / Benzo[a]pyrene, D[ah]a - Dibenzo[ah]antracen / Dibenzo[ah]anthracene, D[al]p - Dibenzo[al]piren / Dibenzo[al]perylene, B[gh]jp - Benzo[gh]jperylene / Benzo[gh]jperylene, I[cd]p - Indeno[1,2,3-cd]piren / Indeno[1,2,3-cd]pyrene, D[ae]p - Dibenzo[ae]piren / Dibenzo[ae]perylene, D[ai]p - Dibenzo[ai]piren / Dibenzo[ai]perylene, D[ah]p - Dibenzo[ah]piren / Dibenzo[ah]pyrene; n.w./n.d. – nie wykryto/ not detected; a1, b1, c1; a2, b2, c2; a3, b3, c3 – wartości średnie oznaczone innymi literami przy tej samej cyfrze (czyli w ramach jednego z 3 porównań sumarycznej zawartości WWA) oznaczają statystycznie istotną różnicę między średnimi na poziomie  $\alpha = 0,5 /$  the mean values marked with different letters by the same number (within one from 3 comparisons of summary content of PAHs) indicate statistically significant difference between means at  $\alpha = 0,05$  level.

Stwierdzono, że lekkie WWA, a więc węglowodory dwu-, trzy- i czteropierścieniowe, stanowią od ok. 88,8 do 100% sumarycznej zawartości WWA. Odnotowano więc bardzo niewielki udział ciężkich węglowodorów, wykazujących właściwości kancerogenne, w zanieczyszczeniu analizowanych herbat. Uzyskane profile jakościowe i ilościowe WWA jednoznacznie wskazują na środowiskowy charakter skażenia herbat. W badaniach przeprowadzonych przez Lin i wsp. [10] również zaobserwowano, że dominujący udział w zanieczyszczeniu herbat mają węglowodory lekkie, które stanowiły od 77,7 do 98,7% wszystkich oznaczonych WWA. Doniesienie naukowe badaczy indyjskich także potwierdziło wysoki udział lekkich poliarenow w zanieczyszczeniu herbat w porównaniu z zawartością ciężkich WWA, a więc węglowodorów pięcio- i sześciopierścieniowych [1].

### Wnioski

1. Stwierdzono istotne zróżnicowanie poziomów sumarycznej zawartości WWA pomiędzy poszczególnymi gatunkami handlowymi we wszystkich analizowanych rodzajach herbat (zielonej, czerwonej i czarnej).
2. Uzyskano zbliżone profile jakościowe zawartości WWA z bardzo wysokim udziałem lekkich WWA w zanieczyszczeniu badanych herbat. Stanowiły one od ok. 88,8 do 100% sumarycznej zawartości WWA.
3. W analizowanych herbatach nie wykryto obecności benzo[a]pirenu oraz związków zaliczanych do najbardziej kancerogennych WWA, a więc dibenzopirenow.

*Praca zrealizowana w ramach grantu KBN nr 501 0928 00 29; była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Bishnoi N.R., Mehta U., Sain U., Pandit G.G.: Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea and coffee samples of Mumbai city (India) by high performance liquid chromatography. *Environ. Monit and Assesm*, 2005, **107**, 399-406.
- [2] Camargo Rojo M.C., Toledo M.C.F.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian vegetables and fruits. *Food Control*, 2003, **14**, 49-53.
- [3] European Commission: Opinion of the Scientific Committee on food on the risks to human health of polycyclic aromatic hydrocarbons in food (expressed on 4 December 2002), [http://ec.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index\\_en.html](http://ec.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html)
- [4] Fiedler H., Cheung C.K., Wong M.H.: PCDD/PCDF, chlorinated pesticides and PAH in Chinese teas. *Chemosphere*, 2002, **46**, 1429-1433.
- [5] Gomes Zuin V., Montero L., Bauer C., Popp P.: Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography–fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. *J Chromatogr. A*, 2005, **1091**, 2-10.

- [6] Gupta S., Saha B., Giri A.K.: Comparative antimutagenic and anticlastogenic effects of green tea and black tea: a review. *Mutation Research*, 2002, **512**, 37-65.
- [7] Jánková M., Hajslová J., Tomaniová M., Kocourek V., Vávrová M.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits and vegetables grown in the Czech Republic. *Environm Contam and Toxicol.*, 2006, **77**, 492-499.
- [8] Kuroda Y., Hara Y.: Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. *Mutat. Research*, 1999, **436**, 69-97.
- [9] Lin D., Zhu L.: Polycyclic aromatic hydrocarbons: pollution and source analysis of a black tea. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 8268-8271.
- [10] Lin D., Tu Y., Zhu L.: Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. *Food Chem Toxicol.*, 2005, **43**, 41-48.
- [11] Liu Z.Q., Ma L.P., Zhou B., Yang L., Liu Z.L.: Antioxidative effects of green tea polyphenols on free radical initiated and photosensitized peroxidation of human low density lipoprotein. *Chem. Physics Lipids*, 2000, **106**, 53-63.
- [12] Commission Recommendation 2005/108/EC of 4 February 2005 on the further investigation into the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in certain foods. *Official Journal of the European Union*, L 34/3.
- [13] Schlemitz S., Pfannhauser W.: Supercritical fluid extraction of mononitrated polycyclic aromatic hydrocarbons from tea—correlation with the PAH concentration. *Z Lebensm Unters Forsch A*, 1997, **205**, 305-310.
- [14] Vinson J.A., Dabbagh Y.A.: Tea phenols: Antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. *Nutrit Research*, 1998, **18**, 1067-1075.
- [15] Weisburger J.H.: Tea and health: a historical perspective. *Cancer Letters*, 1997, **114**, 315-317.
- [16] Wheeler D.S., Wheeler W.J.: The medicinal chemistry of tea. *Drug Development Research*, 2004, **61**, 45-65.

## TEAS' CONTAMINATION BY POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS

### S u m m a r y

The objective of this research was to perform studies dealing with contamination of teas by PAHs: 4 compounds from the group of light PAHs listed by EPA and 15 compounds listed by The Scientific Committee on Food UE.

The material investigated were popular brands of green, red and black teas. Methodology applied for the study consisted of PAHs' isolation from the food matrix, extract's clean up from interfering compounds using GPC – gel permeation chromatography and qualitative-quantitative PAHs' determination by liquid chromatography with selective detectors (HPLC-FLD/DAD).

Significant differences in contamination level of particular brands of teas in all analyzed kinds of teas (green, red, black) were stated. Similar quality profiles of PAHs with very high level of light PAHs in summary content of these compounds were obtained. Among all teas under investigation, benzo[a]pyrene and the most carcinogenic polyarenes, namely dibenzopyrenes were not detected.

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

WALDEMAR GUSTAW, MACIEJ NASTAJ, BARTOSZ SOŁOWIEJ

## WPLYW WYBRANYCH HYDROKOLOIDÓW NA WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE JOGURTU STAŁEGO

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku wybranych hydrokoloidów i ich mieszanin na właściwości reologiczne i wielkość synerезy jogurtów otrzymanych metodą termostatową. Jogurt naturalny, bez dodatku polisacharydów charakteryzował się ponad 2% synerезą i twardością około 33 G. Jogurty z dodatkiem gumy guar (GG) i gumy ksantanowej (GK) charakteryzowały się niewielkim zwiększeniem twardości wraz ze wzrostem stężenia tych polisacharydów, ponadto w przypadku gumy ksantanowej (GK) wzrost stężenia polisacharydu wpływał na zmniejszenie synerезy. Dodatek mieszaniny: guma ksantanowa - guma guar (GK -GG) w ilości powyżej 0,01% powodował zmniejszenie synerезy poniżej wartości uzyskanej w przypadku jogurtu kontrolnego. Spośród badanych pojedynczych polisacharydów jogurty o najlepszych właściwościach reologicznych i najmniejszym wycieku serwatki otrzymano po dodaniu gumy ksantanowej.

**Słowa kluczowe:** jogurt, karagen, galaktomannany, guma ksantanowa, synerезa, twardość

### Wprowadzenie

W ciągu ostatnich kilkunastu lat obserwuje się wyraźną tendencję wzrostu spożycia mlecznych napojów fermentowanych, zwłaszcza jogurtu. Przemysłowa produkcja jogurtów jest bardzo rozpowszechniona w różnych krajach świata i znajduje się na pierwszym miejscu wśród wszystkich fermentowanych napojów mlecznych [7]. Jogurt jest ceniony ze względu na walory smakowe i dietetyczne oraz właściwości prozdrowotne [11].

Jedną z głównych przyczyn ograniczających wzrost konsumpcji jogurtu była jego niska jakość, objawiająca się m.in. niewłaściwą konsystencją i wydzielaniem serwatki. Wadom tym obecnie skutecznie można zapobiegać, stosując między innymi dodatek stabilizatorów takich jak: karagen, pektyna, skrobia, guma guar, mączka chleba święto-

jańskiego i guma ksantanowa [9]. Dodawanie stabilizatorów ma również uzasadnienie zdrowotne: obniżenie kaloryczności jogurtu dzięki wyeliminowaniu części tłuszczu, a także ekonomiczne, gdyż pozwala zmniejszyć zużycie odtłuszczonego proszku mlecznego.

Celem pracy było określenie wpływu dodatku wybranych hydrokoloidów i ich mieszanin na właściwości reologiczne i wielkość synerezy jogurtów otrzymanych metodą termostatową.

### **Material i metody badań**

Do badań użyto mleka pełnego w proszku (OSM Krasnystaw), karagenu (KK), mączki chleba świętojańskiego (MCHŚ), gumy guar (GG) i ksantanowej (GK) (Sigma, USA). Do produkcji jogurtu użyto szczepionki YC-X11, Yo-Flex, *Thermophilus Lactic Culture* (CHR HANSEN, Polska).

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. do momentu obniżenia pH do około 4,6. Zwiększenie suchej masy mleka odbywało się poprzez dodatek pojedynczych polisacharydów lub ich mieszanin w ilości od 0,01 do 0,05%. Polisacharydy dodawano przed pasteryzacją mleka.

Oznaczano pH mleka z dodatkami przed fermentacją i jogurtów po fermentacji. Wielkość synerezy oznaczano wagowo po około 24 godz. przechowywania w temp. 4°C.

Oznaczano teksturę jogurtów za pomocą analizatora tekstury TA-XT2i (Stable Micro Systems, UK) po około 24 godz. przechowywania w temp. 4°C. Próbkę jogurtu o objętości 40 ml badano, stosując zmodyfikowany test TPA, w którym oznaczano jedynie twardość jogurtów. Średnica trzpienia wynosiła 10 mm, a prędkość przesuwu głowicy analizatora 1 mm/s. Oznaczano twardość jogurtów. Pomiary wykonywano w 3 seriach po 6 powtórzeń.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej stosując test t-Studenta wg programu Stat 1, ISK Skierniewice.

### **Wyniki i dyskusja**

W pierwszym etapie badań otrzymano jogurt kontrolny, bez dodatków oraz sporządzono jogurty z dodatkiem pojedynczych polisacharydów. Jogurt zagęszczano hydrokoloidami w ilości: 0,01, 0,025 i 0,05%. Dodatek polisacharydów powodował zmianę wartości pH mleka przed fermentacją (tab. 1). KK dodany do mleka spowodował spadek wartości pH, natomiast pozostałe polisacharydy podwyższyły wartość pH



mleka. W przypadku MCHŚ dodatek w ilości 0,025% i większy powodował zmniejszenie wartości pH mleka w porównaniu z próbą kontrolną. Po zakończonej fermentacji pH poszczególnych jogurtów było zróżnicowane, pomimo stosowania jednakowego czasu fermentacji. Jogurty otrzymane z dodatkiem KK miały wyższe pH w porównaniu z jogurtem kontrolnym, natomiast w przypadku jogurtu z dodatkiem MCHŚ zbliżone do jogurtu kontrolnego. W przypadku pozostałych dodatków kwasowość jogurtów była niższa niż w przypadku jogurtu kontrolnego (tab. 1). Z danych zawartych w literaturze wynika, że dodatek hydrokoloidów, takich jak pektyny i alginiany, powoduje niewielki wzrost kwasowości jogurtów [6].

Jogurt naturalny, bez dodatku polisacharydów charakteryzował się ponad 2% synerезą (tab. 2). Po dodaniu GK wielkość synerезy malała wraz ze wzrostem stężenia tego polisacharydu. Wcześniejsze badania również wykazały wyraźny spadek wycieku serwatki z jogurtu po dodaniu gumy ksantanowej [1].

Tabela 1

Wartość pH mleka przed fermentacją i jogurtu po fermentacji w zależności od rodzaju i stężenia dodanego polisacharydu.

The pH values of milk before fermentation and yoghurt after fermentation in dependence of polysaccharide type and concentration.

Rodzaj polisacharydu Type of polysaccharide	pH	
	Mleko przed fermentacją Milk before fermentation	Jogurt po fermentacji Milk after fermentation
Próba kontrolna / Control sample	6,64	4,53 <sup>e</sup> ±0,04
Stężenie polisacharydu 0,01% / Polysaccharide concentration 0,01%		
KK	6,30	4,68 <sup>g</sup> ±0,01
MCHŚ	6,87	4,52 <sup>de</sup> ±0,03
GG	6,72	4,35 <sup>bc</sup> ±0,02
GK	6,71	4,34 <sup>abc</sup> ±0,01
Stężenie polisacharydu 0,025% / Polysaccharide concentration 0,025%		
KK	6,30	4,73 <sup>h</sup> ±0,05
MCHŚ	6,55	4,51 <sup>de</sup> ±0,02
GG	6,72	4,37 <sup>c</sup> ±0,01
GK	6,71	4,31 <sup>a</sup> ±0,01
Stężenie polisacharydu 0,05% / Polysaccharide concentration 0,05%		
KK	6,52	4,57 <sup>f</sup> ±0,01
MCHŚ	6,49	4,49 <sup>d</sup> ±0,02
GG	6,72	4,34 <sup>abc</sup> ±0,01
GK	6,70	4,32 <sup>ab</sup> ±0,01

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

a-h – the differences among mean values denoted using different letters are statistically significant ( $p < 0.05$ ).



W przypadku KK, MCHŚ i GG synereza była mniejsza niż w jogurcie kontrolnym, przy najmniejszym dodatku polisacharydu, a wraz ze wzrostem stężenia polisacharydu synereza wyraźnie wzrastała. Podobne wyniki uzyskano badając dodatek mączki chleba świętojańskiego na właściwości fizyczne jogurtu. Zastosowanie tego polisacharydu w ilości powyżej 0,02% powodowało wzrost synerezy w jogurtach [11]. Dodatek karagenu powyżej 0,01% powodował powstanie bardzo twardego, zwartego skrzepu, jednak powodował wydzielanie dużych ilości serwatki (powyżej 20%). Dodatek KK powodował znaczny wzrost twardości, ale dopiero przy największym stężeniu polisacharydu (0,05%), natomiast jogurty otrzymane z 0,01 i 0,025% dodatkiem KK charakteryzowały się mniejszą twardością w porównaniu z jogurtem kontrolnym (rys. 1).

Wzrostowi twardości przy najwyższym stężeniu KK towarzyszyło powstanie bardzo zwartego żelu, który charakteryzował się dużą synerezą. Mogło być to spowodowane całkowitym otoczeniem miceli kazeinowych przez cząsteczki KK i w rezultacie ograniczeniu oddziaływań pomiędzy micelami kazeinowymi.

Tabela 2

Wielkość synerezy jogurtów otrzymanych z dodatkiem różnych polisacharydów.

The quantity of syneresis of set type yoghurt obtained with different polysaccharide.

Rodzaj polisacharydu Type of polysaccharide	Synereza Syneresis [%]
Próba kontrolna Control sample	2,12 <sup>cd</sup> ±0,39
Stężenie polisacharydu 0,01% / Polysaccharide concentration 0,01%	
KK	1,01 <sup>a</sup> ±0,13
MCHŚ	1,16 <sup>ab</sup> ±0,14
GG	2,03 <sup>bcd</sup> ±0,16
GK	2,11 <sup>bcd</sup> ±0,17
Stężenie polisacharydu 0,025% / Polysaccharide concentration 0,025%	
KK	22,58 <sup>f</sup> ±0,30
MCHŚ	1,88 <sup>abcd</sup> ±0,17
GG	2,33 <sup>d</sup> ±0,14
GK	1,5 <sup>abcd</sup> ±0,11
Stężenie polisacharydu 0,05% / Polysaccharide concentration 0,05%	
KK	27,7 <sup>g</sup> ±1,68
MCHŚ	2,09 <sup>cd</sup> ±0,12
GG	4,63 <sup>e</sup> ±0,31
GK	1,39 <sup>abc</sup> ±0,25

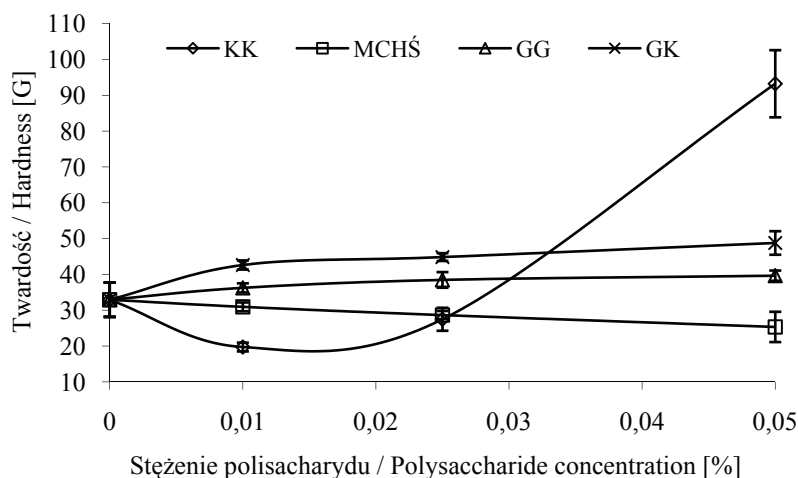
Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

a-g – the differences among mean values denoted using different letters are statistically significant ( $p < 0.05$ ).

Cząsteczki karagenu mają ujemny ładunek i mogą oddziaływać z  $\kappa$ -kazeiną, tworząc elektrostatyczne kompleksy [10]. Należy jednak zauważyć, że mająca dodatni ładunek  $\kappa$ -kazeina jest adsorbowana blisko powierzchni miceli kazeinowej i interakcje z karagenem mogą być utrudnione [2]. Dodatek pektyny do jogurtu w ilości do 0,4% powodował wyraźny wzrost jego twardości wraz ze zwiększeniem stężenia polisacharydu, dalszy wzrost stężenia pektyny nie dawał już tak wyraźnego efektu [6]. Innym wytłumaczeniem tak dużego wycieku serwatki może być wystąpienie fazy separacji pomiędzy polisacharydami a białkami mleka. Zjawisko takie stwierdzono m.in. w mieszaninach białek serwatkowych i karagenu [4].

Jogurty z dodatkiem GG i GK charakteryzowały się niewielkim wzrostem twardości wraz ze zwiększeniem stężenia tych polisacharydów, ponadto w przypadku GK wzrost stężenia polisacharydu wpływał na zmniejszenie synerезy. Uzyskane wyniki potwierdziły wcześniejsze doniesienia o pozytywnym wpływie gumy ksantanowej na teksturę jogurtu, przez wzrost jego twardości i ograniczenie synerезy [5]. Twardość jogurtu zawierającego mączkę chleba świętojańskiego powoli malała wraz ze wzrostem stężenia tego galaktomannanu (rys. 1). Guma guar, guma ksantanowa i mączka chleba świętojańskiego nie wykazują elektrostatycznych interakcji z kazeiną [2].



Rys. 1. Wpływ stężenia polisacharydu na twardość jogurtów otrzymanych metodą termostatową.

Fig. 1. The effect of polysaccharide concentration on hardness of set type yoghurt.

W drugim etapie badań do zagęszczenia jogurtów zastosowano mieszaniny polisacharydów. Łączne stężenie polisacharydów wynosiło: 0,01, 0,025 i 0,05%. Po dodaniu mieszaniny polisacharydów w większości przypadków zaobserwowano wzrost wartości pH mleka przed zaszczepieniem i niższe wartości pH jogurtu po zakończonej fermentacji w porównaniu z jogurtem kontrolnym (tab. 3).

Tabela 3

Wartość pH mleka przed fermentacją i jogurtu po fermentacji w zależności od rodzaju i stężenia dodanej mieszaniny polisacharydów.

The pH values of milk before fermentation and yoghurt after fermentation in dependence of type and concentration of mixed polysaccharide system.

Rodzaj polisacharydu Type of polysaccharide	pH	
	Mleko przed fermentacją Milk before fermentation	Jogurt po fermentacji Yoghurt after fermentation
Próba kontrolna Control sample	6,64	4,53 <sup>b</sup> ±0,04
Stężenie mieszaniny polisacharydów 0,01% / Polysaccharide mixture concentration 0,01%		
KK-MCHŚ	6,92	4,53 <sup>b</sup> ±0,03
GK-MCHŚ	6,80	4,39 <sup>a</sup> ±0,01
GK-GG	6,78	4,37 <sup>a</sup> ±0,01
Stężenie mieszaniny polisacharydów 0,025% / Polysaccharide mixture concentration 0,025%		
KK-MCHŚ	6,92	4,76 <sup>c</sup> ±0,01
GK-MCHŚ	6,80	4,41 <sup>a</sup> ±0,04
GK-GG	6,79	4,41 <sup>a</sup> ±0,02
Stężenie mieszaniny polisacharydów 0,05% / Polysaccharide mixture concentration 0,05%		
KK-MCHŚ	6,28	4,45 <sup>a</sup> ±0,02
GK-MCHŚ	6,79	4,41 <sup>a</sup> ±0,01
GK-GG	6,78	4,39 <sup>a</sup> ±0,02

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

a-c – the differences among mean values denoted using different letters are statistically significant ( $p < 0.05$ ).

Przy niskim stężeniu KK-MCHŚ synereza była niższa niż w jogurcie kontrolnym, a wraz ze wzrostem stężenia polisacharydów wzrosła do około 11%. W porównaniu z jogurtami, w których zastosowano dodatek samego KK uzyskano znaczne zmniejszenie synerezy, jednak wyciek serwatki był nadal bardzo duży. Inni autorzy zaobserwowali występowanie efektu synergistycznego pomiędzy  $\kappa$ -karagenem a mączką chleba świętojańskiego, który uwidoczniał się zmianą tekstury żelu z łamliwej na elastyczną oraz zmniejszeniem synerezy [8].

Dodatek mieszaniny GK-GG w ilości powyżej 0,01% powodował zmniejszenie synerezy poniżej wartości uzyskanej w przypadku jogurtu kontrolnego. Po zastosowaniu mieszaniny GK-MCHŚ synereza malała wraz ze wzrostem stężenia mieszaniny hydrokoloidów (tab. 4). Mieszanki tych polisacharydów od dawna wykorzystywane są w produkcji żywności ze względu na występowanie pomiędzy nimi synergistycznych interakcji. Guma ksantanowa tworzy termoodwracalne i elastyczne żele po połączeniu jej z galaktomannanami, takimi jak mączka chleba świętojańskiego, natomiast

z gumą guar nie tworzy twardych żeli, ale bardzo lepkie roztwory [3]. Podobna zależność miała miejsce w przypadku jogurtu otrzymanego z dodatkiem samej GK (tab. 2).

Tabela 4

Wielkość synerезy jogurtów otrzymanych z dodatkiem mieszanin różnych polisacharydów.  
The quantity of syneresis of set type yoghurt obtained with different mixed polysaccharide system.

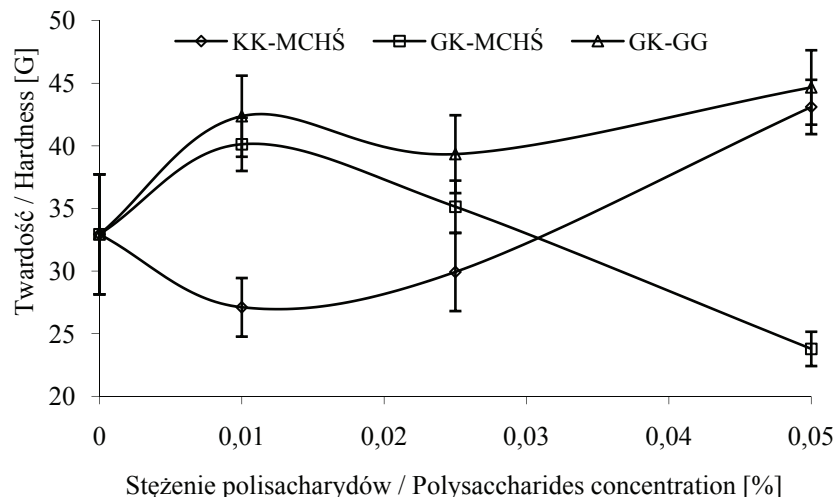
Rodzaj polisacharydu Type of polysaccharide	Synerезa Syneresis [%]
Próba kontrolna Control sample	2,12 <sup>c</sup> ±0,39
Stężenie mieszaniny polisacharydów 0,01% / Polysaccharide mixture concentration 0,01%	
KK-MCHŚ	0,46 <sup>ab</sup> ±0,20
GK-MCHŚ	1,88 <sup>bc</sup> ±0,13
GK-GG	2,23 <sup>c</sup> ±0,07
Stężenie mieszaniny polisacharydów 0,025% / Polysaccharide mixture concentration 0,025%	
KK-MCHŚ	5,43 <sup>d</sup> ±2,62
GK-MCHŚ	1,11 <sup>abc</sup> ±0,27
GK-GG	1,98 <sup>c</sup> ±0,13
Stężenie mieszaniny polisacharydów 0,05% / Polysaccharide mixture concentration 0,05%	
KK-MCHŚ	11,33 <sup>e</sup> ±1,19
GK-MCHŚ	0 <sup>a</sup>
GK-GG	1,99 <sup>c</sup> ±0,25

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a-c – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne (p<0,05),

a-c – the differences among mean values denoted using different letters are statistically significant (p<0.05).

W przypadku jogurtu wzbogaconego mieszaniną KK-MCHŚ nastąpił wzrost twardości wraz ze zwiększeniem stężenia polisacharydów, podobnie zachowywały się jogurty otrzymane z dodatkiem mieszaniny GK-GG (rys. 2). Twardość jogurtów zawierających mieszaninę GK-MCHŚ przy stężeniu polisacharydu 0,01% była najwyższa, później twardość malała wraz ze wzrostem stężenia mieszaniny polisacharydów. Otrzymane wyniki wskazują na to, że poszczególne polisacharydy wykazują odmienne działanie, gdy stosowane są pojedynczo niż w mieszaninie. Zastosowanie tylko jednego stabilizatora nie zawsze jest korzystne. Poprzez równoczesne stosowanie kilku hydrokoloidów można, wykorzystując ich właściwości synergistyczne, uzyskać produkt o żądanych cechach jakościowych i obniżyć łączną ilość stabilizatorów.



Rys. 2. Wpływ stężenia mieszanki polisacharydów na twardość jogurtów otrzymanych metodą termostatową.

Fig. 2. The effect of mixed polysaccharide system concentration on hardness of set type of yoghurt.

### Wnioski

1. Zastosowanie karagenu w stężeniu powyżej 0,01% powodowało powstanie twardego i zwartej skrzepu jogurtowego, wydzielającego duże ilości serwatki.
2. Spośród badanych pojedynczych polisacharydów, jogurty o najlepszych właściwościach reologicznych i najmniejszym wycieku serwatki otrzymano po dodaniu gumy ksantanowej.
3. Zastosowanie mieszanin karagenu z mączką chleba świętojańskiego i gumy ksantanowej z galaktomannanami wpłynęło na ograniczenie wielkości synerazy w jogurtach otrzymywanych metodą termostatową w porównaniu z jogurtami, w których zastosowano pojedyncze hydrokoloidy.
4. Wśród zastosowanych mieszanin polisacharydów, połączenia gumy ksantanowej z gumą guar spowodowały najwyższy wzrost twardości jogurtów otrzymywanych metodą termostatową.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*


### Literatura

- [1] El Sayed, E. M., Abd El Gawad, I. A., Murad, H. A., Salah, S. H.: Utilization of laboratory-produced xanthan gum in the manufacture of yogurt and soy yogurt. *Eur. Food Res. Tech.*, 2002, **215**, 298–304.
- [2] Everett D, McLeod R.: Interactions of polysaccharide stabilisers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. *Int. Dairy J.*, 2005, **15(11)**, 1175-1183.
- [3] Gustaw W., Achremowicz B., Mleko S.: Wpływ NaCl na właściwości reologiczne wybranych hydrokolidów i ich mieszanin. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1999, **1 (18)**, 38-48.
- [4] Gustaw, W., Mleko, S.: The effect of pH and carrageenan concentration on the rheological properties of whey protein gels. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **4**, 39-44.
- [5] Kalab M., Allan-Wojtas P., Phipps-Todd B.E.: Development of microstructure in set-style nonfat yoghurt – A review. *Food Microstructure*, 1983, **2**, 51-66.
- [6] Kumar P., Mishra H.N.: Mango soy fortified set yoghurt: effect of stabilizer addition on physico-chemical, sensory and textural properties. *Food Chem.*, 2004, **87**, 501–507.
- [7] Mckinley M.: The nutrition and health benefits of yoghurt. *Inter. J. Dairy Technol.*, 2005, **1 (58)**, 1-12.
- [8] Noronha R.L., Damasko M.H., Pivatto M.M., Negrillo B.G.: Development of the attributes and for texture descriptive analysis of milk gels aided by multivariate statistical procedures. *Food Quality and Preference*, 1995, **6**, 49-54.
- [9] Sanchez, C., Zuiga-Lopez, R., Schmitt, C., Despond, S., Hardy, J.: Microstructure of acid-induced skim milk-locust bean gum-xanthan gels. *Int. Dairy J.*, 2000, **10**, 199-212.
- [10] Snoeren T.H.M.: Kappa-carrageenan. A study on its physicochemical properties, sol-gel transition and interaction with milk proteins. *Thisis. Nederlands Instituut voor Zuivelonderzoek, Eds. The Netherlands* 1972.
- [11] Unal B., Metin S, Isikli N.: Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yoghurt. *Int. Dairy J.*, 2003, **13**, 909–916.

### THE EFFECT OF HYDROCOLLOIDS ADDITION ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF SET YOGHURT

#### S u m m a r y

The purpose of this study was to examine the effect of addition of different hydrocolloids' mixtures on rheological properties and syneresis extent of set yoghurts. The hardness and syneresis values of set yoghurts without polysaccharide addition were >33 G and 2% respectively. The yoghurts with guar gum (GG) and xanthan gum (GK) addition exhibited the slight increase in hardness values with the increase of the polysaccharide concentration added. In the case of xanthan gum (GK), the increase of polysaccharide concentration decreased the level of syneresis. The addition of xanthan gum-guar gum (GK-GG) mixture, higher than 0,01% caused the decrease of syneresis to the values which were lower than those recorded for the control yoghurt sample. Among the individual polysaccharides, the yoghurts with the best rheological properties and the lowest syneresis were obtained with the addition of xanthan gum.

**Key words:** yoghurt, carrageenan, galactomannans, xanthan gum, syneresis, hardness 

MACIEJ NASTAJ, WALDEMAR GUSTAW, BARTOSZ SOŁOWIEJ

## WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE DESERÓW OTRZYMANÝCH Z BIAŁEK SERWATKOWYCH Z DODATKIEM RÓŻNYCH SUBSTANCJI SŁODZĄCYCH

### Streszczenie

Celem pracy było porównanie wpływu substancji słodzących, takich jak: sacharoza, ksylitol, aspartam i acesulfam-K na właściwości reologiczne deserów mlecznych oraz deserów otrzymanych z izolatu białek serwatkowych (WPI). Badano właściwości reologiczne deserów za pomocą reometru dynamicznego podczas ogrzewania do temp. 85°C, a następnie chłodzenia do 20°C i teksturę żeli przechowywanych przez 24 h za pomocą analizatora tekstury TA-XT2i. Najtwardsze desery otrzymano z białek serwatkowych słodzonych sacharozą. Ich twardość wynosiła 212 g. Zastąpienie sacharozy przez inną substancję słodzącą powodowało pogorszenie właściwości reologicznych badanych deserów otrzymanych z izolatu białek serwatkowych. W przypadku deserów otrzymanych z odtłuszczonego mleka w proszku (OMP), nie stwierdzono wyraźnego wpływu stosowanego środka słodzącego na teksturę deserów mlecznych.

**Słowa kluczowe:** WPI, tekstura, reologia oscylacyjna, karagen, skrobia, substancje słodzące

### Wprowadzenie

Desery mleczne, to produkty które w znacznym stopniu poszerzyły rynek wyrobów mleczarskich w produkty wartościowe pod względem odżywczym i o atrakcyjnej dla konsumentów teksturze. Desery mleczne produkowane są głównie ze skrobi, hydrokolidów, cukrów, barwników i aromatów [12]. Odpowiednie właściwości reologiczne deserów mlecznych uzyskuje się przez dodatek środków żelujących lub stabilizujących. Najczęściej stosuje się do tego celu: skrobię ziemniaczaną natywną, skrobie modyfikowane, karageny, gumy, pektynę i żelatynę. Często w celu otrzymania właściwej tekstury używa się odpowiednio skomponowane mieszaniny wymienionych substancji. Jednymi z częściej stosowanych są mieszaniny skrobi z karagenem [7].

Karageny są substancjami naturalnymi otrzymywanymi z czerwonych wodorostów morskich (*Rhodophyceae*). Zbudowane są z cząsteczek D-galaktozy i 3,6-anhydro-

---

*Mgr inż. M. Nastaj, dr inż. W. Gustaw, dr inż. B. Sołowiej, Katedra Biotechnologii, Żywności Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Akademia Rolnicza, ul. Skromna 8, 20-950 Lublin*

D-galaktozy, połączonych wiązaniami  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)- lub  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)- glikozydowymi. Do najczęściej stosowanych frakcji karagenu zaliczane są  $\kappa$ -,  $\iota$ - i  $\lambda$ - karagen. Poszczególne frakcje karagenu różnią się budową strukturalną, a szczególnie zawartością jonów siarczanowych i cząsteczek 3,6-anhydrogalaktozy.  $\kappa$ -Karagen tworzy mocne i kruche żele,  $\iota$ -karagen daje delikatne i elastyczne żele, natomiast  $\lambda$ -karagen tworzy płynne i lepkie roztwory, gdyż nie ma w swojej budowie cukru 3,6-anhydro-D-galaktozy [3].

Izolaty (WPI) i koncentraty (WPC) białek serwatkowych są używane jako składniki żywności ze względu na wysoką wartość odżywczą i unikalne właściwości funkcjonalne. W ostatnich latach podjęto próby zastąpienia kazeiny przez białka serwatkowe w produkcji deserów mlecznych. Otrzymane desery charakteryzowały się lepszymi właściwościami reologicznymi w porównaniu z deserami ze wszystkich białek mleka [4, 7, 9].

Celem pracy było porównanie wpływu substancji słodzących, takich jak: sacharoza, ksylitol, aspartam i acesulfam-K na właściwości reologiczne deserów mlecznych oraz deserów otrzymanych z izolatu białek serwatkowych (WPI).

### **Material i metody badań**

Do badań użyto: izolatu białek serwatkowych (WPI) o zawartości białka 91,87% (Davisco); odtłuszczonego mleka w proszku o zawartości białka 34% wyprodukowanego przez Spółdzielnię Mleczarską w Gostyniu; karagenu (Sigma, USA); skrobi modyfikowanej (E-1422) z kukurydzy o dojrzałości woskowej (National Starch & Chemical, Niemcy); sacharozy spożywczej; ksylitolu (Danisco Sweeteners, Dania); acesulfamu K i aspartamu (Hortimex, Konin).

Desery sporządzano w 0,1M NaCl, przez połączenie WPI lub odtłuszczonego mleka w proszku (OMP) w ilości 4% białka, skrobi modyfikowanej w ilości 2% i karagenu (0,3%). Sacharozę i ksylitol dodawano w ilości 20%, a aspartam i acesulfam-K w ilości 0,1%. Po połączeniu wszystkich składników desery ogrzewano w temp. 85°C przez 20 min, a następnie chłodzono i przechowywano przez 24 h w temp. ok. 4°C.

Właściwości reologiczne otrzymanych deserów badano przy użyciu reometru oscylacyjnego RS 300 (ThermoHaake, Niemcy) podczas ogrzewania od 50 do 85°C, a następnie chłodzenia do 20°C. Pomiar prowadzono w układzie cylindrów współosiowych Z41, przy częstotliwości 0,1 Hz i odkształceniu 0,01.

Wyznaczano spektra mechaniczne zżelowanych deserów mlecznych w temp. 20°C, w zakresie częstotliwości drgań od 0,1 do 10Hz.

Twardość otrzymanych deserów mlecznych badano przy użyciu analizatora tekstury TA-XT2i (Stable Micro Systems, UK). Desery penetrowano próbnikiem cylindrycznym o średnicy 10 mm przy prędkości przesuwu głowicy 1 mm/s. Desery przygotowano w 3 powtórzeniach po sześć próbek.



## Wyniki i dyskusja

W tab. 1. zestawiono wyniki twardości deserów mlecznych otrzymanych z odłuszczonego mleka w proszku (OMP) lub izolatu białek serwatkowych (WPI) i różnych substancji słodzących.

Tabela 1

Twardość deserów mlecznych otrzymanych z białka (4%), skrobi (2%) i karagenu (0,3%) w zależności od rodzaju dodanego czynnika słodzącego.

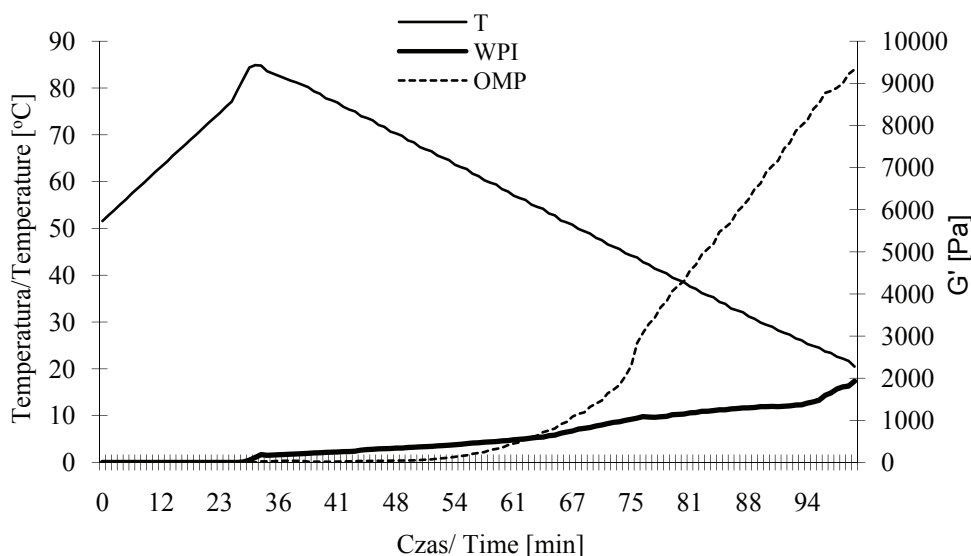
The hardness values of milk desserts obtained from protein (4%), starch (2%) and carrageenan (0,3%) with different type of the sweetener added.

Substancja słodząca / Sweetener	Hardness / Twardość [g]	
	WPI	OMP
Sacharoza / Sucrose	212,52 ± 16,94	77,45 ± 6,45
Ksylitom / Xylitol	56,02 ± 3,82	93,72 ± 6,53
Aspartam / Aspartame	146,44 ± 4,44	64,44 ± 2,06
Acesulfam-K	70,95 ± 3,02	71,71 ± 1,88

Najtwardsze desery otrzymano z białek serwatkowych słodzonych sacharozą, których twardość wynosiła 212,52 g. Otrzymane wyniki są zgodne z wcześniejszymi badaniami Mleko [9], który otrzymał desery mleczne na bazie WPI o lepszych właściwościach reologicznych niż desery z OMP. Wyższa twardość żeli deserów otrzymanych z białek serwatkowych wynikała z interakcji pomiędzy tymi białkami a karagenem [7]. Mleko i wsp. [8] sugerowali, że interakcje pomiędzy tymi dwoma hydrokoloidami miały miejsce podczas ogrzewania w temp. powyżej 60°C, natomiast między karagenem a kazeiną w temp. pokojowej. Inni badacze sugerują, że polepszenie właściwości reologicznych żeli białek serwatkowych z dodatkiem karagenu spowodowane było wystąpieniem fazy separacji pomiędzy tymi biopolimerami [2, 11, 14]. Stężenie sacharozy dodanej do deserów mlecznych również miało wpływ na ich właściwości reologiczne. Twardość deserów wzrastała wraz ze wzrostem stężenia sacharozy [6].

Zamiana środka słodzącego powodowała spadek twardości deserów otrzymanych na bazie WPI. Desery o teksturze porównywalnej do słodzonych sacharozą otrzymano tylko z dodatkiem aspartamu, ale w tym przypadku twardość wynosiła 146 g. Natomiast wśród deserów otrzymanych z OMP najtwardszy był deser słodzony ksylitolem, a twardość pozostałych deserów mlecznych wynosiła około 70 g. Rodzaj zastosowanego środka słodzącego miał niewielki wpływ na twardość deserów mlecznych (OMP).

Właściwości reologiczne deserów mlecznych badano również za pomocą reologii małych odkształceń, która nie powodowała zniszczenia struktury powstałego żelu. Przy wykorzystaniu tej metody wyznaczano temperaturę żelowania ( $T_z$ ) białek serwatkowych podczas ogrzewania. W przypadku deserów sporządzonych z WPI z dodatkiem sacharozy,  $T_z$  białek serwatkowych wynosiła 83°C. Zastąpienie sacharozy sztucznymi substancjami słodzącymi (aspartamem, acesulfamem) wpłynęło na wzrost wartości  $T_z$  do 84°C, a w przypadku deserów słodzonych ksylitolem zaobserwowano żelowanie białek serwatkowych w temp. 82°C. Wcześniejsze badania procesu żelowania białek serwatkowych za pomocą reometru dynamicznego wykazały, że ich temperatura żelowania  $T_z$  zależała od pH i stężenia białka w roztworze [10]. Wzrost  $T_z$  białek serwatkowych w przypadku deserów z dodatkiem sztucznych substancji słodzących spowodowany był prawdopodobnie mniejszą zawartością suchej masy w tych deserach, w porównaniu z deserami słodzonymi sacharozą. Natomiast obecność polialkoholi, jak np. ksylitolu, powoduje spadek  $T_z$  białek serwatkowych [1].

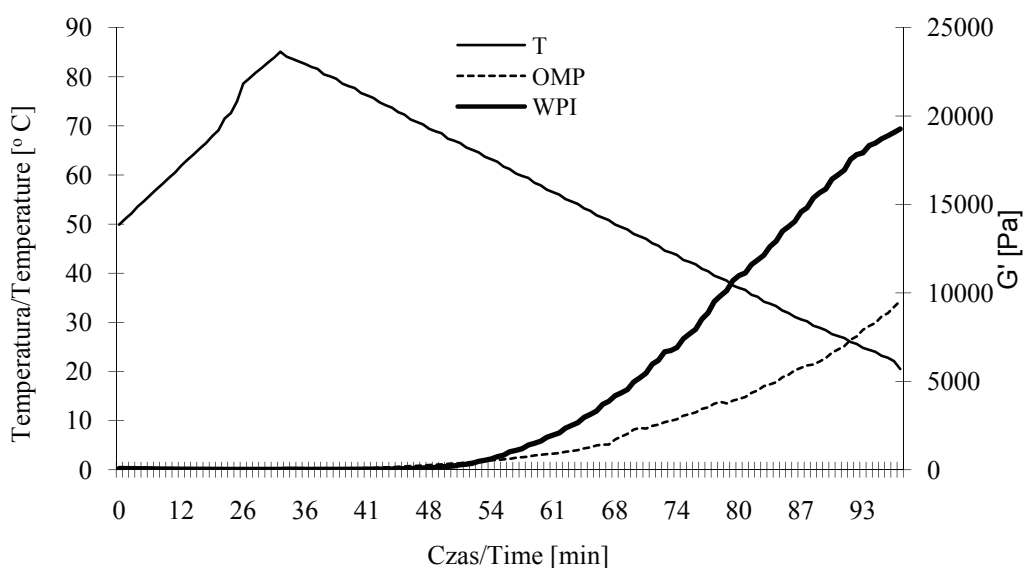


Rys. 1. Wpływ źródła białka na właściwości reologiczne deserów otrzymanych z dodatkiem acesulfamu K.

Fig. 1. The effect protein source on the rheological properties of milk desserts with the addition of acesulfam K.

Przebieg krzywych zmiany wartości modułu stratności  $G'$  podczas ogrzewania do temp. 85°C, a następnie chłodzenia do 20°C, deserów słodzonych acesulfamem K przedstawiono na rys. 1. Deser otrzymany z WPI wykazywał powolny wzrost wartości  $G'$  podczas chłodzenia, natomiast w przypadku deseru OMP zaobserwowano gwałtowny wzrost wartości  $G'$  w temp. około 50°C. Wyraźny wzrost  $G'$  spowodowany był

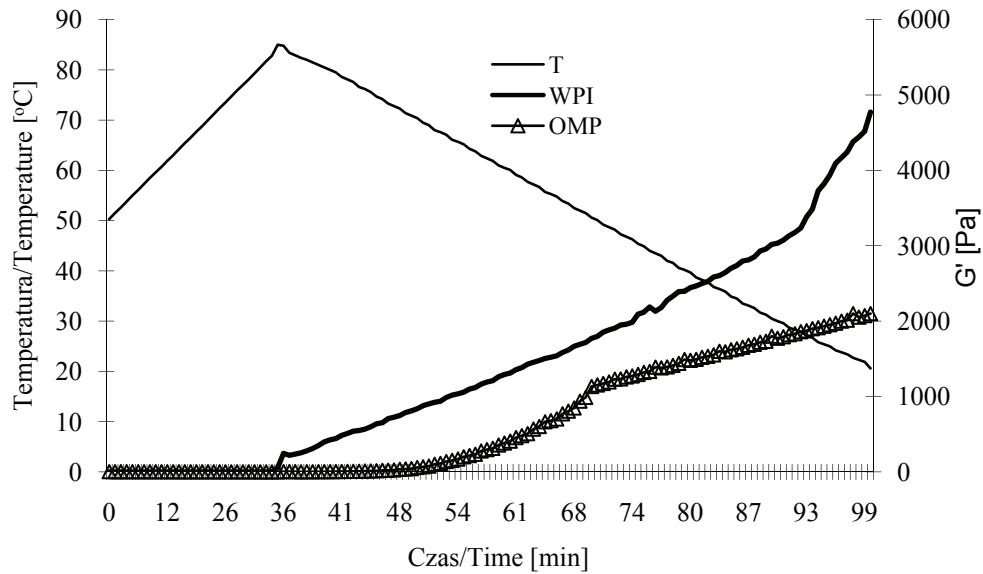
najprawdopodobniej żelowaniem karagenu i jego interakcjami z kazeiną. Podobne wyniki uzyskał Mleko [9], badając właściwości reologiczne deserów otrzymanych z mleka w proszku i karagenu. Verbaken i wsp. [15] stwierdzili synergistyczne interakcje pomiędzy karagenem a kazeiną w deserach mlecznych. Specyficzne interakcje pomiędzy karagenem i kazeiną mogą występować nawet w pH powyżej pI (punktu izoelektrycznego) kazeiny. Jest to spowodowane tym, że w cząsteczce  $\kappa$ -kazeiny znajduje się region wykazujący w tym pH dodatni ładunek, który może oddziaływać z ujemnie naładowanymi cząsteczkami karagenu [5].



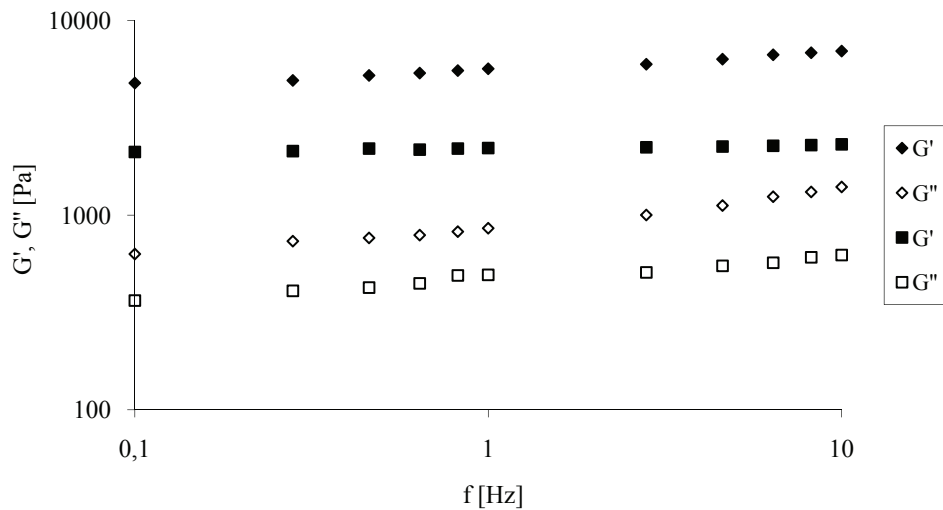
Rys. 2. Wpływ źródła białka na właściwości reologiczne deserów otrzymanych z dodatkiem aspartamu.  
 Fig. 2. The effect of protein source in the rheological properties of milk desserts with the addition of aspartame.

W przypadku deserów słodzonych aspartamem (rys. 2), oba zachowywały się podobnie, tzn. wartość  $G'$  podczas chłodzenia wzrastała równomiernie, nie wykazując znacznych skoków. Deser otrzymany z WPI miał wyższą wartość  $G'$  w porównaniu z deserami z OMP podczas ich chłodzenia.

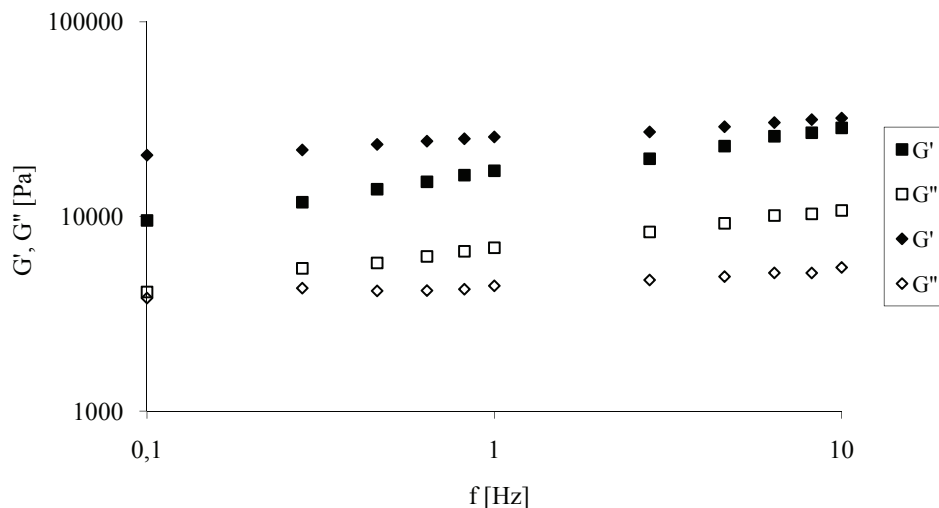
Podobny przebieg krzywych  $G'$  uzyskano w przypadku deserów słodzonych sacharozą, z tą różnicą, że w przypadku obu deserów podczas chłodzenia stwierdzono wyraźny wzrost wartości  $G'$  spowodowany żelowaniem karagenu (rys. 3). W przypadku deserów z OMP karagen żelował w temp. około  $51^{\circ}\text{C}$ , a w deserach z WPI w temp. poniżej  $30^{\circ}\text{C}$ . Wyniki te są zgodne z wcześniejszymi badaniami reologicznymi dotyczącymi deserów mlecznych [7, 9].



Rys. 3. Wpływ źródła białka na właściwości reologiczne deserów otrzymanych z dodatkiem sacharozы.  
 Fig. 3. The effect of protein source on the rheological properties of milk desserts with the addition of saccharose.



Rys. 4. Wpływ częstotliwości drgań na wartości modułu zachowawczego ( $G'$ ) i stratności ( $G''$ ) deserów otrzymanych z WPI ( $\diamond$ ) i OMP ( $\square$ ) z dodatkiem sacharozы w temp. 25°C.  
 Fig. 4. The effect of oscillation frequency on the storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) modulus values of the milk desserts obtained from WPI ( $\diamond$ ) and OMP ( $\square$ ) with the saccharose addition in the temperature 25°C.



Rys. 5. Wpływ częstotliwości drgań na wartości modułu zachowawczego ( $G'$ ) i stratności ( $G''$ ) deserów otrzymanych z WPI ( $\diamond$ ) i OMP ( $\square$ ) z dodatkiem aspartamu w temp. 25°C.

Fig. 5. The effect of oscillation frequency on the storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) modulus values of the milk desserts obtained from WPI ( $\diamond$ ) and OMP ( $\square$ ) with the aspartame addition in the temperature 25°C.

Właściwości mechaniczne żeli deserów mlecznych otrzymanych po ich ochłodzeniu do temp. 25°C zbadano przy zmiennej częstotliwości drgań w zakresie 0,1-10 Hz (rys. 4). Desery mleczne otrzymane z WPI i OMP z dodatkiem sacharozy po ochłodzeniu tworzyły żel, o czym świadczy wyraźna różnica pomiędzy wartościami  $G'$  i  $G''$  w całym zakresie częstotliwości drgań [13]. Żel otrzymany z WPI był wyraźnie mocniejszy od żelu z OMP. Żele otrzymane z dodatkiem aspartamu były dużo słabsze w porównaniu z żelami deserów słodzonych sacharozą (rys. 5). Jednak i w przypadku tych żeli wyższa energia drgań związanych z wyższą częstotliwością nie powodowała spadku wartości  $G'$ , co miałyby miejsce, gdyby następowało zniszczenie matrycy żelu.

Podsumowując otrzymane wyniki można stwierdzić, że zastąpienie sacharozy przez inną substancję słodzącą ogólnie powodowało pogorszenie właściwości reologicznych badanych deserów otrzymanych z izolatu białek serwatkowych. Najbardziej zbliżonymi właściwościami do deserów słodzonych sacharozą były te z dodatkiem aspartamu, natomiast tekstura deserów otrzymanych z ksylitolem, była bardzo niezadowolająca. Odwrotnie zachowywały się desery otrzymane z OMP, nie zauważono dużego wpływu stosowanego środka słodzącego na teksturę deserów mlecznych.

## Wnioski

1. Rodzaj zastosowanego środka słodzącego miał duży wpływ na teksturę deserów otrzymanych z WPI, natomiast w przypadku deserów z OMP wpływ ten był niewielki.
2. Najlepszymi właściwościami reologicznymi (twardością i wartością modułu zachowawczego) charakteryzowały się desery WPI słodzone sacharozą.
3. Alternatywą dla deserów WPI słodzonych sacharozą, mogą być desery słodzone aspartemem, który w najmniej niekorzystny sposób w porównaniu z pozostałymi środkami słodzącymi pogarszał właściwości reologiczne deserów mlecznych.
4. Ksylitol nie powinien być wykorzystywany jako substancja słodząca do deserów sporządzonych z WPI, ale może być stosowany w celu otrzymania półpłynnych deserów na bazie wszystkich białek mleka.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

## Literatura

- [1] Gustaw W., Glibowski P.: Effect of polyols content on rheological properties of whey protein gels. *Pol. J. Nat. Sci*, 2004, Supp., **2**, 55-60.
- [2] Gustaw W., Mleko S.: The effect of pH and carrageenan concentration on the rheological properties of whey protein gels., 2003, 4, *Pol. J. Nat. Sci*, 2003, **4**, 39-44.
- [3] Gustaw W., Mleko S.: Właściwości funkcjonalne i zastosowanie karagenów w mleczarstwie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1997, **1 (14)**, 71-80.
- [4] Gustaw W., Sołowiej B., Mleko S.: Otrzymywanie deserów mlecznych z białek serwatkowych z dodatkiem skrobi i karagenu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4 (43) Supl.**, 100-109.
- [5] Imeson A.: *Thickening and gelling agents for food*. Blackie Academic and Professional. Glasgow 1992.
- [6] Lethuaut L., Brossard Ch., Rousseau F., Bousseau B., Genot C.: Sweetness–texture interactions in model dairy desserts: effect of sucrose concentration and the carrageenan type. *Int. Dairy J.*, 2003, **13**, 631–641.
- [7] Mleko S., Gustaw W.: Rheological changes due to substitution of total milk proteins by whey proteins in dairy desserts. *J. Food Sci. Technol.*, 2002, **39 (2)**, 170-172.
- [8] Mleko S., Li-Chen E., Pikus S.: Interactions of  $\kappa$ -carrageenan with whey proteins in gels formed at different pH. *Food Res. Int.*, 1997, **30 (6)**, 427-433.
- [9] Mleko S.: Rheological properties of milk and whey protein desserts. *Milchwissenschaft*, 1997, 52(5), 262-265.
- [10] Mleko S.: Wyznaczanie temperatury żelowania białek serwatkowych przy użyciu reometrii rotacyjnej i oscylacyjnej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **2 (19)**, 83-89.
- [11] Ould Eleya M., Turgeon S.: Rheology of  $\kappa$ -carrageenan and  $\beta$ -lactoglobulin mixed gels. *Food Hydrocoll.*, 2000, **14**, 29-40.
- [12] Tarrega A., Duran L., Costell E.: Flow behaviour of semi-solid dairy desserts. Effect of temperature. *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 345-353.

- [13] Tarrega A., Duran L., Costell E.: Rheological characterization of semisolid dairy desserts. Effect of temperature. *Food Hydrocoll.*, 2005, **19**, 133-139.
- [14] Turgeon S.L, Beaulieu M.: Improvement and modification of whey protein gels texture using polysaccharides. *Food Hydrocoll.*, 2001, **15**, 583-591.
- [15] Verbeken D., Bael K., Thas O., Dewettinck K.: Interactions between  $\kappa$ -carrageenan, milk proteins and modified starch in sterilized dairy desserts. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 482-488.

### THE RHEOLOGICAL PROPERTIES OF MILK DESSERTS OBTAINED FROM THE WHEY PROTEINS WITH THE ADDITION OF DIFFERENT SWEETENERS

#### S u m m a r y

The purpose of this study was to examine the effect of different sweeteners such as: saccharose, xylitol, aspartame and acesulfame on rheological properties of milk desserts obtained with the addition of whey protein isolate (WPI). The rheological properties of milk desserts were examined using a Haake RS 300 rheometer in the temperature range from 85 to 20°C. The dessert texture was determined by TA-XT2i texture analyser. The hardest desserts were obtained from WPI with the saccharose addition. Their hardness was 212 g. The substitution of saccharose by other sweeteners caused general decline of rheological properties of the WPI desserts being examined. In the case of the desserts obtained with the skimmed milk powder, no significant effect of any sweetener applied on the dessert texture was observed.

**Key words:** WPI, texture, oscillatory rheology, carrageenan, starch, sweeteners ☒

BARTOSZ SOŁOWIEJ

## ANALIZA TEKSTURY ANALOGÓW SERÓW TOPIONYCH Z DODATKIEM PREPARATÓW SERWATKOWYCH

### Streszczenie

Celem niniejszej pracy było otrzymanie i analiza tekstury analogów serów topionych, w których zastąpiono częściowo kazeinę kwasową przez sproszkowane preparaty serwatkowe o różnym stężeniu białka. Właściwości teksturalne otrzymanych analogów serów topionych badano przy użyciu analizatora tekstury TA-XT2i. Analogi badano próbnikiem cylindrycznym o średnicy 15 mm przy prędkości przesuwu 1 mm/s w stałej temperaturze (21°C). Pomiary lepkości analogów wykonywano za pomocą reometru rotacyjnego Brookfield DV II+ przy użyciu przystawki Helipath (F). Dodatek wszystkich preparatów serwatkowych powodował wzrost twardości analogów serów topionych w porównaniu do analogów otrzymanych wyłącznie na bazie kazeiny kwasowej. Przylegalność, spójność i żujność analogów serów topionych zwiększała się w miarę wzrostu stężenia serwatki o obniżonej zawartości laktozy (SOZL) i serwatki zdemineralizowanej (S D50). Wzrost stężenia białka w serze spowodowany dodatkiem preparatów serwatkowych powodował wzrost lepkości analogów serów topionych z dodatkiem serwatki zdemineralizowanej (SD 50), natomiast spadek lepkości analogów z dodatkiem serwatki o obniżonej zawartości laktozy (SOZL) i serwatki słodkiej (SS). W przypadku analogów serów topionych otrzymywanych na bazie kazeiny, badane preparaty serwatkowe mogą spowodować znaczne oszczędności poprzez zmniejszenie ilości kazeiny w produkcie, przy lepszych właściwościach teksturalnych.

**Słowa kluczowe:** sery topione, analogi serów topionych, kazeina kwasowa, preparaty serwatkowe, tekstura, lepkość

### Wprowadzenie

Powodem rozwoju produkcji serów topionych jest ich wysoka wartość odżywcza, wyższa strawność i przyswajalność, w porównaniu z serami dojrzewającymi, oraz znaczna trwałość. Sprzedaż serów topionych w Polsce w okresie od czerwca 2003 do maja 2004 wyniosła 25,3 tys. t, z tego około 42% stanowiły sery topione w bloczkach i kostkach. Produkcja krajowa serów topionych wykazuje tendencję wzrostową o około 8% rocznie [7]. Sery topione należą do grupy produktów mleczarskich, w których sub-



stytucja jednego lub kilku składników mleka nie powoduje technicznych ani technologicznych problemów [4]. W produkcji serów topionych i innych produktów mleczarskich białka serwatkowe pozwalają skutecznie zastąpić tłuszcz, składniki beztłuszczowe mleka czy dodatek sera [11, 13, 18].

Sery topione otrzymywane są poprzez zmieszanie ze sobą naturalnych serów, soli i wody z pomocą ogrzewania i środków emulgujących, natomiast analogi serów topionych otrzymywane są poprzez częściowe lub całkowite zastąpienie naturalnych serów przez białka mleka lub inne białka [10]. Analogi serów topionych produkuje się głównie na bazie kazeiny podpuszczkowej [16], ale również zaczęto stosować do produkcji analogów kazeinę kwasową [6, 19].

Celem niniejszej pracy było otrzymanie i analiza tekstury analogów serów topionych, w których zastąpiono częściowo kazeinę kwasową przez sproszkowane preparaty serwatkowe o różnym stężeniu białka.

### **Material i metody badań**

Do badań użyto sproszkowanej serwatki zdemineralizowanej w 50% (SD 50) produkcji Lacma sp. z o. o. w Nadarzynie o zawartości białka 12,75%, sproszkowanej serwatki słodkiej (SS) produkcji Laktopol sp. z o. o. w Warszawie o zawartości białka 11,92%, sproszkowanej serwatki o obniżonej zawartości laktozy (SOZL) produkcji DAVISCO Foods International (Le Sueur, MN, USA) o zawartości białka 22,18%, kazeiny kwasowej (KK) produkcji ZPK w Murowanej Goślinie, bezwodnego tłuszczu mlecznego produkcji SM Mlekovita w Wysokiem Mazowieckiem, bezwodnego kwasnego fosforanu disodowego i kwasu cytrynowego produkcji P.P.H. POCH w Gliwicach. Zawartość białka oznaczano metodą Kjeldahla [1].

### **Proces produkcji analogu sera topionego**

Sporządzono roztwory białek serwatkowych (SS, SD 50, SOZL) w wodzie destylowanej przez jednogodzinne mieszanie w temperaturze pokojowej przy użyciu mieszadła magnetycznego Heidolph MR 3002S (Schwabach, Niemcy). Roztwory te miały takie stężenie, by otrzymany analog sera zawierał odpowiednio 1, 2 lub 3% białek serwatkowych. Następnie dodano roztopiony w temp. 45°C bezwodny tłuszcz mleczny (30%) i kazeinę (10% - stała wartość stężenia do każdego rodzaju wytwarzanego analogu sera). Całą mieszaninę umieszczono w pojemniku homogenizatora (H 500 Pol-Eko Aparatura, Polska). Mieszano przez 2 min przy 10000 obr./min. Następnie dodano roztworu topnika (2%), ustalono pH na poziomie 6,2 za pomocą kwasu cytrynowego przy użyciu pH-metru CP-315 firmy Elmetron i zanurzono w łaźni wodnej o temp. 80°C. Całość homogenizowano przez 10 min przy 10000 obr./min. Gotowy analog sera topionego wylewano do zlewki w ilości 40 ml. Produkt przechowywano w temp. pokojowej przez 30 min celem ostygnięcia, a następnie magazynowano przez 21 godz.

W temp. 5°C. Jako wzorca użyto analogów serów topionych, do produkcji których wykorzystano te same surowce (30% bezwodnego tłuszczu mlecznego, 10% kazeiny, 2% topnika, kwas cytrynowy i wodę), z tym że zamiast preparatów serwatkowych dodano 1, 2 i 3% kazeiny. Proces produkcji analogów wzorcowych przebiegał tak samo jak analogów z dodatkiem preparatów serwatkowych.

### **Analiza profilowa tekstury (TPA)**

Pomiary wykonywano za pomocą teksturometru TA-XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Wielka Brytania). Próbki sera badano za pomocą próbnika cylindrycznego o śr. 15 mm, przy prędkości przesuwu głowicy 1 mm/s. Uzyskane wyniki rejestrowano w programie Texture Expert version 1.22. W profilowej analizie tekstury (TPA) określano: twardość, przylegalność, spójność, sprężystość i żujność analogów serów topionych.

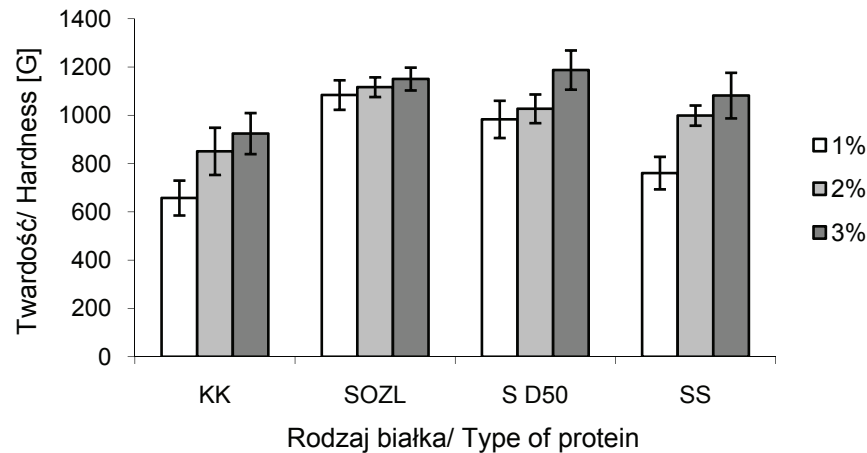
### **Reometria rotacyjna**

Pomiary wykonywano za pomocą reometru rotacyjnego Brookfield DV II+ (Stoughton, MA, USA) przy użyciu przystawki Helipath (F). Podczas pomiaru wrzeciono było zanurzone w badanej próbce. Pomiary wykonywano w stałej temp. 20°C i przy stałej prędkości wrzeciona  $V=10$  obr./min. Wyniki rejestrował komputer o oprogramowaniu Win Gather V1,0. W badaniach tych określano lepkość otrzymanych analogów serów topionych.

### **Wyniki i dyskusja**

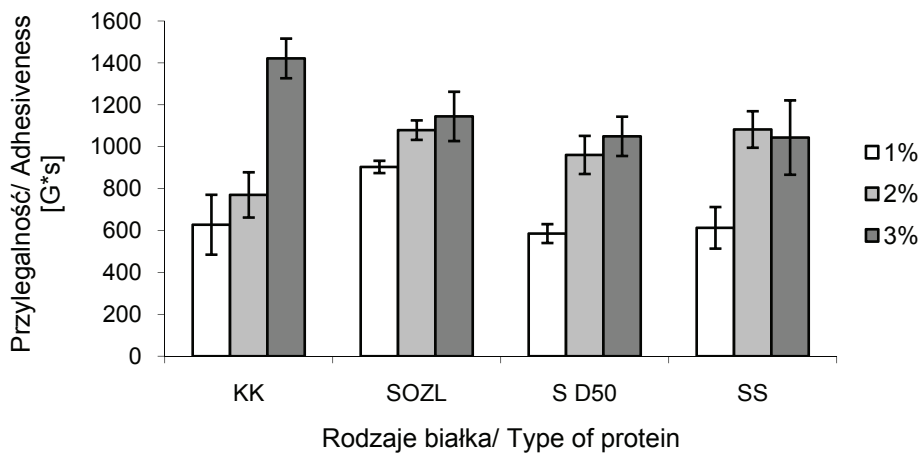
Na rys. 1. zobrazowano wpływ stężenia dodatku sproszkowanych preparatów serwatkowych (SS, SD 50, SOZL) na teksturę analogów serów topionych. W przypadku wszystkich analogów serów topionych nastąpił wzrost ich twardości wraz ze wzrostem stężenia białka w produkcji. Największą twardością charakteryzowały się analogi serów topionych otrzymane z 3% dodatkiem serwatki zdemineralizowanej (S D50 – 1187,4 G) oraz serwatki o zmniejszonej zawartości laktozy (SOZL – 1150,3 G). Najmniejszą twardością charakteryzowały się zaś analogi otrzymane z samej kazeiny kwasowej (KK).

Gupta i Reuter [8] wykazali, że wzrost twardości sera z dodatkiem preparatów serwatkowych może być spowodowany tworzeniem się kompleksów pomiędzy białkami serwatki a micelami, szczególnie pomiędzy  $\beta$ -laktoglobuliną a  $\kappa$ -kazeiną. Zastąpienie kazeiny polimerami białek serwatkowych również powodowało wzrost twardości analogów serów topionych [6, 16, 17].



Rys. 1. Wpływ stężenia i rodzaju sproszkowanych preparatów serwatkowych na twardość analogów serów topionych.

Fig. 1. The effect of different whey powders concentration on hardness of processed cheese analogs.



Rys. 2. Wpływ stężenia i rodzaju sproszkowanych preparatów serwatkowych na przylegalność analogów serów topionych.

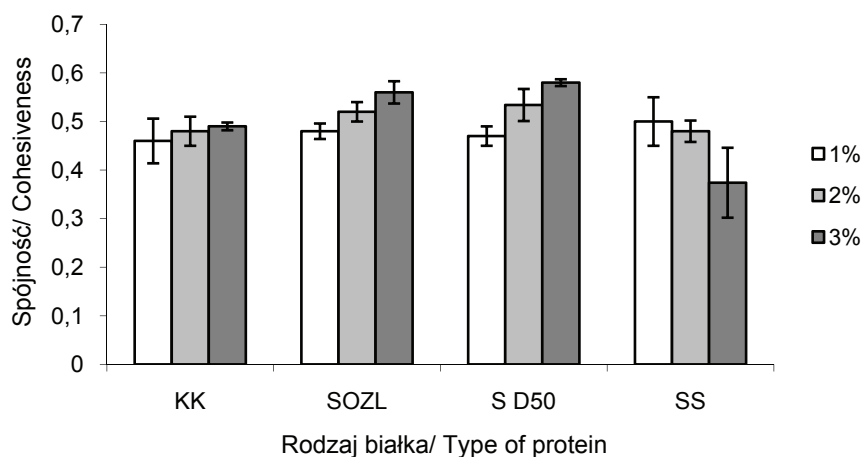
Fig. 2. The effect of different whey powders concentration on adhesiveness of processed cheese analogs.

Wysoka przylegalność serów i analogów serów topionych do opakowania jest jednym z parametrów ograniczających ich spożycie. Konsumenci nie preferują kupowania produktów, od których trudno oddziela się opakowanie. Przylegalność wszystkich analogów wzrastała w miarę wzrostu stężenia białka (rys. 2). Jedynie 3% dodatek

SS do analogów zmniejszał ich przylegalność, z uwagi na występowanie kruchości przy większych stężeniach białka. Największą przylegalnością charakteryzowały się analogi otrzymane z samej kazeiny kwasowej (KK – 1421,58 G·s), natomiast spośród analogów z dodatkiem preparatów serwatkowych największą przylegalność wykazywały analogi z dodatkiem SOZL (1144,8 G·s).

Thapa i Gupta [21] wykazali, że zastąpienie kazeiny przez białka serwatkowe powodowało istotny wzrost przylegalności [21], a Awad i wsp. [2] stwierdzili, że przylegalność serów wzrasta wraz ze zmniejszaniem zawartości tłuszczu w produkcie. Większa zawartość tłuszczu przyczyniła się do otrzymania analogów serów też bardziej miękkich, spójnych i przylegalnych w pracy Stampanoni i Noble [20].

Spójność analogów serów topionych zwiększała się nieznacznie w miarę wzrostu stężenia białka w próbkach. Natomiast spójność analogów z dodatkiem SS zmniejszała się (rys. 3). Największą spójnością charakteryzowały się próbki z 3% dodatkiem S D50 (0,58) i SOZL (0,56), natomiast najmniejszą z 3% dodatkiem SS (0,37).



Rys. 3. Wpływ stężenia i rodzaju sproszkowanych preparatów serwatkowych na spójność analogów serów topionych.

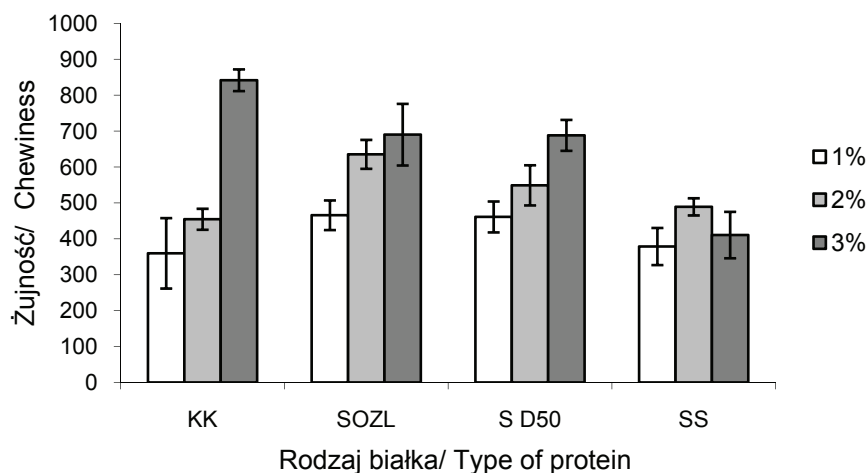
Fig. 3. The effect of different whey powders concentration on cohesiveness of processed cheese analogs.

Gupta i Reuter [9] stwierdzili, że dodatek koncentratów białek serwatkowych powodował spadek spójności analogów serów topionych. Bryant [3] wykazał, że sery o obniżonej zawartości tłuszczu były bardziej spójne, niż sery pełnotłuste.

Sprężystość analogów serów topionych nie zależała w istotnym stopniu ani od typu preparatu serwatkowego, ani stężenia białek, ani też od interakcji tych dwóch zmiennych (dane nie zamieszczone). Lobato-Calleros i wsp. [14] doszli do wniosku, że odchylenia wartości sprężystości analogów sera topionego wskazywały na różnice

w stopniu adsorpcji białka na powierzchni tłuszczu, w zależności od stopnia nienasyce-  
nienia użytego tłuszczu. Kanawija i wsp. [12] wykazali, że spadek sprężystości serów  
podczas przechowywania może być spowodowany hydrolizą micel i para- $\kappa$ -kazeiny,  
które są odpowiedzialne za sprężystość skrzepu serowego.

Na rys. 4. zobrazowano wpływ stężenia dodatku preparatów serwatkowych (SS,  
SD 50, SOZL) na żujność analogów serów topionych. W przypadku wszystkich analo-  
gów serów topionych, wraz ze wzrostem stężenia białka w produkcie nastąpił wzrost  
ich żujności. Jedynie przy 3% dodatku SS żujność analogów obniżała się, ze względu  
na wzrost ich kruchości przy większym stężeniu białka (410,53). Najwyższą żujnością  
charakteryzowały się analogi serów topionych otrzymane z samej kazeiny kwasowej  
przy najwyższym jej stężeniu (841,55), natomiast spośród analogów z dodatkiem pre-  
paratów serwatkowych próbki z 3% dodatkiem SOZL (690,02) oraz S D50 (688,09).



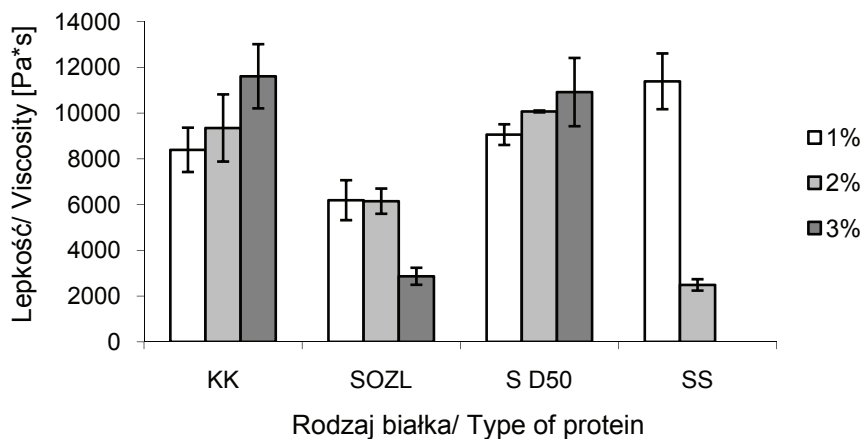
Rys. 4. Wpływ stężenia i rodzaju sproszkowanych preparatów serwatkowych na żujność analogów serów topionych.

Fig. 4. The effect of different whey powders concentration on chewiness of processed cheese analogs.

W badaniach przeprowadzonych przez Mleko i Lucey'a [15], w przypadku serów  
topionych otrzymywanych z dodatkiem serwatki o obniżonej zawartości laktozy meto-  
dą „na zimno”, otrzymywano sery topione o większej twardości, żujności, zaś o mniej-  
szej sprężystości. Gupta i Reuter [9] wykazali, że żujność analogów wzrastała w miarę  
dodatku koncentratów białek serwatkowych.

Odnosnie analogów serów topionych otrzymanych z samej kazeiny (KK) i analo-  
gów z dodatkiem S D50 ich lepkość wzrastała w miarę wzrostu stężenia białka. Nato-  
miast przy dodatku SOZL, jak i SS lepkość analogów znacznie malała i jej wartość  
wyniosła analogicznie 2867 Pa·s i 2490 Pa·s. W przypadku SOZL mogło to być spo-

wodowane znacznym zmniejszeniem zawartości laktozy w tym preparacie, natomiast w przypadku SS dużą zawartością popiołu, gdyż analog z ww. preparatem charakteryzował się znaczną kruchością.



Rys. 5. Wpływ stężenia i rodzaju sproszkowanych preparatów serwatkowych na lepkość analogów serów topionych.

Fig. 5. The effect of different whey powders concentration on viscosity of processed cheese analogs.

Mleko i Foegeding [16] stwierdzili, że białka serwatkowe prawdopodobnie współdziałają z matrycą białkową kazeiny, działając jako aktywny wypełniacz albo tworząc razem z nią mieszany żół o większej lepkości. Damodaran [5] stwierdził, że lepkość roztworów białkowych wzrasta w miarę koncentracji białka, co może świadczyć o interakcji uwodnionych cząsteczek białka.

### Wnioski

1. Dodatek wszystkich preparatów serwatkowych powodował wzrost twardości analogów serów topionych w porównaniu z analogami otrzymanymi wyłącznie na bazie kazeiny kwasowej.
2. Przylegalność, spójność i żujność analogów serów topionych zwiększała się w miarę wzrostu stężenia SOZL i S D50. Sprężystość analogów serów topionych nie zależała w istotnym stopniu ani od typu preparatu serwatkowego, ani stężenia białka.
3. Wzrost stężenia białka w serze, spowodowany dodatkiem preparatów serwatkowych, powodował wzrost lepkości analogów serów topionych z dodatkiem SD 50, a zmniejszenie lepkości analogów z udziałem SOZL i SS.
4. W przypadku analogów serów topionych otrzymywanych na bazie kazeiny, dodatek preparatów serwatkowych może przyczynić się do znacznych oszczędności su-

rowcowych poprzez zmniejszenie zawartości kazeiny w produkcji, z jednoczesnym uzyskaniem lepszych właściwości teksturalnych wyrobu. Ponadto zastosowanie proszków serwatkowych tj. S D50, SOZL i SS umożliwi redukcję kosztów produkcji.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura


- [1] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis (14<sup>th</sup> Ed.). Arlington, VA, 1984.
- [2] Awad S., Hassan A.N., Muthukumarappan K.: Application of exopolysaccharide-producing cultures in reduced-fat Cheddar cheese: Texture and melting properties. *J. Dairy Sci.*, 2005, **88**, 4204-4213.
- [3] Bryant A., Ustunol Z., Steffe J.: Texture of Cheddar cheeses as influenced by fat reduction. *J. Food Sci.*, 1995, **60**, 1216-1219.
- [4] Cichosz G.: *Technologia serów topionych*. Oficyna Wydawnicza Hoża, Warszawa 2000.
- [5] Damodaran S.: Food proteins: an overview. In: S. Damodaran & A. Paraf (Eds.). *Food proteins and their applications* (pp. 1-24). Marcel Dekker, Inc., New York 1997.
- [6] Glibowski P., Mleko S., Gustaw W., Janas P.: Production and rheological characteristics profile of processed cheese analogues. *Pol. J. Natur. Sci.*, 2002, **11 (2)**, 207-214.
- [7] Górska-Warsewicz, H.: Smarowanie jest trendy. *Forum Mleczarskie*, 2004, **5**, 28-29.
- [8] Gupta V.K., Reuter W.: Firmness and melting quality of processed cheese foods with added whey protein concentrates. *Lait*, 1993, **73**, 381-388.
- [9] Gupta V.K., Reuter H.: Processed cheese foods with added whey protein concentrates. *Lait*, 1992, **72**, 201-212.
- [10] Gustaw W., Mleko S.: The effect of polysaccharides and sodium chloride on physical properties of processed cheese analogs containing whey proteins. *Milchwiss.*, 2007, **62 (1)**, 59-62.
- [11] Gustaw W., Sołowiej B., Mleko S.: Otrzymywanie deserów mlecznych z białek serwatkowych z dodatkiem skrobi i karagenu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4 (45) Supl.**, 100-109.
- [12] Kanawjia S.K., Rajesh P., Sabikhi L. Singh S.: Flavor, chemical and texture profile changes in accelerated ripened Gouda cheese. *Lebensmittel-Wiss. Technol.*, 1995, **28**, 577-583.
- [13] Lee S.K., Klostermeyer H.: The effect of pH on the rheological properties of reduced-fat model processed cheese spreads. *Lebensmittel-Wiss. Technol.*, 2001, **34**, 288-292.
- [14] Lobato-Calleros C., Vernon-Carter E.J., Guerrero-Legarreta I., Soriano-Santos J., Escalona-Beundia, H.: Use of fat blends in cheese analogs: Influence on sensory and instrumental textural characteristics. *J. Texture Stud.*, 1997, **28**, 619-632.
- [15] Mleko S., Lucey J.A.: Production and properties of processed cheese with reduced lactose whey. *Milchwiss.*, 2003, **58**, 9-10.
- [16] Mleko S., Foegeding E.A.: Physical properties of rennet casein gels and processed cheese analogs containing whey proteins. *Milchwiss.*, 2000, **55**, 513-516.
- [17] Mleko S., Foegeding E.A.: Formation of protein polymers: Effects of a two-step heating process on rheological properties. *J. Texture Stud.*, 1999, **30**, 137-149.
- [18] Raval D.M., Mistry V.V.: Application of ultrafiltered sweet buttermilk in manufacture of reduced fat process cheese. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 2334-2343.

- [19] Sołowiej B.: The effect of pH on rheological properties and meltability of processed cheese analogs with whey products. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57(3A)**, 125-128.
- [20] Stampanoni C.R., Noble A.C.: The influence of fat, acid, and salt on the temporal perception of firmness, saltiness and sourness of cheese analogs. *J. Texture Stud.*, 1991, **22**, 381–392.
- [21] Thapa T.B., Gupta V.K.: Rheology of processed cheese foods with added whey protein concentrates. *Indian J. Dairy Sci.*, 1992, **45**, 88-92.

### TEXTURE ANALYSIS OF PROCESSED CHEESE ANALOGS WITH WHEY PRODUCTS ADDITION

#### S u m m a r y

The aim of this study was to obtain processed cheese analogs from acid casein and partially replaced by different whey products and test their textural properties. Textural properties of processed cheese analogs were performed with a TA-XT2i Texture Analyser. The cheese samples were penetrated by a testing set (15 mm diameter) in constant temperature (21°C). The rate of penetration was 1 mm/s. Viscosity of processed cheese analogs were measured using a Brookfield DV II+ rotational viscometer with a Helipath countershaft (F). Addition of all whey products caused increase of processed cheese analogs hardness in comparison to analogs produced only on the base of acid casein. Adhesiveness, cohesiveness and chewiness of processed cheese analogs increased with increase of reduced lactose whey powder (SOZL) and demineralized whey powder (S D50). The increase of protein content in cheese caused addition of whey products effected increase viscosity of processed cheese analogs with demineralized whey powder (S D50), whereas decreased viscosity of analogs with reduced lactose whey powder (SOZL) and sweet whey powder (SS). Partial substitution of casein by whey protein produces much more solid cheeses, what can reduce casein content in product with better textural properties.

**Key words:** processed cheese, processed cheese analogs, acid casein, whey powders, texture, viscosity 



ANNA BZDUCHA, MIECZYSLAW W. OBIEDZIŃSKI

## LICZEBNOŚĆ PAŁECZEK Z RODZAJU *LACTOBACILLUS* I *BIFIDOBACTERIUM* W ORAZ ICH WPŁYW NA ZAWARTOŚĆ SKONIUGOWANEGO KWASU LINOLOWEGO W MODELOWYCH SERACH DOJRZEWAJĄCYCH

### Streszczenie

W pracy określono wpływ probiotycznych pałeczek *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium lactis* na zawartość CLA w modelowych serach dojrzewających. W okresie dojrzewania serów oznaczano również liczbę żywych komórek badanych mikroorganizmów.

Wytworzone sery modelowe charakteryzowały się ponad 23% zawartością tłuszczu w suchej masie i ok. 58% zawartością wody, wobec czego zakwalifikowano je do grupy serów półtłustych miękkich. We wszystkich próbach serów świeżych zawartość CLA wynosiła ok. 700 mg/100 g tłuszczu. Liczba żywych komórek bakterii probiotycznych w serach dojrzewających w temp. 6°C przez 8 tygodni utrzymywała się na poziomie  $10^7$ – $10^8$  jtk/g, spełniając wymaganie minimum terapeutycznego. W zastosowanych warunkach dojrzewania nie stwierdzono wpływu wybranych bakterii probiotycznych na zawartość CLA w serach modelowych.

**Słowa kluczowe:** *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, modelowe sery dojrzewające, kwas linolowy o wiązaniach sprzężonych (CLA)

### Wprowadzenie

Potencjalny prozdrowotny efekt spożywania produktów mleczarskich z dodatkiem bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* jest czynnikiem rozwoju badań nad żywnością funkcjonalną, zawierającą żywe mikroorganizmy o działaniu probiotycznym. W ostatnich latach w mleczarstwie obserwuje się zainteresowanie zastosowaniem mikroorganizmów probiotycznych w technologii serów dojrzewających. Wyniki badań nad serami dojrzewającymi z dodatkiem probiotycznych kultur niestarterowych wskazują, że przeżywalność tych mikroorganizmów może pozostawać na wyso-

kim poziomie podczas długiego okresu dojrzewania serów, tzn. spełnia warunek FAO/WHO i IDF/FIL odnośnie minimum terapeutycznego [3, 5]. Minimum terapeutyczne określa najmniejszą dopuszczalną liczbę żywych komórek bakterii na poziomie  $10^6$ – $10^7$  w gramie lub mililitrze produktu podczas całego okresu przydatności do spożycia [6, 10].

Lipidy mleka zawierają składniki wykazujące działanie m.in. przeciwnowotworowe. Takie właściwości przypisuje się m.in. grupie izomerów pozycyjnych i geometrycznych kwasu linolowego o wiązaniach sprzężonych (z ang. conjugated linoleic acid-CLA), kwasowi izopentadekanowemu (kwas 13-metylotetradekanowy), masłowemu oraz sfingolipidom [20, 22]. Najbardziej aktywnemu biologicznie izomerowi CLA, którym jest kwas 18:2 cis9, trans11, przypisuje się ponadto działanie immunomodulacyjne, przeciwcukrzycowe, a także przeciwmiażdżycowe. To ostatnie związane jest m.in. ze zmniejszaniem poziomu cholesterolu całkowitego we krwi, frakcji LDL cholesterolu oraz triacylogliceroli, co wpływa jednocześnie na regulację ciśnienia krwi. Izomer 18:2 trans10, cis12 wpływa natomiast na gospodarkę lipidową organizmu, wspomagając redukcję masy ciała, a tym samym przeciwdziałając otyłości [8, 14, 15, 18].

W produktach mleczarskich izomerem stanowiącym ponad 80% izomerów CLA tłuszczu mlekowego jest kwas 18:2 cis-9, trans-11. Jego występowanie to wynik działalności mikroflory żwacza zwierząt przeżuujących, która przeprowadza enzymatyczną izomeryzację kwasu linolowego (KL). Jest to pierwszy etap na drodze biohydrogenacji do kwasu stearynowego. Dodatkowo CLA powstaje w wyniku desaturacji kwasu wakcenenowego (18:1, trans-11) w gruczołach mlecznych. Według ostatnich badań, zdolność konwersji kwasu linolowego do CLA mogą wykazywać również niektóre szczepy bakterii mlekowych (LAB) stosowane jako kultury starterowe, a także szczepy probiotyczne LAB. Większość autorów wskazuje, że kwas linolowy może być wykorzystywany we wspomnianych przemianach przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus* czy *Bifidobacterium* tylko jako wolny kwas tłuszczowy, jednak prace innych autorów wskazują, że zawartość CLA ulegała zwiększeniu również wówczas, gdy w podłożu wzrostowym źródłem LA były formy zestryfikowane tego kwasu, głównie w acyloglicerolach, np. w tłuszczu mlecznym czy oleju słonecznikowym [1, 5, 21].

Celem pracy było określenie wpływu probiotycznych pałeczek *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium lactis* na zawartość CLA w czasie dojrzewania serów modelowych, a także określenie zmian liczby tych mikroorganizmów podczas dojrzewania serów.

### **Materiał i metody badań**

W badaniach stosowano następujące szczepy bakterii: *Lactobacillus acidophilus* La-5 (Chr. Hansen), *Lactobacillus casei* DN-114001 (Danone), *Bifidobacterium lactis*

Bb-12 (Chr. Hansen) oraz bakterie starterowe procesu fermentacji: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* i *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* R-603 (Chr. Hansen).

Materiał badawczy stanowiły sery modelowe, do których oprócz kultur starterowych procesu fermentacji (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) zastosowano podczas wytwarzania dodatek bakterii probiotycznych w różnych kombinacjach (tab. 1), otrzymując osiem serów modelowych.

Tabela 1

Kombinacja mikroorganizmów w serach modelowych.  
The combination of micro-organisms in model cheeses.

Symbol sera modelowego Letter mark of a model cheese	Kombinacje mikroorganizmów w serach modelowych Combinations of micro-organisms in model cheeses
A (model kontrolny) A (control model)	R603
B	R603 + DN-114001
C	R603 + Bb-12
D	R603 + DN-114001 + Bb-12
E	R603 + LA5
F	R603 + LA5 + DN-114001
G	R603 + LA5 + Bb-12
H	R603 + LA5 + DN-114001 + Bb-12

Sery modelowe wytwarzano z zachowaniem warunków sterylnych. Do szklanych butelek Shotta o pojemności 1 l naważano śmietankę UHT (30% tłuszczu), odtłuszczonego proszku mlecznego i dodawano 250 ml uprzednio wysterylizowanej wody. Zarówno śmietankę, jak i mleko w proszku, dodawano w ilości ok. 28% wagowych. Następnie dodawano NaCl (2%) i cytrynian sodu (0,3%). Końcowa masa sera modelowego wynosiła ok. 600 g. Masę serową poddawano ogrzewaniu do temp. 31°C, zaszczipiano kulturami bakterii (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* i *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) na poziomie ok.  $10^8$  jtk/g sera modelowego oraz na poziomie ok.  $10^7$  jtk/g sera modelowego w przypadku bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Następnie termostatowano ją w temp. 31°C w łaźni wodnej (Cabrolab Electronic, Polska) przez 30 min, po czym dodawano podpuszczkę (1:13000, Marzyme, Chr. Hansen). Po wytworzeniu się skrzepu serowego masę cięto, dogrzewano do ok. 41°C i termostatowano w łaźni wodnej ok. 30 min. Tak przygotowane sery modelowe poddawano dojrzewaniu przez 8 tygodni w temp. 6°C w chłodziarce z kontrolowaną temperaturą (Elektrolux). Próbkę do analiz mikrobiologicznych, fizykochemicznych oraz analizy estrów metylowych kwasów tłuszczowych pobierano z częstotliwością co dwa tygodnie (2., 4., 6. i 8. tydzień) od momentu wytworzenia serów (próba 0). Próbkę przeznaczoną do analizy estrów metylowych kwasów tłuszczowych przechowywano w temperaturze -21°C do czasu analizy.

Analizy składu estrów metylowych kwasów tłuszczowych wykonywano w serach modelowych z kolejnych okresów dojrzewania w trzech powtórzeniach. Ekstrakcję tłuszczu wykonywano według zmodyfikowanej procedury podanej przez Christie [4]. Tłuszcz ekstrahowano z próbek za pomocą mieszaniny chloroform : metanol (2 : 1 v/v) oraz dodawano nasycony roztwór KCl – odczynniki firmy POCH o czystości analitycznej. Przed ekstrakcją dodawano 500 µg standardu wewnętrznego (triacylglicerol kwasu heneicosanowego, Nu-Chek Prep, Inc., T-175), w celu wykonania przeliczeń ilościowych [mg/100g tłuszczu] w odniesieniu do CLA po rozdiale chromatograficznym. Po odparowaniu chloroformu w strumieniu azotu tłuszcz rozpuszczano w heksanie (POCH, cz.d.a.). Następnie stosowano transestryfikację kwasów tłuszczowych (nie estryfikowano wolnych kwasów tłuszczowych) za pomocą 0,5 M KOH w metanolu (30 min w temp. 37°C). Estry metylowe kwasów tłuszczowych (w tym CLA - 18:2 cis9, trans11) oznaczano metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas (GC/MS-QP2010, Shimadzu) przy użyciu kolumny polarnej SP-2560 (100 m x 0,2 µm x 0,25 mm) firmy Supelco. Zastosowano bezdzielnikowy tryb nastrzyku próbki w następujących warunkach chromatografowania: temp. dozownika 240°C, temp. początkowa kolumny 40°C, izoterma 12 min, wzrost temperatury o 10°C/min do 160°C, izoterma 20 min, następnie wzrost temp. pieca o 4°C/min do 180°C - izoterma 20 min, po czym zastosowano wzrost temperatury o 6°C/min do 230°C (izoterma 15 min). Gazem nośnym był hel o przepływie 1,10 cm<sup>3</sup>/min. Stosowano następujące warunki pracy spektrometru masowego: temp. źródła jonów 200°C, temp. linii łączącej GC z MS 200°C, jonizacja elektronami o energii 70eV, napięcie detektora 1,13 kV, zakres przemieszczenia filtra kwadrupolowego 50–500 m/z. Identyfikację CLA (18:2 cis-9, trans-11) prowadzono porównując spektrum masowe oraz czas retencji ze standardem tego izomeru (UC-60-A, Nu-Chek Prep., Inc.). Obliczenia ilościowe CLA wykonywano względem powierzchni piku standardu wewnętrznego (sw) według wzoru: CLA [mg/100g tłuszczu] = [(powierzchnia<sub>CLA</sub> × powierzchnia<sub>sw</sub><sup>-1</sup>) × (masa sw [mg] × naważka [g<sup>-1</sup>]) × WK<sub>CLA</sub> × 100] × (1,04 × % tłuszczu)<sup>-1</sup>, gdzie 1,04 - współczynnik przeliczeniowy estru metylowego kwasu heneikozanowego na wolny kwas heneikozanowy, a WK – współczynnik korekcji dla CLA wyznaczony doświadczalnie względem kwasu heneikozanowego (rozdział chromatograficzny związków standardowych) na podstawie zależności: WK<sub>CLA</sub> = (powierzchnia<sub>sw</sub> × powierzchnia<sub>CLA</sub><sup>-1</sup>) × (masa<sub>CLA</sub> × masa<sub>sw</sub><sup>-1</sup>).

Zawartość CLA w serach modelowych z 2., 4., 6. i 8. tygodnia dojrzewania i o określonej kombinacji bakterii (tab. 1) porównywano z zawartością CLA z czasu zerowego (kontrolnego) w serach modelowych o tej samej kombinacji mikroorganizmów.

Oznaczenie azotu ogółem (metoda Kjeldahla), zawartości tłuszczu ogółem (metoda butyrometryczna) oraz obliczenie zawartości tłuszczu w suchej masie, analizę za-

wartości wody i suchej masy (suszenie w temp. 102°C) oraz pomiary pH (metoda potencjometryczna, pehametr typu LPH33OT, TOCUSSEL) prowadzono według zaleceń PN-73/A-86232 [9].

Liczbę paciorkowców mlekowych oznaczano metodą płytkową w hodowli na pożywce agarowej M17 o pH 7,2 (Merck). Inkubację tlenową prowadzono w temp. 30±1°C przez 72 h. Oznaczenie liczby pałeczek mlekowych wykonywano metodą płytkową (posiew metodą kropelkową). Hodowlę beztlenową prowadzono z wkładami do wytwarzania atmosfery beztlenowej w słoju do hodowli beztlenowej (Anaerocult, Merck) na pożywce MRS-Agar o pH 5,4 (Biomerioux). Inkubację prowadzono w temp. 42°C/72 h. Analizy mikrobiologiczne wykonywano w dwóch powtórzeniach. Wyniki podawano jako log jtk/1 g sera modelowego.

Analizy statystycznej istotności różnic dokonano przy zastosowaniu analizy wariancji ( $\alpha = 0,05$ ) w programie Statgraphics 4.1.

## Wyniki i dyskusja

Wytworzone sery modelowe charakteryzowały się ponad 23% zawartością tłuszczu w suchej masie i ok. 58% zawartością wody, co jest charakterystyczne dla serów półtwardych miękkich. Zawartość białka ogółem wynosiła ok. 11%. Po wytworzeniu serów modelowych (próba 0) pH kształtowało się na poziomie ok. 6,5–6,4 jednostek pH odpowiednio w serze kontrolnym i serach modelowych z dodatkiem bakterii probiotycznych. Podczas dojrzewania pH ulegało obniżeniu skutkiem przebiegu procesu fermentacji i produkcji kwasów organicznych. W ósmym tygodniu pH serów z dodatkiem tylko bakterii *Lactococcus lactis* (model A) było na poziomie ok. 5,7, zaś serów modelowych z dodatkiem *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* osiągało wartość ok. 5,3 (model B, D i E) oraz ok. 5,45 a w pozostałych serach modelowych (C, F, G i H) – tab. 2.

Liczba żywych komórek mezofilnych paciorkowców tlenowych po wytworzeniu serów modelowych była na podobnym poziomie we wszystkich modelach i wynosiła ok. 10<sup>8</sup> jtk/g (rys. 1). W czasie dojrzewania obserwowano wzrost liczby komórek tych bakterii o ok. 1 cykl log w serach modelowych A, B i C, osiągając w ósmym tygodniu dojrzewania ok. 8,8 cykli log. W modelach E i D zaobserwowano wzrost liczby paciorkowców mlekowych na poziomie 0,7 cyklu log, zaś najmniejszy wzrost liczby mikroorganizmów starterowych odnotowano w modelu H (dodatek trzech szczepów probiotycznych), w którym w całym okresie dojrzewania liczba R-603 wynosiła ok. 10<sup>8</sup> jtk/g.

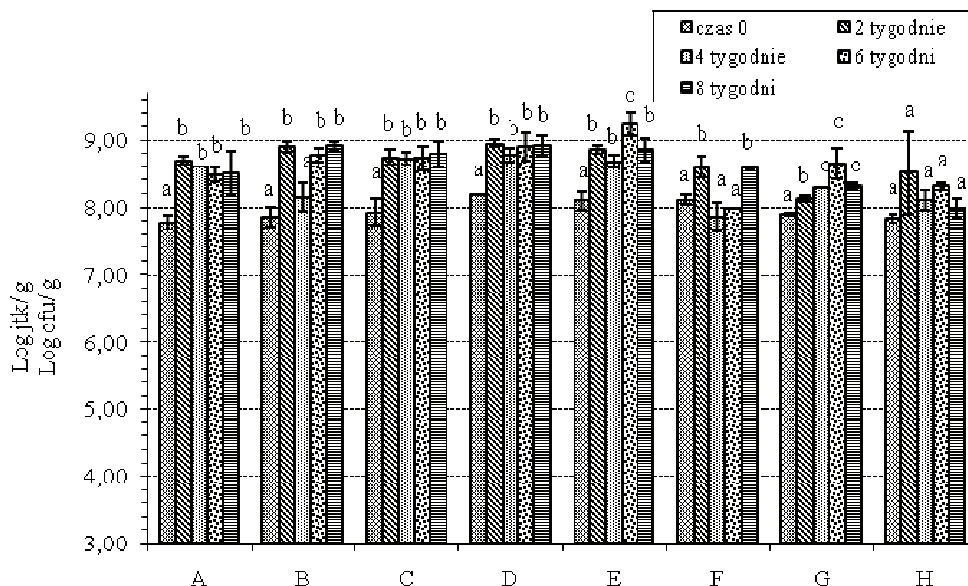
W przypadku pałeczek mlekowych z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* inoculum wynosiło ok. 10<sup>7</sup> jtk/g (rys. 2). W modelu B, w którym zastosowano szczepionkę *Lb. casei*, w drugim tygodniu dojrzewania wykazano zmniejszenie liczby tych bakterii z 7,6 (próba 0) do ok. 6,6 cykli log, po czym obserwowano powolny wzrost liczby komórek do ok. 7,2 cykli log. W przypadku modelu C, z dodatkiem *Bifidobacterium*

*lactis*, w całym okresie dojrzewania serów modelowych stwierdzono powolne zmniejszanie się liczby żywych komórek z początkowej  $10^7$  jtk/g do ok.  $10^6$  jtk/g. Jak podaje Boylston i wsp. [2], zdolność przeżywania bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* w serach jest zależna od szczepu, aktywności bakterii kwasu mlekowego użytych podczas produkcji sera, składu chemicznego matrycy serowej oraz warunków procesu technologicznego i dojrzewania. Mleko nie jest podłożem dostarczającym wszystkich niezbędnych składników do rozwoju bifidobakterii. Podobną zależność stałego zmniejszania się liczby pałeczek probiotycznych zaobserwowano w modelu z dodatkiem Bb-12 i La-5 (z ok. 8 do ok. 7,5 cykli log), jednak nadal spełniały one warunek produktu probiotycznego. W modelu D (*Lb. casei* i Bb- 12) oraz w modelu E (*Lb. acidophilus*) liczba żywych komórek bakterii utrzymywała się w całym okresie dojrzewania na podobnym poziomie (ok.  $10^7$  jtk/ g). W modelu H, w którym zastosowano inoculum wszystkich badanych pałeczek mlekowych, bakterie wykazywały niewielką dynamikę wzrostu (przyrost z ok. 7,5 do ok. 8 cykli log). Największy wzrost liczby żywych komórek (z ponad  $10^7$  jtk/g do ponad  $10^8$  jtk/g) zaznaczył się w modelu F, w którym obecne były pałeczki obu gatunków z rodzaju *Lactobacillus*. Wyniki badań m.in. Phillipsa i wsp. [16] wskazują na dobrą przeżywalność bakterii probiotycznych, tj. na poziomie  $10^6$ – $10^7$  jtk/g sera po 32 tygodniach dojrzewania. Może to wynikać z faktu, że sery dojrzewające charakteryzują się wyższym pH oraz większą zawartością tłuszczu w porównaniu z innymi produktami fermentowanymi. Stanowi to ochronę dla komórek bakterii, również podczas pasażu przez przewód pokarmowy człowieka.

Tabela 2

Wartości pH serów modelowych dojrzewających w temperaturze 6°C.  
The pH values of model cheeses ripening at a 6°C temperature.

Czas dojrzewania [tygodnie] Ripening time [weeks]	Sery modelowe / Model cheeses*			
	A x ± s	B x ± s	C x ± s	D x ± s
0	6,50±0,02	6,40±0,05	6,40±0,04	6,38±0,00
2	5,82±0,01	5,56±0,00	5,63±0,03	5,43±0,01
4	5,75±0,01	5,36±0,01	5,49±0,00	5,30±0,01
6	5,53±0,01	5,19±0,01	5,39±0,01	5,18±0,00
8	5,67±0,00	5,33±0,02	5,47±0,01	5,31±0,00
	E x ± s	F x ± s	G x ± s	H x ± s
0	6,37±0,06	6,32±0,08	6,39±0,00	6,33±0,02
2	5,59±0,01	5,55±0,04	5,76±0,01	5,61±0,01
4	5,45±0,04	5,54±0,01	5,55±0,02	5,51±0,03
6	5,32±0,03	5,48±0,04	5,40±0,02	5,47±0,02
8	5,37±0,01	5,46±0,01	5,45±0,01	5,49±0,02



Rys. 1. Zmiany liczby mezofilnych paciorkowców tlenowych w czasie dojrzewania serów modelowych w temp. 6°C.

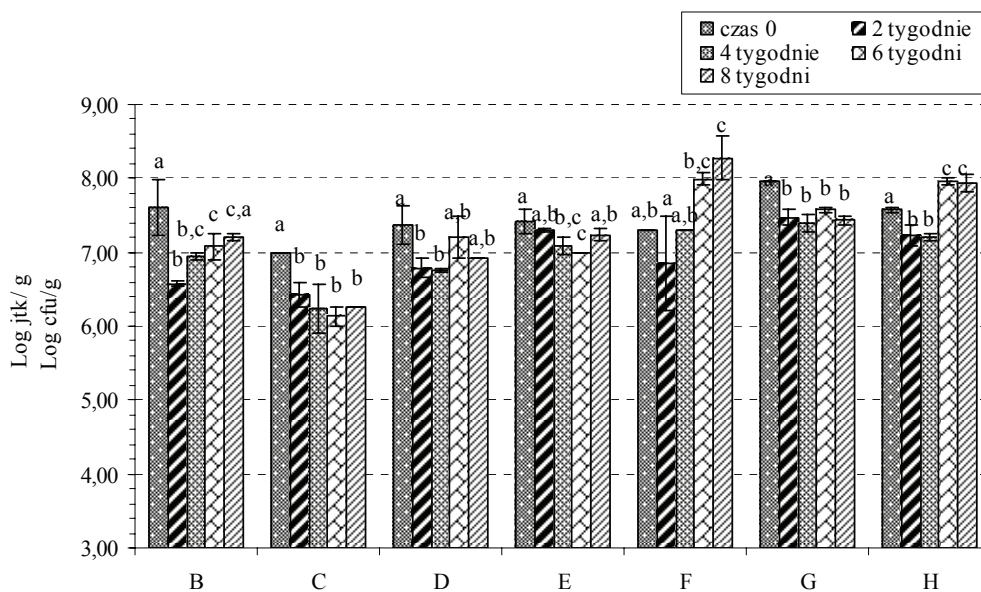
Fig. 1. Changes in the count of mesophilic aerobic coccus during the ripening of model cheeses at a 6°C temperature.

Wyniki badań wskazują, że biosyntezę CLA przeprowadzać mogą mikroorganizmy z grupy bakterii mlekowych, m.in. z rodzaju *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, przy czym zdolność tę przypisuje się nie wszystkim szczepom. Celem pracy Alonso, Cuesta i Gillilanda [1] było określenie zdolności szczepów *Lactobacillus acidophilus* (L1, O16) i *Lactobacillus casei* (E5, E10), wyizolowanych z przewodu pokarmowego człowieka, do produkcji wolnego kwasu linolowego. Wszystkie analizowane szczepy bakterii potrafiły wykorzystywać wolny kwas linolowy w kierunku syntezy CLA. Również liczne szczepy z rodzaju *Bifidobacterium* wykazywały zdolność biosyntezy CLA [5, 11]. Tłuszcz mleczny, składający się w ponad 97% z triacylogliceroli, potrafiło wykorzystywać do produkcji CLA pięć szczepów, w tym m. in. *Propionibacterium* oraz kultury jogurtowe, *Lb. delbruecki* subsp. *bulgaricus* i *Salivarius* subsp. *thermophilus*. Niezhydrolizowany olej sojowy wykorzystywały do biosyntezy tylko szczepy *Lb. plantarum* L2-1, *Lb. rhamnosus* oraz *Bifidobacterium bifidum* 420 [21].

We wszystkich serach modelowych zawartość CLA w próbach 0 (po wytworzeniu sera) wynosiła ok. 700 mg/100 g tłuszczu (tab. 3). Jak podaje Jiang i wsp. [9] zawartość CLA w serach typu cheddar produkowanych z wykorzystaniem różnych szczepów *Lactococcus lactis* wynosiła od 500 do 700 mg/100 g tłuszczu. Różnice ilościowe zawartości izomerów mogły wynikać z różnic zawartości CLA w mleku stoso-



wanym do wyrobu serów, odmiennych warunków produkcji, zastosowanych kultur starterowych, a także warunków oraz długości okresu dojrzewania serów. Autorzy Ci nie zauważyli jednak istotnego wpływu warunków produkcji serów oraz rodzaju zastosowanych mikroorganizmów na zawartość CLA w szwedzkich serach dojrzewających. Zwiększone stężenie kwasu C18:2 cis-9, trans-11 stwierdzili natomiast w serach dojrzewających Shantha i wsp. [19], którzy podają, że zawartość tych izomerów prawdopodobnie ulega podwyższeniu pod wpływem różnych czynników procesu technologicznego. Wyższe stężenie kwasów o wiązaniach skoniugowanych zaobserwowano w serach dojrzewających (ok. 8,8 mg CLA/g tłuszczu) w porównaniu z nieprzetworzonym mlekiem – poniżej 1 mg CLA/1 g tłuszczu [11]. Fritshe i wsp. [7] podają, że w wytworzonym przez nich serze Emmenthal z dodatkiem szczepów probiotycznych ilość CLA nieznacznie wzrosła. W niniejszej pracy w badanych serach modelowych nie stwierdzono istotnych zmian zawartości CLA w czasie ośmiotygodniowego dojrzewania w temp. przechowywania wynoszącej 6°C. Badania te uwzględniają jedynie analizę kwasów tłuszczowych występujących w tłuszczu mlekowym w formie zestryfikowanej (gł. jako triacyloglicerole), co może wskazywać, że zastosowane szczepy bakterii nie wykorzystują nienasyconych kwasów tłuszczowych w postaci zestryfikowanej



Rys. 2. Zmiany liczby beztlenowych pałeczek mlekowych w czasie dojrzewania serów modelowych w temperaturze 6°C.

Fig. 2. Changes in the count of anaerobic lactic rods during the ripening of model cheeses at a 6°C temperature.



Tabela 3

Zawartość CLA (18:2 *cis*-9, *trans*-11) w tłuszczu serów modelowych dojrzewających w temperaturze 6°C [mg CLA/100 g tłuszczu].

The CLA (18:2 *cis*-9, *trans*-11) content in the fat of model cheeses ripening at a 6°C temperature; [mg CLA/100 g of fat].

Czas dojrzewania [tygodnie] Ripening time [weeks]	Sery modelowe / Model cheeses*			
	A x ± s	B x ± s	C x ± s	D x ± s
0	753,63 ± 62,55a	754,67 ± 0,37a,b	713,96 ± 30,00a	713,96 ± 20,00a
2	742,95 ± 48,51a	753,27 ± 8,07a,b	716,51 ± 18,57a	668,53 ± 26,12b
4	755,92 ± 11,07a	755,34 ± 43,58a,b	691,83 ± 25,69a	673,32 ± 19,74b
6	741,45 ± 10,00a	767,29 ± 12,00b	702,01 ± 4,63a	686,76 ± 19,36a,b
8	740,22 ± 11,33a	712,19 ± 39,82a	701,47 ± 1,43a	692,88 ± 18,72a,b
	E x ± s	F x ± s	G x ± s	H x ± s
0	673,16 ± 13,83a	694,56 ± 14,07a	688,34 ± 9,35a	698,89 ± 16,70a
2	683,18 ± 10,83a	687,30 ± 13,11a,b	696,28 ± 11,63a	680,97 ± 20,00a
4	688,91 ± 7,60a	694,46 ± 2,00a	694,53 ± 34,54a	692,71 ± 19,21a
6	686,00 ± 38,47a	664,43 ± 24,22b	696,79 ± 30,00a	689,73 ± 12,89a
8	683,95 ± 7,09a	700,59 ± 5,00a	688,15 ± 56,43a	689,11 ± 13,16a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

x - wartość średnia / mean value; s- odchylenie standardowe / standard deviation; a, b, c, d - te same litery przy wartościach średnich danego modelu sera oznaczają brak statystycznie istotnych różnic ( $p > 0,05$ ) / a, b, c, d – the same letters at the mean values of a given model cheese show that no statistically significant differences occur ( $p > 0.05$ ); \* objaśnienia symboli podano w tab. 1. / Letter marks were explained in Tab. 1.

do biosyntezy CLA. Lipazy bakterii kwasu mlekowego to enzymy wewnątrzkomórkowe, dlatego możliwe wydaje się, że przebieg biosyntezy izomerów CLA wymaga zwiększenia powierzchni reakcji między składnikami tłuszczu a enzymami bakteryjnymi, np. w wyniku lizy komórek bakteryjnych. Na tym etapie badań i w zastosowanych warunkach dojrzewania nie zauważono wpływu wybranych bakterii probiotycznych na zawartość CLA w badanych serach modelowych, jednak w celu zweryfikowania tych wyników należy przeprowadzić dodatkowe analizy, m. in. składu wolnych kwasów tłuszczowych, bowiem jak wspomniano we wprowadzeniu, są one uznawane za główny substrat w procesie biosyntezy CLA. Ewentualne zmiany zawartości CLA mogły zajść we frakcji wolnych kwasów tłuszczowych.

## Wnioski

1. Wytworzone sery modelowe charakteryzowały się ponad 23% zawartością tłuszczu w suchej masie i ok. 58% zawartością wody, co klasyfikuje je do grupy serów półtłustych miękkich.
2. Podczas dojrzewania serów modelowych w temp. 6°C liczba komórek *Lactococcus lactis* w 8. tygodniu dojrzewania serów utrzymywała się w granicach od  $10^8$  do  $10^9$  jtk/g sera.
3. Liczba żywych komórek bakterii probiotycznych w modelach dojrzewających w temp. 6°C przez 8 tygodni była na poziomie  $10^7$ – $10^8$  jtk/g, spełniając wymaganie minimum terapeutycznego.
4. We wszystkich serach modelowych zawartość CLA w próbach serów świeżych wynosiła ok. 700 mg/100 g tłuszczu.
5. We wszystkich badanych serach modelowych nie stwierdzono istotnych zmian zawartości CLA w czasie ośmiotygodniowego dojrzewania w temp. przechowywania 6°C.
6. Na tym etapie badań i w zastosowanych warunkach dojrzewania nie stwierdzono wpływu wybranych bakterii probiotycznych na zawartość CLA w badanych serach modelowych, jednak w celu zweryfikowania tych wyników należy przeprowadzić dodatkowe analizy, m. in. składu wolnych kwasów tłuszczowych.

Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

## Literatura

- [1] Alonso L., Cuesta E.P., Gilliland S.E.: Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin. J. Dairy Sci., 2003, **86**, 1941-1946.
- [2] Boylston T.D., Vinderola C.G., Ghoddusi H.B., Reinheimer J.A.: Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. Int Dairy J., 2004, **14**, 375-387.
- [3] Cichosz G.: Probiotyczne pałeczki mlekowe - zastosowanie w serowarstwie. Przegl. Mlecz., 2006, **10**, 4-8.
- [4] Christie W.W.: Preparation of lipid extracts from tissues. Advances in Lipid Methodology - Two (ed. Christie W.W.), Oily Press, Dundee, 1993, pp. 195-213.
- [5] Coakley R.P., Ross R.P., Nordgren M., Fitzgerald G., Devery R., Stanton C.: Conjugated linoleic acid biosynthesis by human - derived *Bifidobacterium* species. J. Appl. Microbiol., 2003, **94**, 138-145.
- [6] Defecińska A., Libudzisz Z.: Bakterie fermentacji mlekowej – wpływ na funkcje życiowe człowieka. Przegl. Mlecz., 2000, **8**, 247-251.
- [7] Fritsche J., Rickert R., Steinhart H., Yurawecz M.P., Mossoba M.M., Sehat N., Roach J.A.G., Kramer J.K.G., Ku Y.: Conjugated linoleic acid (CLA) isomers: formation, analysis, amounts in foods and dietary intake. Fett/ Lipid, 1999, **101** (8), 272-276.
- [8] Gnädig S., Rickert R., Sébédio J.L., Steinhart H.: Conjugated linoleic acid (CLA): physiological effects and production. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 2001, **103**, 56-61.

- [9] Jiang J., Björck L., Fondén R.: Conjugated linoleic acid in Swedish dairy products with special reference to the manufacture of hard cheeses. *Int Dairy Jour.*, 1997, **7**, 863-867.
- [10] Krajewska-Kamińska E., Śmietana Z., Bohniewicz K.: Bakterie probiotyczne w produkcji żywności. *Przem. Spoż.*, 2007, **5**, 36-41.
- [11] Lin T.Y.: Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and additives. *Food Chem*, 2000, **69**, 27-31.
- [12] Mc Brearty S., Ross R.P., Fitzgerald G.F., Collins J.K., Wallace J.M., Stanton C.: Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on cheddar cheese quality. *Int Dairy J.*, 2001, **11**, 599-610.
- [13] Moneta J.: Fermentowane produkty mleczne suplementowane bakteriami probiotycznymi. *Przegl. Mlecz.*, 2006, **1**, 4-8.
- [14] Nagao K., Yanagita T.: Conjugated linoleic acids in food and their health benefits. *J Biosci. Bioenginn.*, 2005, **100**, 152-157.
- [15] Pariza M.W., Park Y., Cook M.E.: The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, 2001, **40**, 283-298.
- [16] Phillips M., Kailasapathy K., Tran L.: Viability of commercial probiotic cultures (*Lb. acidophilus*, *Bifidobacterium sp.*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Lb. rhamnosus*) in cheddar cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 2006, **108**, 276-280.
- [17] PN-73/A-86232: Mleko. Przetwory mleczarskie. Sery. Metody badań.
- [18] Przybojewska B., Rfalski H.: Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. Sprzężony kwas linolowy CLA (cz. 2). *Przegl. Mlecz.*, 2003, **5**, 173-175.
- [19] Shantha N.C., Decker E.A., Ustunol Z.: Conjugated linoleic acid concentration in processed cheese. *JAOCS*, 1992, **69** (5), 425-428.
- [20] Wahle K.W.J., Heys S.D., Rotondo D.: Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in Lipid Research*, 2004, **43**, 553-587.
- [21] Xu S., Boylston T.D., Glatz B.A.: Effect of lipid source on probiotic bacteria and conjugated linoleic acid formation in milk model systems. *JAOCS*, 2004, **81** (6), 590-595.
- [22] Żegarska Z.: Składniki tłuszczu mlekowego o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym. *Przegl. Mlecz*, 2005, **6**, 4-6.

**THE COUNT OF *LACTOBACILLUS* AND *BIFIDOBACTERIUM* RODS AND THEIR EFFECT ON THE CONTENT OF CONJUGATED LINOLEIC ACID IN THE MODEL RIPENING CHEESES**

**S u m m a r y**

In this paper, the effect of probiotic rods: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacterium lactis* on the content of CLA in the model ripening cheeses was determined. During the ripening period of cheeses, the count of living cells of the micro-organisms studied was determined, too.

The model cheeses produced were characterized by a fat content amounting to over 23% in dry mass and by a water content of about 58%; thus, they were categorized as semi-fat, soft cheeses. In all the samples of fresh cheeses, the content of CLA was about 700 mg per 100 g fat. In the cheeses ripening at a temperature of 6°C during a period of 8 weeks, the count of living probiotic cells remained at the same level of  $10^7$ – $10^8$  CFU/g and met the requirement of therapeutic minimum. Under the ripening conditions applied, no effect of the selected probiotic bacteria on the CLA content in the model ripening cheeses was found.

**Key words:** *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, model ripening cheeses, conjugated linoleic acid (CLA) ☒

KAROLINA SZULC, ANDRZEJ LENART

## WPLYW AGLOMERACJI NA WŁAŚCIWOŚCI UŻYTKOWE SPROSKOWANYCH MODELOWYCH ODŻYWEK DLA DZIECI

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu aglomeracji nawilżeniowej w złożu fluidalnym na właściwości użytkowe otrzymywanych aglomeratów, na przykładzie sproszkowanych modelowych odżywek dla dzieci. Analiza właściwości użytkowych modelowych odżywek w proszku dla dzieci i utworzonych na ich podstawie aglomeratów obejmowała: średni wymiar cząstek, gęstość nasypową, porowatość, współczynnik Hausnera, indeks Carra, sypkość jako czas wysypu, kąt nasypu, zwilżalność i rozpuszczalność.

Aglomeracja nawilżeniowa badanych modelowych odżywek dla dzieci spowodowała znaczne zwiększenie średniej średnicy cząstek i porowatości oraz umożliwiła uzyskanie aglomeratu o dobrej sypkości i o obniżonej gęstości nasypowej. Sypkość aglomerowanych, sproszkowanych odżywek dla dzieci charakteryzowała się współczynnikiem Hausnera mniejszym od 1,25, indeksem Carra mniejszym od 18 i czasem wysypu krótszym niż 20 s.

**Słowa kluczowe:** aglomeracja, proszki spożywcze, odżywki w proszku dla dzieci, sypkość

### Wprowadzenie

Obserwuje się coraz większe zapotrzebowanie na żywność wygodną, łatwo dostępną, umożliwiającą proste przygotowanie posiłków w dowolnym czasie i różnych sytuacjach. Poszukuje się takich sposobów przetwarzania i utrwalania surowców żywnościowych, aby otrzymać produkt bezpieczny, o podwyższonej jakości. Ma to szczególne znaczenie w przypadku produktów dla dzieci i niemowląt, gdyż te produkty gotowe muszą odpowiadać rygorystycznym wymaganiom.

Polski rynek produktów w proszku dla dzieci zdominowały odżywki mleczne (kaszki zbożowe, kaszki mleczno-ryżowe, a także kaszki mleczno-pszenne z dodatkiem substancji smakowej). Największy udział w rynku stanowią odżywki produkowane na bazie mleka, cukru, kaszki zbożowej (ryżowej, kukurydzianej lub pszennej)

i dodatków smakowych w postaci naturalnych proszków i/lub drobnych kawałków owoców.

Zachowanie się żywności w proszku przy kontakcie z cieczą – wodą lub mlekiem jest związane przede wszystkim z takimi właściwościami fizycznymi, jak: gęstość nasypowa, zwilżalność, rozpuszczalność, rozkład wielkości cząstek i cechy kształtu pojedynczej cząstki. Szczególną rolę odgrywa skład granulometryczny cząstek, gdyż wskazuje on na związek nie tylko z cechami użytkowymi proszku, lecz decyduje o jego zachowaniu się podczas dalszych procesów, to jest transportu pneumatycznego, dozowania i pakowania [3, 6, 7, 9].

Drobnoziarniste proszki niejednokrotnie są uciążliwe w obrocie. Zastosowanie aglomeracji, polegającej na powiększaniu rozmiarów ciał stałych poprzez łączenie drobnych cząstek w większe skupiska, umożliwia otrzymywanie produktów spożywczych o pożądanych właściwościach (dobrej sypkości, rozpuszczalności, zwilżalności). Powyższe wymagania spełnia uzyskanie granulek o porowatej, otwartej strukturze, nieregularnym kształcie, jednorodnej wielkości, stosunkowo dobrej wytrzymałości. Aglomeracja również stwarza możliwość kreowania nowego produktu atrakcyjnego dla konsumenta [2, 5, 7].

Celem pracy było określenie wpływu aglomeracji nawilżeniowej poprzez mieszanie w pneumatycznie generowanym złożu fluidalnym na właściwości użytkowe otrzymywanych aglomeratów na przykładzie sproszkowanych modelowych odżywek dla dzieci.

### **Material i metody badań**

Material badawczy, modelową żywność w proszku, stanowiły mieszaniny tworzone na bazie popularnych na rynku proszków spożywczych tj.: mleka w proszku (MP), cukru pudru (CP), kaszki ryżowej (KR) i proszku truskawkowego (PT).

Badane modelowe odżywki sproszkowane dla dzieci zawierały:

- A (MP 0%, CP 25%, KR 73%, PT 2%),
- B (MP 40%, CP 25%, KR 33%, PT 2%),
- C (MP 73%, CP 25%, KR 0%, PT 2%).

Proces aglomeracji prowadzono z zastosowaniem urządzenia STREA 1/Niro-Areomatic AG. Parametry aglomeracji były następujące: wsad – mieszanina 300 g, ciecz nawilżająca – 48 g wody, 49 g 2% wodnego roztworu lecytyny lub 60 g 50% wodnego roztworu cukru, temp. powietrza wlotowego  $50 \pm 2^\circ\text{C}$ , strumień przepływu powietrza przez złoże  $50\text{--}80 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ , ciśnienie sprężonego powietrza w dyszy rozpylającej 0,2 MPa, nawilżanie z przerwami trwające do 10 min, suszenie aglomeratu 12 min w temp. powietrza wlotowego  $50 \pm 2^\circ\text{C}$ .

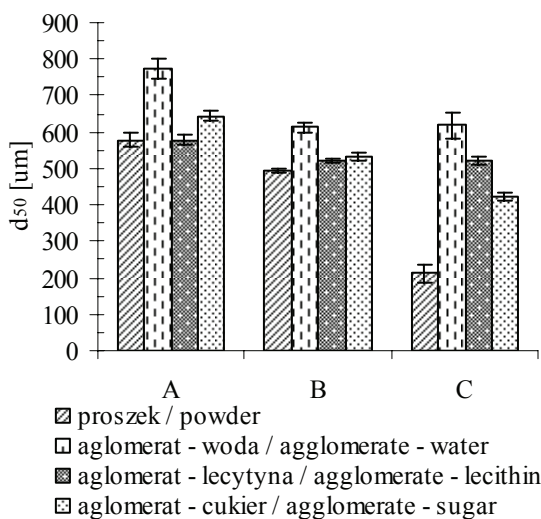
Analiza właściwości użytkowych sproszkowanych modelowych odżywek dla dzieci i utworzonych na ich podstawie aglomeratów obejmowała [1, 8]: średni wymiar

cząstek (średnia średnica objętościowa, analizator wielkości cząstek ciał stałych w powietrzu AWK – V 97 / Kamika Warszawa), gęstość nasypową luźną i utręzioną (według DIN 66145, objętościomierz wstrząsowy STAV 2003/Engelsmann AG), porowatość złoża luźno usypanego i upakowanego (utręzionego), współczynnik Hausnera, indeks Carra, sypkosć, kąt nasypu [4], zwilżalność i rozpuszczalność.

Wszystkie pomiary i oznaczenia powtarzano trzykrotnie.

## Wyniki i dyskusja

Wielkość cząstek odgrywa decydującą rolę w procesach związanych z obrotem materiałami sypkimi oraz powiązana jest z cechami użytkowymi proszków. Wraz ze zwiększaniem udziału mleka w proszku w mieszaninie, od 0 do 73%, średnia średnica cząstek ulegała zmniejszeniu (rys. 1). Aglomeracja niezależnie od zastosowanej cieczy nawilżającej powodowała powiększenie wymiaru cząstek (średniej średnicy cząstek). Aglomeracja wodą powodowała, że utworzone aglomeraty charakteryzowały się największą średnicą cząstek w stosunku do aglomeratów utworzonych za pomocą wodnych roztworów lecytyny lub cukru. Średnia średnica cząstek mieszanin po aglomeracji, przy udziale jako cieczy nawilżającej roztworu lecytyny i cukru, uzależniona była od składu surowcowego modelowych odżywek dla dzieci (rys. 1).

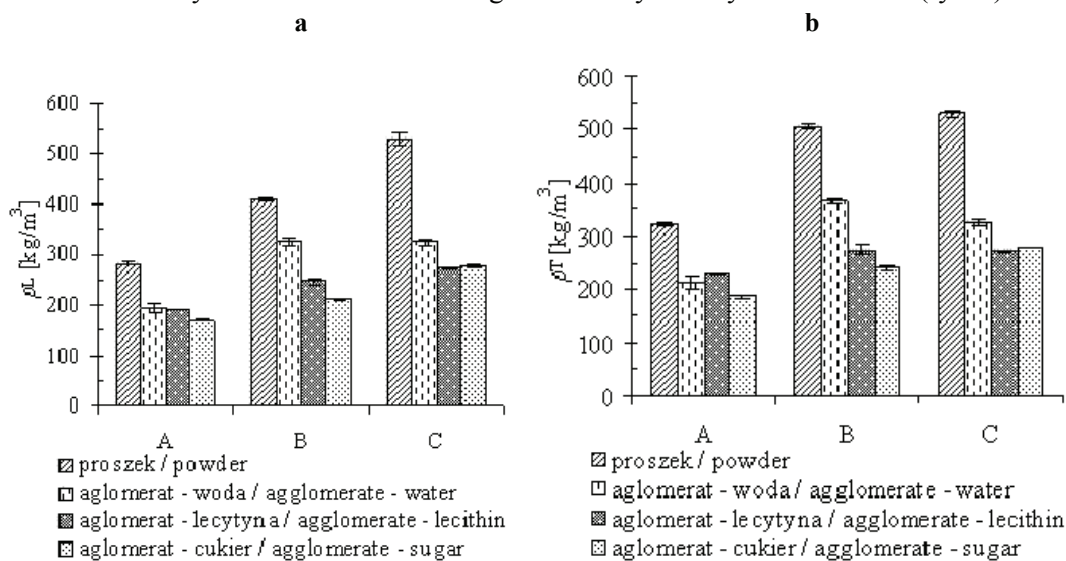


Rys. 1. Wpływ aglomeracji na średni wymiar cząstek (średnią średnicę objętościową)  $d_{50}$ .

Fig. 1. Influence of agglomeration on mean particle size (mean diameter of volume)  $d_{50}$ .

Na rys. 2. przedstawiono wpływ aglomeracji na gęstość nasypową luźną i utręzioną, która związana jest ze składem granulometrycznym cząstek – upakowaniem złoża. Modelowe sproszkowane odżywki dla dzieci były mieszaninami o większej

gęstości niż utworzone na ich podstawie aglomeraty. Zastąpienie udziału kaszki ryżowej mlekiem w proszku powodowało znaczny wzrost gęstości nasypowej luźnej i utrząsionej. Aglomeracja spowodowała obniżenie gęstości nasypowej zarówno mieszanin aglomerowanych wodą, jak i roztworem cukru lub lecytyny. Największym zmniejszeniem gęstości w stosunku do mieszanin przed aglomeracją cechowały się aglomeraty powstałe przy udziale jako cieczy nawilżającej roztworu lecytyny i cukru, uzależniona była od składu surowcowego modelowych odżywek dla dzieci (rys. 1).



Rys. 2. Wpływ aglomeracji na gęstość nasypową luźną  $\rho_L$  i utrząsioną  $\rho_T$ .

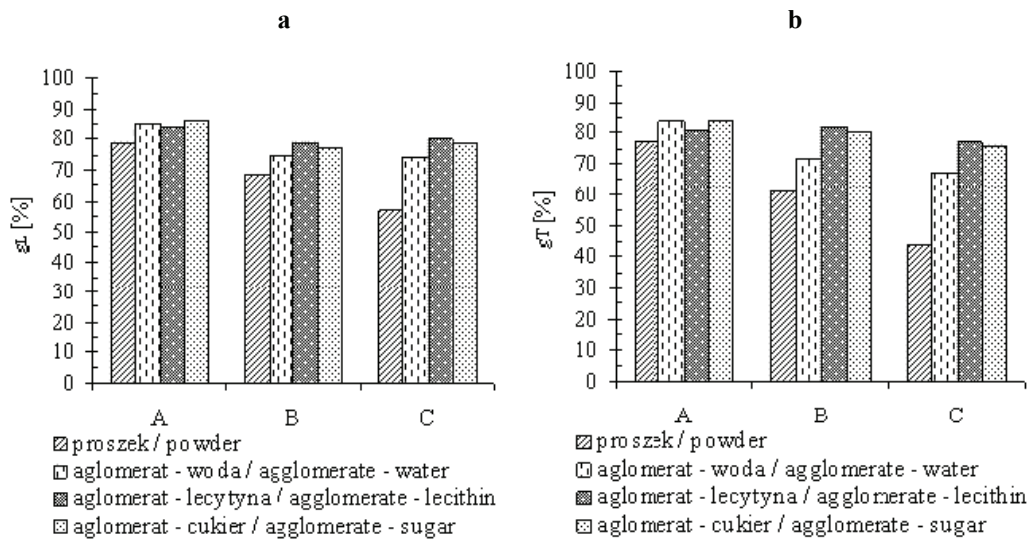
Fig. 2. Influence of agglomeration on loose  $\rho_L$  and tapped  $\rho_T$  bulk density  $\rho_T$ .

Z gęstością nasypową związana jest porowatość złoza. Pomiedzy porowatością a gęstością nasypową występuje odwrotna zależność. Im większa jest gęstość nasypowa tym porowatość złoza mniejsza. Wraz ze wzrastającym udziałem mleka w proszku w mieszaninie nieaglomerowanej porowatość złoza luźno usypanego i utrząsionego malała (rys. 3). Zastosowanie procesu aglomeracji powodowało zwiększenie porowatości złoza niezależnie od rodzaju zastosowanej cieczy nawilżającej. Aglomeracja za pomocą 50% wodnego roztworu cukru spowodowała nieznaczne zwiększenie porowatości aglomeratów, w których skład wchodziło mleko w proszku w porównaniu z pozostałymi aglomeratami utworzonymi za pomocą wody i 2% wodnego roztworu lecytyny (rys. 3).

Współczynnik Hausnera  $I_H$  jest wskaźnikiem sypkości materiałów w proszku i związany jest z gęstością nasypową luźną i utrząsioną. Współczynnik  $I_H$  poniżej 1,25 charakteryzuje badane materiały sypkie jako proszki o bardzo dobrej sypkości, swobodnie płynące. Badane modelowe sproszkowane odżywki dla dzieci przed i po proce-

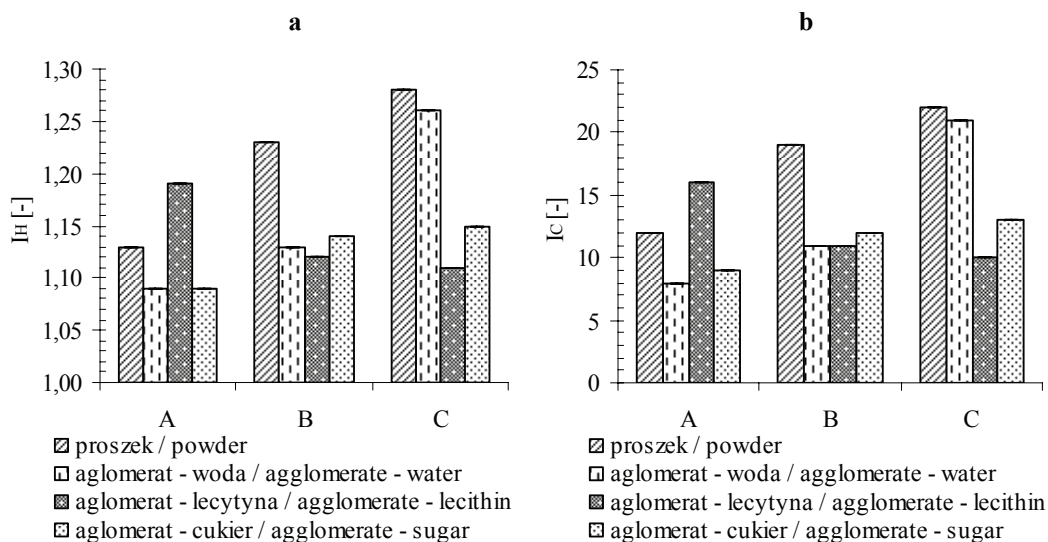


się aglomeracji charakteryzowały się bardzo dobrą sypkością, tj. współczynnikiem Hausnera poniżej wartości 1,25 (rys. 4). Jedynie mieszanka C przed i po aglomeracji wodą przekraczała tę wartość, co wskazuje, że materiał ten charakteryzował się słabą sypkością.



Rys. 3. Wpływ aglomeracji na porowatość złoża luźno usypanego  $\epsilon_L$  i utrzonego  $\epsilon_T$

Fig. 3. Influence of agglomeration on porosity loose  $\epsilon_L$  and tapped deposit  $\epsilon_T$



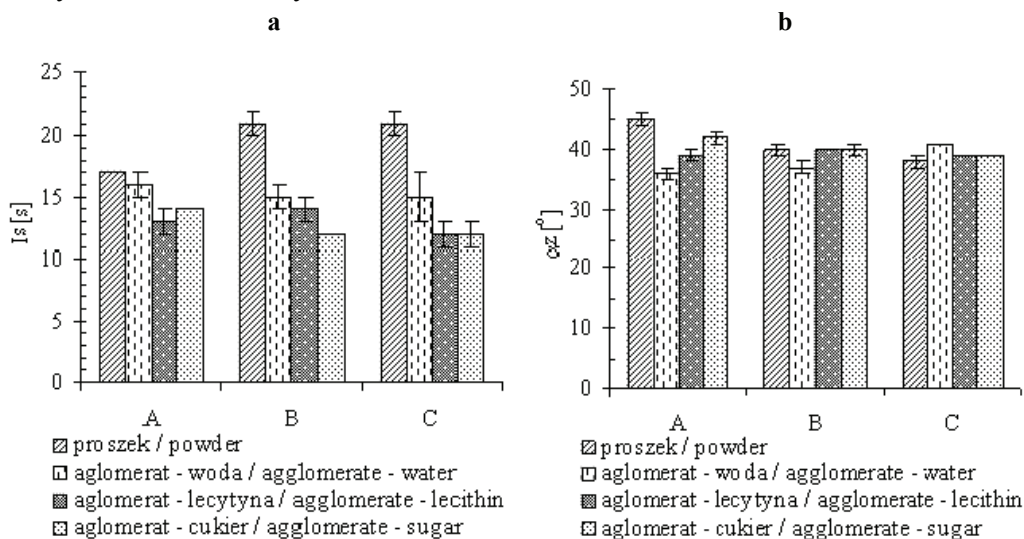
Rys. 4. Wpływ aglomeracji na współczynnik Hausnera  $I_H$  i indeks Carra  $I_C$ .

Fig. 4. Influence of agglomeration on Hausner ratio  $I_H$  and Carr index  $I_C$ .



Z gęstością nasypową luźną i utrzesioną związany jest kolejny wskaźnik sypkości – indeks Carra  $I_c$ . Wartość  $I_c$  poniżej 18% charakteryzuje proszki o bardzo dobrej sypkości, a  $I_c$  w przedziale 18-25%, jako proszki o dobrej sypkości. Badane modelowe sproszkowane odżywki dla dzieci przed i po aglomeracji na podstawie indeksu Carra charakteryzowały się dobrą i bardzo dobrą sypkością (rys. 4).

Sypkość badanych modelowych odżywek dla dzieci rozumiana jako czas wysypu  $I_s$  przez szczelinę określonej objętości proszku z obracającego się ze stałą prędkością cylindrycznego naczynia została przedstawiona na rys. 5 a. Badane modelowe odżywki w proszku na podstawie  $I_s$  charakteryzowały się dobrą sypkością. Mieszaniny aglomerowane, niezależnie od składu i rodzaju cieczy nawilżającej według tego wyróżnika wykazują bardzo dobrą sypkość, gdyż wysypują się przez szczelinę cylindrycznego naczynia w czasie krótszym niż 20 s.



Rys. 5. Wpływ aglomeracji na sypkość jako czas wysypu  $I_s$  i kąt nasypu  $\alpha_z$ .

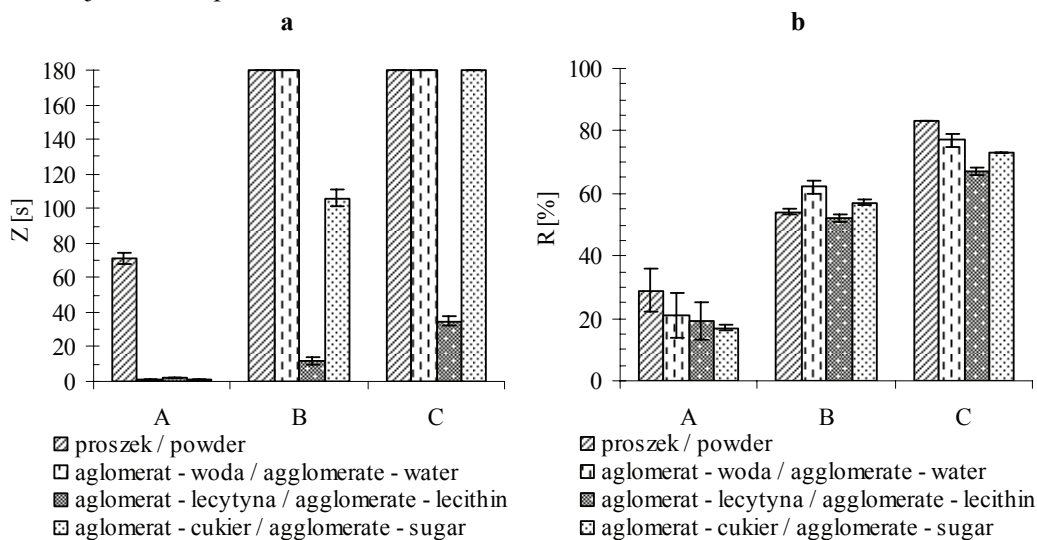
Fig. 5. Influence of agglomeration on flowability as a pouring time  $I_s$  and angle of repose  $\alpha_z$ .

Kąt nasypu  $\alpha_z$  jest również wskaźnikiem sypkości proszków (rys. 5b). Zastąpienie udziału kaszki ryżowej mlekiem w proszku w mieszaninie spowodowało wzrost kąta nasypu, a tym samym pogorszenie sypkości badanych modelowych odżywek dla dzieci w proszku. Kąt nasypu powyżej  $45^\circ$  charakteryzuje badane odżywki jako materiały o słabej sypkości mogące stwarzać problemy w obrocie tj. podczas mieszania, dozowania czy transportu [4].

Z odtwarzalnością proszku w cieczy związane są takie procesy, jak zwilżalność i rozpuszczalność (rys. 6a) [8]. Zwilżalność wyrażana jest w sekundach jako czas potrzebny do zatonięcia określonej objętości proszku pod swobodną powierzchnią cieczy.

Wraz z dodatkiem mleka w proszku w mieszaninie, zwilżalność badanych modelowych odżywek dla dzieci uległa zmniejszeniu. Aglomeracja mieszaniny A, niezależnie od zastosowanej cieczy nawilżającej, i mieszaniny B, z 2% wodnym roztworem lecytyny, spowodowała znaczne zmniejszenie czasu zwilżania poniżej 15 s, a tym samym nadanie tym produktom cechy instant.

Rozpuszczalność badanych materiałów w proszku, rozumianą jako szybkość rozpuszczania, przedstawiono na rys. 6 b. Zastąpienie udziału kaszki ryżowej mlekiem w proszku od 0 do 73% w odżywce powodowało znaczny wzrost rozpuszczalności. Aglomeracja badanych modelowych odżywek dla dzieci spowodowała nieznaczne zmniejszenie rozpuszczalności.



Rys. 6. Wpływ aglomeracji na zwilżalność Z i rozpuszczalność R.

Fig. 6. Influence of agglomeration on wettability Z and solubility R.

## Wnioski

1. Aglomeracja nawilżeniowa w złożu fluidalnym badanych modelowych odżywek dla dzieci spowodowała znaczne zwiększenie średniej średnicy cząstek i porowatości oraz umożliwiła uzyskanie aglomeratu o dobrej sypkości, obniżonej gęstości nasypowej, niezależnie od składu surowcowego i rodzaju zastosowanej cieczy nawilżającej.
2. Aglomerowane sproszkowane odżywki dla dzieci, niezależnie od zastosowanej cieczy nawilżającej, składu modelowej odżywki i upakowania złoża, według wyznaczonych wyróżników wykazały bardzo dobrą sypkość, charakteryzującą się współczynnikiem Hausnera mniejszym od 1,25, indeksem Carra mniejszym od 18 i czasem wysypu krótszym niż 20 s.

3. Zwiększanie udziału mleka w proszku w przedziale od 0 do 73% z równoczesnym zmniejszaniem kaszki ryżowej w zakresie od 73 do 0% wpływa na zmniejszanie średniej średnicy cząstek, zwiększanie gęstości nasypowej oraz polepszenie zwilżalności badanych modelowych odżywek dla dzieci.
4. Aglomeracja nawilżeniowa 2% wodnym roztworem lecytyny, jak i 50% wodnym roztworem cukru wpłynęła, w porównaniu z aglomeracją przy zastosowaniu wody jako cieczy nawilżającej, na zmniejszenie średniej średnicy cząstek i gęstości nasypowej oraz polepszenie sypkości i zwilżalności przy tendencji do zmniejszenia rozpuszczalności.
5. Aglomeracja sproszkowanych modelowych odżywek dla dzieci 2% wodnym roztworem lecytyny powodowała nabywanie właściwości instant przez utworzone aglomeraty, wpływając na znaczne polepszenie ich zwilżalności.

*Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2007–2009 jako projekt badawczy. Była ona prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Domian E., Bialik E.: Wybrane właściwości fizyczne soku jabłkowego w proszku. *Acta Agrophysica*. 2006, **8** (4), 803-814.
- [2] Domian E., Janowicz M., Kowalska H., Lenart A.: Sypkość białkowo-węglowodanowych mieszanin proszków spożywczych aglomerowanych w złożu fluidalnym. *Inż. Roln.* 2005, **11** (71), 59-67.
- [3] Fuchs M., Turchiuli, Bohin M., Cuvelier M.E., Ordonnaud, Peyrat-Maillard M.N., Dumoulin E.: Encapsulation of oil in powder using spray and fluidized bed agglomeration. *J. Food Engin.* 2006, **75**, 27-35.
- [4] Kowalska J., Lenart A.: Wpływ aglomeracji i powlekania na kinetykę sorpcji pary wodnej przez napój kakaowy w proszku. *Inż. Roln.* 2002, **4** (37), 72-79.
- [5] Shittu T.A., Lawal M.O.: Factors affecting instant properties of powdered cocoa beverages. *Food Chem.*, 2007, **100**, 91-98.
- [6] Smewing J.: Handling the powder problem. *Powder Handling and Processing*, 2002, **4** (14), 283-285.
- [7] Smolders K., Baeyens J.: A characterization of cohesive and free flowing powders. *Powder Handling and Processing*, 2005, **4** (17), 196-199.
- [8] Turchiuli Ch., Eloualia Z., El Mansouri N., Dumoulin E.: Fluidised bed agglomeration: Agglomerates shape and end-use properties. *Powder Technology*. 2005, **157**, 168-175.
- [9] Zbikowski Z., Żbikowska A.: Właściwości fizyczne i funkcjonalne proszków mlecznych. *Przegl. Mlecz.* 2007, **2**, 10-12.

**INFLUENCE OF AGGLOMERATION ON USEFUL PROPERTIES OF POWDERED MODEL NUTRIENTS FOR CHILDREN****S u m m a r y**

The aim of this study was investigation of influence of wet agglomeration at fluidized bed on useful properties of powdered model nutrients for children. Analysis of useful properties included: mean of particle size, bulk density, porosity, Hausner ratio, Carr index, flowability as a pouring time, angle of repose, wettability and solubility. Wet agglomeration of powdered model nutrients for children causes increase of diameter mean of particle size and porosity and it makes possible to obtain agglomerates with good flowability and reduced bulk density. Flowability of powdered agglomerated nutrients for children characterized Hausner ratio lower than 1.25, Carr index lower than 18 and pouring time shorter than 20 seconds.

**Key words:** agglomeration, food powders, nutrients for children, flowability ☒

SABINA KOKOSZKA, ANDRZEJ LENART

## WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE POWŁOK JADALNYCH SERWATKOWYCH

### Streszczenie

Powłoki jadalne produkowane są z naturalnie występujących polimerów, takich jak: białka, tłuszcze i polisacharydy. Mogą one pełnić funkcję ochronną produktów spożywczych poprzez zachowanie odpowiedniej ich jakości oraz wydłużenie okresu przydatności do spożycia.

Celem pracy było określenie wpływu składu surowcowego powłok wytworzonych na bazie białka serwatkowego na ich wybrane właściwości fizyczne. W pracy przedstawiono technologię otrzymywania powłok jadalnych na bazie białek serwatkowych z zastosowaniem glicerolu jako środka plastyfikującego. Wytworzone powłoki serwatkowe z roztworów o zawartości białka od 6 do 10% i glicerolu względem białka od 20 do 40% poddano badaniom. Wyznaczono izotermę sorpcji pary wodnej w przedziale aktywności wody od 0,0 do 0,9 oraz zbadano barwę powłok wyrażoną w postaci wyróżników barwy.

Przeprowadzone badania wykazały, że zmiana składu chemicznego poprzez zastosowanie różnych zawartości białka i glicerolu względem białka w powłokach sojowych wpływa na zmianę ich właściwości sorpcyjnych, zaś nie wpływa na barwę.

**Słowa kluczowe:** powłoka jadalna, izolat białek serwatkowych, glicerol, właściwości fizyczne

### Wprowadzenie

Zainteresowanie konsumentów żywnością o wysokiej jakości, długim okresie przechowywania oraz gotowej do spożycia sprzyja rozwojowi m.in. takich technologii, dzięki którym produkt nie zmienia w znacznym stopniu swoich naturalnych właściwości oraz wyglądu, ale jest lepiej chroniony. Do takich rozwiązań należą powłoki jadalne [1].

W celu wytworzenia powłok jadalnych należy użyć dwóch podstawowych składników: naturalnego polimeru zdolnego do utworzenia matrycy oraz plastyfikatora w celu uplastycznienia jej struktury [9]. Obecnie stosowane polimery to białka, węglowodany i tłuszcze oraz kombinacje tych materiałów [5].

---

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

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania powlekaniami żywności. Wytwarzane powłoki nie tylko mogą ograniczać migrację pary wodnej, tlenu, dwutlenku węgla, związków aromatycznych i lipidów, ale również są stosowane jako nośniki takich składników, jak: przeciwutleniacze, substancje konserwujące, aromatyczne, barwniki itp. Istnieją również warstwy poprawiające właściwości mechaniczne pokrytych nimi produktów [8]. Główną funkcją powłok jadalnych jest utrzymanie odpowiedniej jakości produktów, na które zostały naniesione [7].

Białka serwatkowe są produktami przemysłu mleczarskiego wytwarzanymi w dużych ilościach, które cechują się dobrymi właściwościami funkcjonalnymi, dlatego mogą być stosowane do wytwarzania powłok jadalnych [6].

Celem pracy było określenie wpływu składu surowcowego powłok wytworzonych z białek serwatkowych na ich wybrane właściwości fizyczne. W pracy przedstawiono technologię otrzymywania powłok jadalnych na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) z zastosowaniem glicerolu jako środka plastyfikującego. Przed zastosowaniem powłok sojowych na produkcie spożywcym istotne jest zbadanie ich właściwości fizycznych. W niniejszej pracy skupiono się na analizie właściwości sorpcyjnych oraz barwie. Wyznaczono izotermy sorpcji pary wodnej w przedziale aktywności wody od 0,0 do 0,9 oraz zbadano barwę powłok wyrażoną w postaci wyróżników barwy.

### **Material i metody badań**

W pracy przedstawiono technologię otrzymywania powłok jadalnych na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) z zastosowaniem glicerolu jako środka plastyfikującego. Sporządzono wodne roztwory powłokotwórcze o stężeniu białka (izolat białek serwatkowych BiPRO firmy Davisco Foods International, INC., USA, min. 95% białka w suchej masie) od 6 do 10% przy zastosowaniu kilkusekundowej homogenizacji. Glicerol dodawano jako plastyfikator w ilości od 20 do 40% względem białka, a pH roztworu zostało dostosowane do  $7 \pm 0,1$  za pomocą wodorotlenku sodu [7]. Stosując ciągle mieszanie, roztwory ogrzewano w temp. 80°C przez 30 min [2]. Szalki Petriego o średnicy 10 cm stanowiły podłoże, na które wylewano określoną ilość substancji. Powłoki suszono w temp. 25°C w ciągu 16 godz. w powietrzu o wilgotności względnej 40%. Powłoki przechowywano w środowisku o wilgotności względnej 50% przez 7 dni w temp. 25°C.

Wprowadzono następujące oznaczenia powłok serwatkowych:

- 6ibse30gl - 6% izolatu białek serwatkowych (6 g) + 30% glicerolu (1,8 g),
- 8ibse20gl – 8% izolatu białek serwatkowych (8 g) + 20% glicerolu (1,6 g),
- 8ibse30gl - 8% izolatu białek serwatkowych (8 g) + 30% glicerolu (2,4 g),
- 8ibse40gl - 8% izolatu białek serwatkowych (8 g) + 40% glicerolu (3,2 g),
- 10ibse30gl - 10% izolatu białek serwatkowych (10 g) + 30% glicerolu (3 g).

Przed naniesieniem powłok białkowych na produkt spożywczy istotne jest zbadanie ich właściwości fizycznych. W niniejszej pracy skupiono się na analizie właściwości sorpcyjnych oraz barwie.

Izotermy sorpcji pary wodnej zostały wyznaczone w celu uzyskania informacji, jak zachowują się powłoki serwatkowe w powietrzu o różnej wilgotności. Znajomość tych izoterm jest bardzo przydatna przy doborze powłok jadalnych do konkretnych produktów spożywczych oraz formy ich pakowania. Izotermy sorpcji pary wodnej wyznaczano metodą statyczno-eksykatorową w ciągu 3 miesięcy, w przedziale aktywności wody od 0,0 do 0,9.

Barwa powłok jadalnych jest ważnym elementem, ponieważ informuje czy ich zastosowanie na produkcie będzie wpływać na barwę i w jakim stopniu. Pomiar barwy wykonywano za pomocą kolorymetru firmy Minolta, typ CR-300. Pomiar prowadzono w systemie  $L^*a^*b^*$ . Ze względu na przezroczystość powłok białkowych i trudność w zmierzeniu barwy zastosowano wzorzec, który stanowiła biała powierzchnia (papier kredowy). Wzorzec barwy białej wykazał parametry  $L^*$  92,49,  $a^*$  1,25,  $b^*$  (-1,92). W celu interpretacji zmian barwy powłok białkowych zastosowano następujące bezwymiarowe wyróżniki barwy [8]:

- Bezwzględna różnica barwy:  $\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2}$
- Nasylenie barwy:  $\Delta C = \sqrt{(a^* - a)^2 + (b^* - b)^2}$
- Indeks nasycenia:  $SI = \sqrt{a^2 + b^2}$

gdzie:  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  – pomiary wzorca;  $L$ ,  $a$ ,  $b$  – pomiary rzeczywiste powłok.

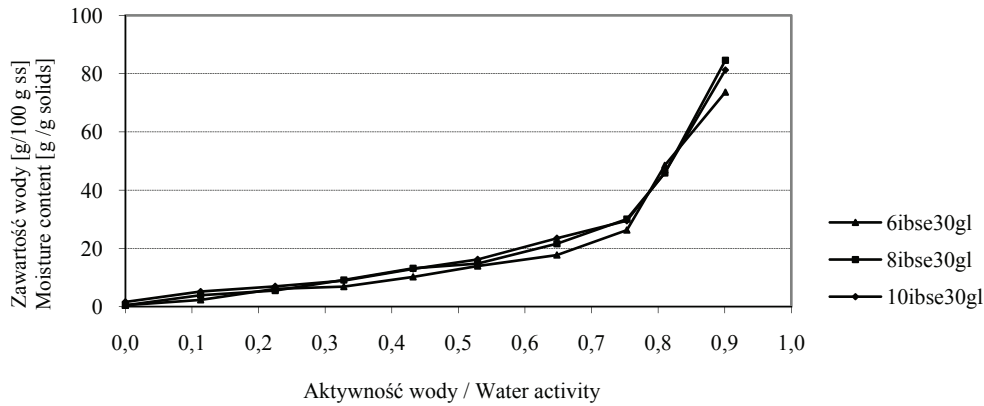
W opracowaniu wyników posłużono się kryterium przyjętym przez Międzynarodową Komisję Oświeceniową. Według tego kryterium sklasyfikowane są bezwzględne różnice barw  $\Delta E$ , adekwatne do postrzegania barw przez człowieka. Przyjęto, że bezwzględne różnice barw pomiędzy 0 i 2 są nierozpoznawalne, od 2 do 3,5 rozpoznawalne przez niedoświadczonego obserwatora, natomiast powyżej 3,5 obserwuje się wyraźne odchylenie barwy [4].

Wszystkie doświadczenia przeprowadzono w dwóch powtórzeniach. Analizę statystyczną wykonano w programie StatGraphics 4.1. Istotność różnic między wartościami średnimi analizowano wieloczynnikowym testem porównawczym na poziomie istotności 95%

## Wyniki i dyskusja

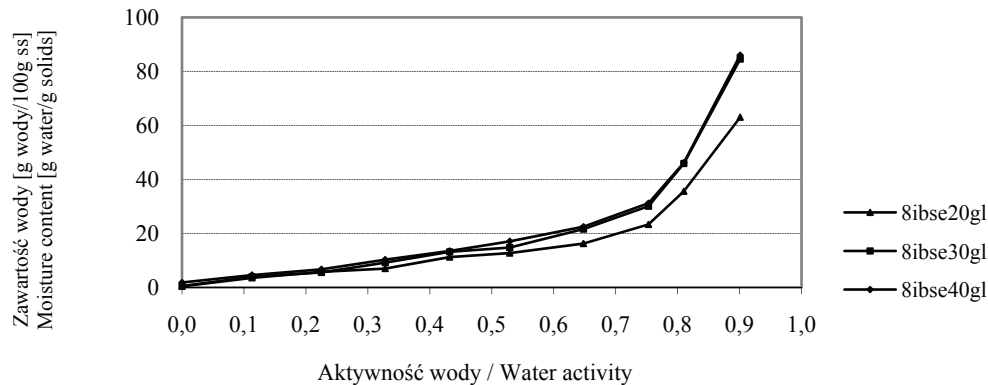
Na rys. 1. przedstawiono izotermy sorpcji pary wodnej przez powłoki z białka serwatkowego o zawartości białka 6, 8 i 10%, przy jednakowym poziomie plastyfikatora względem białka wynoszącym 30%. Uzyskano krzywe o podobnym przebiegu i równomiernym przyroście równowagowej zawartości wody. Krzywe trzech porów-

nywanych powłok serwatkowych przecinają się ze sobą, nie obserwuje się widocznego wpływu zawartości białka w powłoce na przebieg izoterm sorpcji pary wodnej.



Rys. 1. Izotermie sorpcji pary wodnej powłok serwatkowych o zawartości: 6, 8 lub 10% białka i 30% plastyfikatora.

Fig. 1. Sorption isotherm curves of whey protein coatings of protein content on 6, 8 or 10% level and plasticizer content 30%.



Rys. 2. Izotermie sorpcji pary wodnej powłok serwatkowych o zawartości: 8% białka i 20, 30 lub 40% glicerolu.

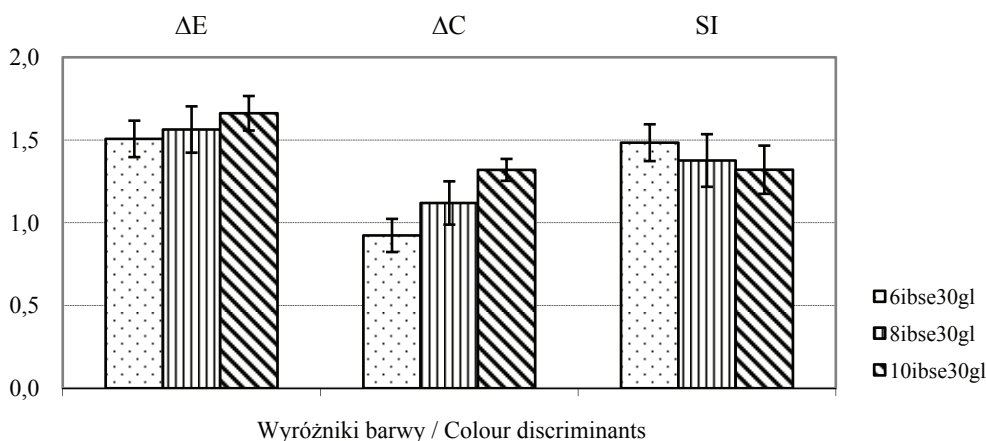
Fig. 2. Sorption isotherm curves of whey protein coatings of protein content 8% and plasticizer content on 20, 30 or 40%.

Porównując izotermie sorpcji pary wodnej powłok z białek serwatkowych o jednakowym, 8% poziomie dodatku WPI i różnej zawartości plastyfikatora, wynoszącej 20, 30 i 40%, zaobserwowano pewne prawidłowości (rys. 2). Stwierdzono podobieństwo w obrębie krzywych izoterm sorpcji pary wodnej analizowanych powłok serwatkowych. Przy aktywnościach wody poniżej 0,6 przyrost równowagowej zawartości wody był powolny, a przy wyższych aktywnościach był znacznie szybszy.



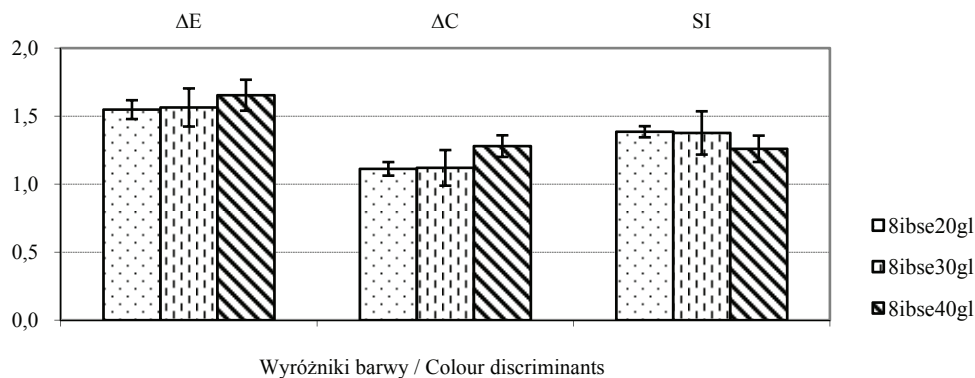
Krzywa odpowiadająca sorpcji pary wodnej przez powłokę otrzymaną z białek serwatkowych o najmniejszym, 20% udziale glicerolu względem białka znalazła się najniżej na wykresie (rys. 2), co wskazuje na mniejszą szybkość chłonięcia pary wodnej przez tę powłokę od aktywności wody 0,2. Krzywe powłok o udziale glicerolu 30 i 40% względem białka nakładają się na siebie. Wynika z tego, że zawartość plastyfikatora w powłokach serwatkowych wpłynęła na proces adsorpcji pary wodnej. Wszystkie analizowane krzywe izoterm sorpcji powłok serwatkowych wykazują przebieg najbardziej zbliżony do typu II według klasyfikacji BET [10].

Na rys. 3. przedstawiono wpływ zawartości białka w powłokach serwatkowych na wyróżniki barwy. Wartości bezwzględnej różnicy barwy  $\Delta E$ , nasycenia barwy  $\Delta C$  i indeksu nasycenia SI zmieniały się w zależności od zawartości białka w powłokach serwatkowych. Powłoka o największej zawartości białka (10%) wykazała największą wartość bezwzględnej różnicy barwy  $\Delta E = 1,7$ , najmniejszą zaś (1,5) powłoka o najmniejszym, 6% udziale białka.



Rys. 3. Wyróżniki barwy powłok serwatkowych o zawartości: 6, 8 lub 10% białka i 30% plastyfikatora.  
Fig. 3. Colour discriminants of whey protein coatings of protein content on 6, 8 or 10% level and plasticizer content 30%.

Wartość nasycenia barwy  $\Delta C$  wahała się od 0,9, w przypadku powłoki o najmniejszym udziale białka, do 1,3 w odniesieniu do powłoki o największej zawartości białka (rys. 3). Rozpatrując wartości indeksu nasycenia SI, powłoka o najmniejszej, 6% zawartości białka wykazała najwyższą wartość 1,5, natomiast powłoka o największej, 10% zawartości WPI najniższą, wynoszącą 1,3. Analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic między wartościami średnimi ( $P > 0,05$ ), zatem zawartość białka w powłokach serwatkowych nie wpływała na bezwzględną różnicę barwy, nasycenie barwy oraz indeks nasycenia.



Rys. 4. Wyróżniki barwy powłok serwatkowych o zawartości: 8% białka i 20, 30 lub 40% glicerolu.  
 Fig. 4. Colour discriminants of whey protein coatings of protein content 8% and plasticizer content on 20, 30 or 40%.

Na rys. 4. przedstawiono wartości wyróżników barwy powłok serwatkowych przy jednakowej, 8% zawartości białka oraz różnej zawartości glicerolu względem białka tj. 20, 30 i 40%). Najwyższą wartość bezwzględnej różnicy barwy  $\Delta E$  1,7 wykazała powłoka o największym udziale glicerolu względem białka, dwie pozostałe powłoki, o zawartości glicerolu 20 i 30% względem białka, wykazały wartości wyróżnika na tym samym poziomie 1,6. Podobnie, najwyższą wartość nasycenia barwy  $\Delta C$  1,3 wykazała powłoka najzasobniejsza w glicerol, a dwie pozostałe powłoki wykazały wartości wyróżnika na tym samym poziomie równym 1,1. Powłoka o największym udziale glicerolu względem białka wykazała najniższą wartość indeksu nasycenia SI 1,3, pozostałe powłoki o zawartościach glicerolu względem białka 20 i 30% osiągnęły wartości wyróżnika na tym samym poziomie 1,4. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic, ( $P > 0,05$ ), zatem ilość plastyfikatora względem białka w powłokach serwatkowych nie wpłynęła na bezwzględną różnicę barwy, nasycenie barwy oraz indeks nasycenia.

Analiza barwy powłok serwatkowych pozwoliła uzyskać informacje o samych powłokach, jak i o ich wpływie na powleczone produkty. Glibowski [3] zastosował powłoki na bazie białek serwatkowych w celu hamowania ciemnienia enzymatycznego. Powleczone powłokami plastry jabłek, ziemniaków i selera zostały poddane analizie zmian barwy w czasie. Badanie wykazało, że stosowanie powłok z białek serwatkowych okazało się skuteczne w hamowaniu ciemnienia enzymatycznego w przypadku jabłka i ziemniaka.

## Wnioski

1. Izotermy sorpcji pary wodnej powłok serwatkowych można zakwalifikować do typu II według klasyfikacji BET; są one charakterystyczne dla materiałów bogatych w białko.
2. Zawartość białka serwatkowego w roztworach powłokotwórczych w zakresie 6, 8 i 10% nie ma wpływu na przebieg izoterm sorpcji pary wodnej przez wytworzone powłoki; zawartość glicerolu na poziomie 20, 30 i 40% w stosunku do masy białek wpływa istotnie na adsorpcję pary wodnej.
3. Zawartość białka, jak i glicerolu w badanym zakresie stężeń nie wpływa na barwę powłok serwatkowych przedstawioną w postaci wyróżników barwy; bezwzględnej różnicy barwy, nasycenia barwy i indeksu nasycenia. Natomiast wystąpiły tendencje zmian barwy wraz ze zmianą składu surowcowego powłok serwatkowych.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

## Literatura

- [1] Buonocore G.G., Del Nobile M.A., di Martino C., Gambacorta G., La Notte E., Nicolais L.: Modelling the water transport properties of casein-based edible coating. *J. Food Eng.*, 2003, **60**, 99-106.
- [2] Coupland J.N., Shaw N.B., Monahan F.J., O’Riordan E.D., O’Sullivan M.: Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. *J. Food Eng.*, 2000, **43**, 25-30.
- [3] Glibowski P.: Inhibicja brązowienia enzymatycznego przez zastosowanie białek serwatkowych. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, Scientia Alimentaria*, 2005, **246 (4)**, 107-118.
- [4] Anonim: Barwa i jakość. Heidelberg Druckmaschinen AG, Kurfursten-Anlage, 1999, 52-60.
- [5] Hong S.I., Krochta J.M.: Oxygen barrier properties of whey protein isolate coatings on polypropylene films. *J. Food Sci.*, 2003, **68 (1)**, 224-228.
- [6] Kaya S., Kaya A.: Microwave drying effects on properties of whey protein isolate edible films. *J. Food Eng.*, 2000, **43**, 91-96.
- [7] Longares A., Monahan E.D., O’Riordan E.D., O’Sullivan M.: Physical properties and sensory evaluation of WPI films of varying thickness. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 2004, **37**, 545-550.
- [8] Pranoto Y., Salokhe V.M., Rakshit S.K.: Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. *Food Research Inter.*, 2005, **38**, 267-272.
- [9] Shaw N.B., Monahan F.J., O’Riordan E.D., O’Sullivan M.: Physical properties of WPI films plasticized with glycerol, xylitol, or sorbitol. *J. Food Sci.*, 2002, **67 (1)**, 164-167.
- [10] Brunauer S., Emmet P.H., Teller E.: Adsorption of gases in multimolecular layers, *J. Am. Chem. Soc.*, 1938, **60**, 309-316.

**SELECTED PHYSICAL PROPERTIES OF WHEY PROTEIN BASED EDIBLE COATINGS****S u m m a r y**

Edible and biodegradable coatings obtained from naturally occurring polymers, such as polysaccharides, proteins and lipids. They may have a protective function of food products by improving quality and to extend shelf-life of food products.

The aim of the study was to evaluate of influence of ingredients composition of coatings produces with whey protein on its selected physical features. The study presents the technology of obtaining edible coatings from whey protein with the use of glycerol as a plasticizer. Whey coatings containing from 6 to 10% of protein with different amounts of glycerol as a plasticizer 20 to 40%. Sorption isotherms are specified at water activity between 0,0 and 0,9. The study also contains colour measurement.

The research proofs that chemical composition change through usage of different protein and glicerol amounts in whey coatings determined sorption properties and did not affect colour measurement.

**Key words:** edible coating, whey proteins, glycerol, physical properties ☒

URSZULA ZŁOTEK, URSZULA GAWLIK-DZIKI

## WPLYW KWAŚNEJ HYDROLIZY NA WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE ALKOHOLOWYCH EKSTRAKTÓW WYBRANYCH PRZYPRAW

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu zmiennych warunków pH (analogicznych do panujących w przewodzie pokarmowym człowieka) na zawartość związków fenolowych i aktywność przeciwutleniającą ekstraktów wybranych przypraw.

Materiałem badawczym były suszone przyprawy: cynamon (*Cinnamomum verum*), estragon (*Artemisia dranunculus*) i bazylija (*Ocimum basilicum*). Z przypraw sporządzono ekstrakty metanolowe, które poddano hydrolizie w zmiennych warunkach pH, symulujących warunki panujące w przewodzie pokarmowym. W próbach przed i po trawieniu oznaczono aktywność przeciwrodnikową, zdolność do chelatowania metali, siłę redukcji oraz zdolność do hamowania autooksydacji kwasu linolowego. Przeprowadzono również jakościową i ilościową analizę związków fenolowych techniką HPLC.

Najwyższą aktywność przeciwrodnikową wykazał ekstrakt cynamonu (92,48%), ekstrakty pozostałych przypraw charakteryzowały się dużo niższą zdolnością do neutralizacji wolnych rodników DPPH (od 13,53 do 29,00%). Zmienne warunki pH spowodowały wzrost zdolności do chelatowania we wszystkich badanych próbach. Trawienie w symulowanym układzie *in vivo* przyczyniło się również do wzrostu zdolności do hamowania autooksydacji kwasu linolowego. Przy określaniu zdolności do redukcji zaobserwowano tendencję odwrotną – trawienie *in vitro* spowodowało zmniejszenie tej zdolności we wszystkich badanych przyprawach.

**Słowa kluczowe:** cynamon, estragon, bazylija, związki fenolowe, aktywność przeciwutleniająca

### Wprowadzenie

Żywność pochodzenia roślinnego odgrywa w żywieniu człowieka istotną rolę, ponieważ stanowi źródło metabolitów wtórnych o specyficznym oddziaływaniu na procesy fizjologiczne. W tej grupie bardzo popularne są rośliny przyprawowe, które dodawane do posiłków nie tylko zwiększają ich atrakcyjność sensoryczną, ale wpływają też na prozdrowotne właściwości pożywienia [5]. Przyprawy są bogatym źródłem

różnych klas związków biologicznie aktywnych, w tym polifenoli, głównie flawonoidów wykazujących szeroko udokumentowane właściwości przeciwutleniające [7, 18] i przeciwdziałające chorobom cywilizacyjnym [15]. Kanner i Lapidot [10] sugerują, że ludzki płyn gastryczny jest środowiskiem wzmagającym peroksydację związków pochodzących z surowców roślinnych. Mechanizm działania wielu składników przypraw poznano na poziomie molekularnym, niewiele jest jednak doniesień na temat interakcji pomiędzy nimi a innymi składnikami żywności, przemian jakim podlegają podczas produkcji i przechowywania żywności oraz ich biodostępności.

Celem pracy było określenie wpływu zmiennych warunków pH (analogicznych do panujących w przewodzie pokarmowym człowieka) na zawartość związków fenolowych i aktywność przeciwutleniającą ekstraktów wybranych przypraw.

### **Material i metody badań**

Materiałem badawczym były suszone przyprawy dostępne na rynku: cynamon (*Cinnamomum verum*), estragon (*Artemisia dranunculus*) i bazylija (*Ocimum basilicum*). Naważki w ilości 1 g ekstrahowano wrzącym metanolem (100 ml). Następnie 50 ml ekstraktu przenoszono ilościowo do kolby stożkowej, zakwaszono 5M HCl do pH 2 i inkubowano przez 60 min wytrząsając (bez dostępu światła i tlenu) w temp. 37°C. Po tym czasie zobojętniano 0,1M NaOH do pH 7 i kontynuowano inkubację przez 120 min. Z uwagi na śladową zawartość białek nie zastosowano enzymów trawiennych, takich jak pepsyna i pankreatyna. W próbach przed i po hydrolizie oznaczano aktywność przeciwrodnikową z zastosowaniem trwałego wolnego rodnika DPPH [2], zdolność do chelatowania metali metodą Guo i wsp. [6], siłę redukcji metodą Oyaizu [17] oraz zdolność do hamowania autooksydacji kwasu linolowego metodą Lingnerta i wsp. [14].

Określano także całkowitą zawartość polifenoli (reakcja z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a [23]) i wyrażano jako ekwiwalent kwasu galusowego (mg GAE/ml). Sumę flawonoidów oznaczano metodą Lamaisona [1] i wyrażano jako ekwiwalent kwercetyny (mg QE/ml). Przeprowadzono również jakościową i ilościową analizę związków fenolowych w badanych ekstraktach techniką HPLC wg procedury opisanej przez Li i wsp. [13] w niewielkiej modyfikacji własnej. Rozdział chromatograficzny przeprowadzono przy użyciu chromatografu Varian z detektorem Pro star 325 UV-Vis, w kolumnie Varian ChromSpher C18 (25 mm x 4,6 mm). Zastosowano nieliniowy gradient stężeń w układzie: 1% kwas octowy (A) – 100% metanol (B), przy przepływie 0,8 ml/min. Rozdział prowadzono w gradiencie: 0 min, 5% B; 5 min, 5% B; 15 min, 15% B; 30 min, 30% B; 40 min, 35% B; 50 min, 70% B; 55 min, 100% B. Do identyfikacji związków fenolowych użyto roztworów wzorcowych, a oznaczenie wykonywano poprzez pomiar absorbancji przy  $\lambda = 290$  nm. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

## Wyniki i dyskusja

Ekstrakty badanych przypraw charakteryzowały się zbliżoną zawartością związków fenolowych, wynoszącą od 0,54 mg/ml (estragon) do 0,70 mg/ml (cynamon). Trawienie *in vitro* spowodowało wzrost całkowitej zawartości związków fenolowych we wszystkich próbach. Tendencja ta wystąpiła zwłaszcza w przypadku ekstraktu z cynamonu, a w najmniejszym stopniu – w przypadku ekstraktu z bazylii (tab. 1).

Tabela 1

Wyniki jakościowej i ilościowej analizy ekstraktów przypraw niepoddanych i poddanych trawieniu.  
Results of the qualitative and quantitative analyses of spice extracts prior to and after the digestion process.

Składnik Compound	Ekstrakty niepoddane trawieniu [µg/ml ekstraktu] Extracts prior to digestion [µg/ml extract]				Ekstrakty po trawieniu [µg/ml ekstraktu] Extracts after the digestion [µg/ml extract]		
	RT	cynamon cinnamon	estragon tarragon	bazyliia basil	cynamon cinnamon	estragon tarragon	bazyliia basil
Kwas kawowy Caffeic acid	28,00	2,00±0,01	0,33±0,01	1,56±0,48	0,00	0,41±0,03	0,17±0,08
Kwas ferulowy Ferulic acid	39,43	0,14±0,01	0,00	0,20±0,05	0,05±0,001	0,00	0,00
Kwas synapinowy Sinapic acid	39,38	0,53±0,01	0,00	0,81±0,26	0,17±0,01	0,11±0,01	0,17±0,02
Kwas salicylowy Salicylic acid	46,41	0,32±0,005	2,20±0,32	1,21±0,36	0,64±0,54	0,74±0,21	0,77±0,25
Kwas t-cynamonowy T-cinnamic acid	53,07	63,96±0,51	0,62±0,07	0,16±0,03	8,72±0,81	0,59±0,08	0,35±0,06
Daidzeina Daidzein	51,55	0,00	0,00	2,04±0,61	0,00	1,36±0,41	0,00
Kwercetyna Quercetin	52,97	0,59±0,01	0,00	61,09±0,74	0,00	0,00	0,34±0,01
Kempferol Kaempferol	54,33	84,68±0,56	0,10±0,005	0,56±0,09	0,00	0,00	6,60±0,31
Całkowita zawartość związków fenolowych [mg GAE/ml] Total content of phenolic compounds [mg GAE/ml]		0,70±0,06	0,54±0,06	0,64±0,02	8,05±0,08	1,42±0,16	0,72±0,07
Całkowita zawartość flawonoidów [mg QE/ml] Total content of flavonoids [mg QE/ml]		1,27±0,53	0,71±0,15	0,41±0,02	0,19±0,05	0,58±0,14	0,36±0,01

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie i odchylenia standardowe / In Tab., the mean values and standard deviations are show.

Największą zawartością flawonoidów charakteryzował się niehydrolizowany ekstrakt z cynamonu, najmniejszą – ekstrakt z bazylii (tab. 1). Po kwaśnej hydrolizie i ponownej alkalizacji badanych ekstraktów zawartość tych związków zmniejszyła się. Największe straty zaobserwowano w przypadku cynamonu, najmniejsze zaś w przypadku ekstraktu z bazylii. Justesen i Knutsen [8], analizując skład ekstraktów poddanych kwaśnej hydrolizie, stwierdziły, że w ekstrakcie z estragonu znajdowała się kwercetyna, kempferol, luteolina i izoramnetyna, natomiast w niniejszej pracy potwierdzono jedynie obecność kempferolu (w próbie bez hydrolizy), natomiast w ekstrakcie po trawieniu zidentyfikowano tylko daidzeinę. Cytowane autorki nie potwierdziły występowania flawonoidów w ekstrakcie z bazylii, natomiast wyniki własne wskazują na obecność w ekstrakcie tej przyprawy kwercetyny, kempferolu i daidzeiny.

Kosar i wsp. [12], badając wpływ pH na skład i aktywność metanolowych ekstraktów przypraw, stwierdzili, że kwaśna hydroliza spowodowała znaczący wzrost zawartości polifenoli w ekstraktach z tymianku, szalwi, rozmarynu i oregano, natomiast w przypadku ekstraktu z bazylii odnotowano spadek zawartości związków fenolowych, jednak w cytowanej pracy nie przeprowadzono ponownej alkalizacji. Rezultaty otrzymane w niniejszej pracy wykazały, że związki fenolowe uwolnione podczas trawienia w warunkach zbliżonych do panujących w żołądku są stabilne w alkalicznym pH (tab. 1). Record i Lane [20], badając wpływ trawienia *in vitro* na skład i aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z czarnej i zielonej herbaty, stwierdzili, że zawartość związków fenolowych wzrastała po kwaśnej hydrolizie (w warunkach symulujących panujące w żołądku), natomiast malała w miarę upływu czasu inkubacji w pH = 7,5. Autorzy tłumaczą to możliwością powstawania dimerów, które są niestabilne w alkalicznym pH.

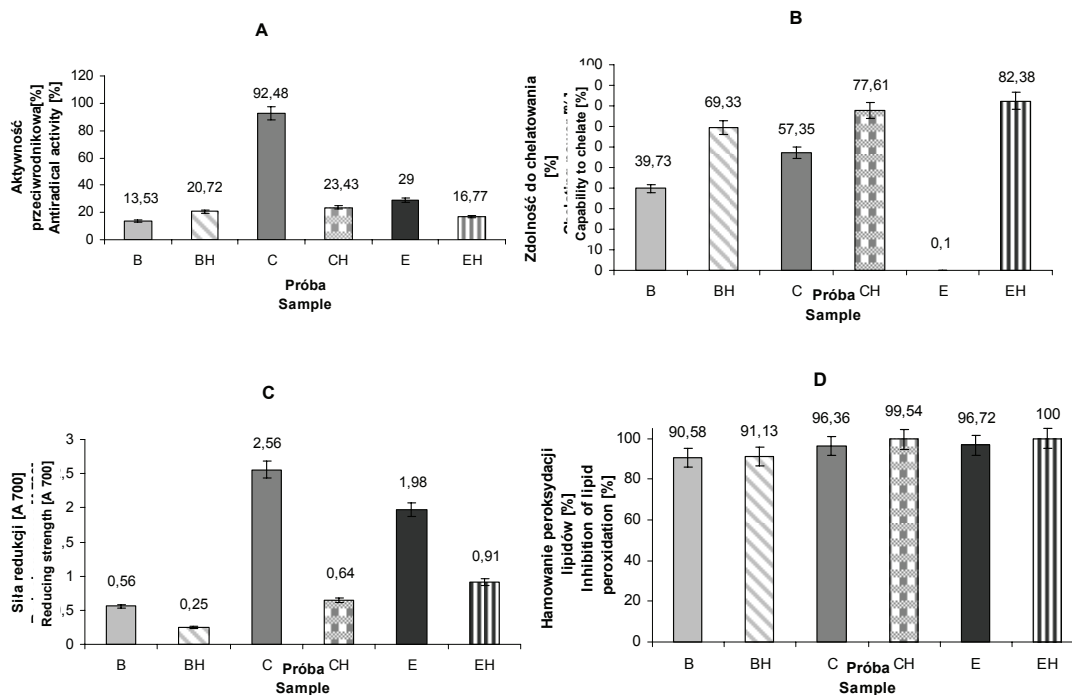
Nietrawione ekstrakty z przypraw wykazywały średnią zdolność do neutralizacji wolnych rodników DPPH z wyjątkiem ekstraktu z cynamonu, którego aktywność była najwyższa i wynosiła ponad 90%. Trawienie spowodowało zmniejszenie aktywności prób z cynamonu i estragonu, podczas gdy aktywność ekstraktu bazylii wzrosła (rys. 1A).

Przed trawieniem ekstrakt estragonu wykazywał bardzo niską zdolność do chelataowania w porównaniu z aktywnością pozostałych prób, która była znacznie wyższa i wynosiła 39,73% w przypadku bazylii i 57,35% - cynamonu. Trawienie spowodowało wzrost aktywności wszystkich prób, przy czym najwyższą aktywność nadal wykazał ekstrakt estragonu (rys.1B).

Spośród nietrawionych ekstraktów najwyższą zdolnością do redukcji charakteryzowała się próba z cynamonu (2,56). Mathew i Abraham [16], analizując aktywność metanolowego ekstraktu cynamonu, stwierdzili, że zdolność do redukcji była wprost proporcjonalnie zależna od stężenia ekstraktu. Aktywność pozostałych prób była zbliżona i wynosiła około 0,64. Trawienie spowodowało zmniejszenie aktywności wszyst-



kich prób. Największe zmniejszenie aktywności zaobserwowano w przypadku próby z cynamonu (rys. 1C). W badaniach Kosar i wsp. [12] również odnotowano zmniejszenie aktywności ekstraktu z bazylii po kwaśnej hydrolizie, podczas gdy aktywność pozostałych prób wzrosła. Zaznaczyć jednak należy, że cytowani autorzy nie alkalizowali ponownie analizowanych prób.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

B – bazylia / basil; BH – bazylia po hydrolizie / basil after the hydrolysis; C – cynamon / cinnamon, CH – cynamon po hydrolizie / cinnamon after the hydrolysis; E – estragon / tarragon, EH – estragon po hydrolizie / tarragon after the hydrolysis.

Rys. 1. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów badanych przypraw: aktywność przeciwnokowa (A), zdolność do chelatowania (B), siła redukcji (C), inhibicja autooksydacji lipidów (D).

Fig. 1. Antioxidant activity of spice extracts studied: antiradical activity (A), capability to chelate (B), iron reduction strength (C), and inhibition of the lipid auto-oxidation (D).

Wszystkie badane ekstrakty wykazały ponad 90% zdolność do hamowania peroksydacji lipidów. Trawienie spowodowało wzrost aktywności wszystkich ekstraktów, przy czym w najmniejszym stopniu dotyczyło to ekstraktu z bazylii (rys.1D). Mathew i Abraham [16] wykazali, że ekstrakt uzyskany z cynamonu przy użyciu 50% metanolu bardzo skutecznie hamował samoutlenianie kwasu linolowego (ponad 80% po 24 h

inkubacji). Podobnie Sobhan i Akhilender Naidu [22] potwierdzili wysoką skuteczność metanolowego ekstraktu z cynamonu.

Powszechnie uważa się, że w celu określenia potencjału przeciwutleniającego konieczne jest, oprócz zastosowania wielu metod oznaczania aktywności przeciwutleniającej, uwzględnienie zawartości i rodzaju związków fenolowych. Wykonano wiele prac mających na celu określenie zależności pomiędzy strukturą związków fenolowych a aktywnością przeciwutleniającą, ale zależności te nie zostały w pełni wyjaśnione [3, 21]. Gazzani i wsp. [4] oraz Kähkönen i wsp. [9] nie stwierdzili żadnej korelacji pomiędzy zawartością związków fenolowych a aktywnością przeciwutleniającą ekstraktów roślin. Według nich, różne związki fenolowe powodują odmienne reakcje przy oznaczaniu metodą Folina-Ciocalteu, więc całkowita zawartość związków fenolowych nie może być uważana za wyznacznik aktywności przeciwutleniającej danego ekstraktu. W niniejszej pracy stwierdzono występowanie silnej dodatniej korelacji pomiędzy zawartością flawonoidów a zdolnością przeciwrodnikową oraz zdolnością do redukcji ( $R$  wynosił, odpowiednio, 0,76 i 0,82), nie stwierdzono natomiast zależności pomiędzy całkowitą zawartością związków fenolowych a aktywnością przeciwutleniającą niezależnie od metody jej oznaczania. Wielu badaczy wskazuje na istnienie silnej zależności pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą a metodą używaną do jej oznaczenia [19, 24]. Kaur i Kapoor [11] uznali za bardziej uzasadnione określanie właściwości przeciwutleniających warzyw przy zastosowaniu rozmaitych metod niż bazowanie na wsynikach uzyskanych przy zastosowaniu tylko jednego sposobu ich określania. Również wyniki uzyskane w niniejszej pracy wskazują na różnorodność mechanizmów działania przeciwutleniaczy zawartych w badanym surowcu.

## Wnioski

1. Hydroliza *in vitro* spowodowała wzrost zawartości polifenoli i zmniejszenie zawartości flawonoidów we wszystkich badanych ekstraktach.
2. Zdolność do chelatowania jonów żelaza(II) oraz zdolność do hamowania samoutleniania kwasu linolowego we wszystkich badanych ekstraktach była wyższa po hydrolizie, natomiast zdolność do redukcji była wyższa przed hydrolizą *in vitro*.
3. Ekstrakty z cynamonu i estragonu poddane hydrolizie *in vitro* wykazywały znacznie niższą zdolność do neutralizacji stabilnych rodników DPPH niż ekstrakty nie-trawione.
4. Stwierdzono istnienie dodatniej korelacji pomiędzy zawartością flawonoidów w badanych ekstraktach a ich aktywnością przeciwrodnikową oraz zdolnością do redukcji.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Bohorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vaseur 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)**, 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] Cuvelier M.E., Rihard H., Berset C.: Comparison of the antioxidative activity of some-acid-phenols-structure activity relationship. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1992, **56**, 324.
- [4] Gazzani G., Papetti A., Massolini G., Daglia M.: Anti- and prooxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and effect of thermal treatment. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 4118-4122.
- [5] Góra J.: Hedonistyczne i zdrowotne aspekty aromatów spożywczych i przypraw. *Magazyn Przem. Spoż.*, 2000, **3 (7)**, 23-28.
- [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] Hinneburg I., Dorman H. J. D., Hiltunen R.: Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem.*, 2006, **97**, 122-129.
- [8] Justesen U., Knutsen P.: Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. *Food Chem.*, 2001, **73**, 245-250.
- [9] Kähkönen M.P., Hopia A.T., Vuorela H.J., Rauha J.-P., Pihlaja K., Kujala T.S.: Heinonen M.: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3954-3962.
- [10] Kanner J., Lapidot T.: The stomach as a bioreactor: dietary lipid peroxidation in the gastric fluid and the effects of plant-derived antioxidants. *Free Rad. Biol. Med.*, 2001, **31(11)**, 1388-1395.
- [11] Kaur C., Kapoor H.C.: Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2002, **37**, 153-161.
- [12] Koşar M., Dorman H. J. D., Hiltunen R.: Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food Chem.*, 2005, **91**, 525-533.
- [13] Li W, Shan F, Sun S, Corke H, Beta T. Free radical scavenging properties and phenolic content of chinese black-grained wheat. *J Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 8533-8536.
- [14] Lingnert H., Vallentinn K., Eriksson C. E.: Measured of antioxidative effect in model system. *J. Food Proc.Preserv.*, 1979, **3 (87)**, 103.
- [15] Małolepsza U., Urbanek H.: Flawonoidy roślinne jako związki biochemicznie czynne. *Wiadomości Botaniczne*, 2000, **44 (3/4)**, 27-37.
- [16] Mathew S., Abraham T. E.: Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extract, through various in vitro models. *Food Chem.*, 2006, **94**, 520-528.
- [17] Oyaizu M.: Studium on products of brownings reaction – Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap. J Nutr.*, 1986, **44**, 307-315.
- [18] Peter K. V.: Handbook of herbs and spices. Published by Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Abington, 2001.
- [19] Peterson D.M., Emons C.L., Hibbs A.: Phenolic antioxidants and antioxidant activity in pearling fractions of oat groats. *J. Cereal Sci.*, 2001, **25**, 97-103.
- [20] Record I. R., Lane J.M.: Simulated intestinal digestion of green and black teas. *Food Chem.*, 2001, **73**, 481-486.
- [21] Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G.: Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, 1996, **20 (7)**, 933-956.

- [22] Shobana S., Akhilender Naidu K.: Antioxidant activity of selected Indian spices. Prostaglandins, Leukotrienes and essential fatty acids, 2000, **62** (2), 107-110.
- [23] Singleton V. L., Rossi J. A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic., 1965, **16**, 144-158.
- [24] Von Gadow A., Joubert E., Hansmann C.F.: Comparison of the antioxidant activity of Aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*),  $\alpha$ -tocopherols, BHT and BHA., J. Agric. Food Chem., 1997, **45** (3), 632-638.

### EFFECT OF ACIDIC HYDROLYSIS ON THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF ALCOHOLIC EXTRACTS FROM THE SELECTED SPICES

#### S u m m a r y

The objective of the research was to determine the effect of varying pH conditions (analogous to those within the human digestive tract) on the content of phenolic compounds and on the antioxidant activity of extracts from some selected spices.

The research material consisted of the following dried spices: cinnamon (*Cinnamomum verum*), tarragon (*Artemisia dranunculus*), and basil (*Ocimum basilicum*). From those species, methanol extracts were made and hydrolyzed under the varying pH conditions, which simulated the conditions within the human digestive tract. In the samples taken prior to and after the digestion process, the following was determined: antiradical activity, iron chelation, iron reduction strength, and capability to inhibit auto-oxidation of the linolic acid. Furthermore, qualitative and quantitative analyses of the phenolic compounds were performed using an HPLC technique.

The extract of cinnamon showed the highest antiradical activity (92,48%), the extracts from the remaining species were characterized by an essentially lower capability to neutralize free DPPH radicals (from 13.53% to 29%). The varying pH conditions caused the increase in the chelating capability of all the samples analyzed. The digestion process in a simulated *in vivo* system also contributed to the increase in the capability to inhibit auto-oxidation of the linolic acid. While determining the reducing capability of spices studied, an opposite tendency was found, namely, the *in vitro* digestion process caused the decrease in the reducing capability of all the spices studied.

**Key words:** cinnamon, tarragon, basil, phenolic compounds, antioxidant activity ☒

DOROTA DEREWIAKA, MIECZYŚLAW W. OBIEDZIŃSKI

## MODELOWE BADANIA NAD UTLENIANIEM STEROLI

### Streszczenie

Celem podjętych badań było określenie wpływu fitosteroli na utlenianie cholesterolu w tłuszczu modelowym. Tłuszczem modelowym był smalec handlowy (I) oraz ten sam smalec z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli (II). Obróbkę termiczną tłuszczów prowadzono w temp. 150°C, przez 5, 20, 40 i 60 min. Oznaczenia jakościowe i ilościowe steroli oraz oksysteroli wykonano przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem masowym.

Wykazano, że zawartość cholesterolu w próbkach smalcu: bez żadnych dodatków oraz z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli, poddanych obróbce termicznej w temp. 150°C, zmniejszała się wraz z wydłużaniem czasu ogrzewania. W smalcu początkowa zawartość cholesterolu wynosiła 55,4 mg/100 g, natomiast po 60 min ogrzewania obu modelowych tłuszczów zmniejszyła się do 44,8 mg/100 g (I) oraz 38,2 mg/100 g (II).

Wraz z wydłużaniem czasu obróbki termicznej łączna zawartość produktów utleniania cholesterolu w smalcu bez dodatków (I) zwiększała się od 1,5 mg/100 g w próbce ogrzewanej przez 5 min do 4,1 mg/100 g w próbce ogrzewanej przez 60 min. Sumaryczna zawartość produktów utleniania cholesterolu w smalcu z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli (II) początkowo wrastała podczas ogrzewania, osiągając 8,7 mg/100 g po 20 min obróbki. Po upływie 40 oraz 60 min ogrzewania zawartość ta zmniejszyła się, odpowiednio, do 5,5 oraz 2,1 mg/100 g. Zawartość 7-ketositosterolu ulegała dużym wahaniom podczas ogrzewania smalcu z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli. W okresie od 5 do 20 min ogrzewania tłuszczu II nastąpił ubytek 7-ketositosterolu z 7,5 do 3,7 mg/100 g, następnie po 40 min obróbki zawartość tego związku gwałtownie wzrosła do 12 mg/100 g, ostatecznie po 60 min obróbki termicznej osiągając 6,4 mg/100 g.

Dodatek preparatu fitosteroli do smalcu prowadzi do przyspieszenia procesu tworzenia się poszczególnych produktów utleniania cholesterolu. Maksymalna zawartość tych produktów w smalcu z dodatkiem preparatu fitosteroli (II) była dwukrotnie wyższa w porównaniu z zawartością w smalcu bez dodatków (I).

**Słowa kluczowe:** cholesterol, fitosterole, oksysterole, smalec, obróbka termiczna

### Wprowadzenie

Sterole pochodzenia roślinnego oraz zwierzęcego są obecne w wielu produktach spożywczych. Przeciętne spożycie fitosteroli w zachodniej diecie kształtuje się na po-

---

*Mgr D. Derewiaka, prof. dr hab. M.W. Obiedziński, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

ziomie od 200–400 mg/dobę. Największy udział wśród spożywanych fitosteroli mają  $\beta$ -sitosterol, kampesterol i stigmasterol, stanowiące odpowiednio 65, 30 i 3% całkowitego ich spożycia. Głównym źródłem fitosteroli są oleje roślinne, owoce i orzechy [10]. Z kolei poziom spożywanego cholesterolu wynosi od 300–500 mg w codziennej diecie. Jego źródłem są mięso, jaja, wędliny, produkty mleczne oraz tłuszcze pochodzenia zwierzęcego. Podczas przetwarzania i przechowywania sterole obecne w produktach spożywczych ulegają przemianom, w wyniku których tworzą się m.in. produkty ich utlenienia [3].

Najczęściej powstającymi produktami utleniania steroli w żywności są:  $7\alpha$ - oraz  $7\beta$ -hydroksysterole,  $5,6\alpha$ - oraz  $5,6\beta$ -epoksysysterole, 7-ketosterole oraz triole [7]. Do tychczas przeprowadzone badania wskazują, że produkty utlenienia steroli wykazują działanie: mutagenne, kancerogenne, angiotoksyczne, cytotoksyczne, immunosupresyjne. Związki te powodują zahamowanie syntezy DNA, biosyntezy cholesterolu, zaburzają funkcjonowanie błon komórkowych oraz są inhibitorami kalmoduliny [1, 2, 9, 13, 15, 19]. Należy zaznaczyć, iż bardziej szkodliwe są produkty utlenienia cholesterolu w porównaniu z produktami utlenienia fitosteroli [3].

Obecność oksysteroli została stwierdzona w wielu produktach żywnościowych. Surowe i smażone pulpety oraz hamburgery z mięsa wołowego i wieprzowego zawierały sześć różnych produktów utleniania cholesterolu, których zawartość ogółem wynosiła od 7 do 10  $\mu\text{g/g}$  tłuszczu [8]. Zaobserwowano, że w smażonych pulpetach zawartość oksysteroli zwiększała się wraz z wydłużaniem czasu ich przechowywania do 42 oraz 50  $\mu\text{g/g}$  tłuszczu, odpowiednio po 1 i 2 tygodniach [8]. Johnsson [5] oraz Johnsson i wsp. [6] wykazali, że podczas ogrzewania oleju z oliwki w temp.  $180^\circ\text{C}$  przez 2 godz. koncentracja produktów utleniania fitosteroli zwiększyła się z 7,7 do 17,6  $\mu\text{g/g}$ , w oleju kukurydzianym zawartość oksysteroli zwiększyła się z 4,3 do 12,2  $\mu\text{g/g}$ , natomiast w oleju z orzechów ziemnych nie zaobserwowano zmian zawartości danych związków. Ogrzewanie oleju rzepakowego w temp.  $180^\circ\text{C}$  przez 25 min spowodowało wzrost zawartości produktów utleniania fitosteroli z 25,1 do 197,1  $\mu\text{g/g}$ . Zbliżony poziom tych związków zaobserwowano we frytkach smażonych przy użyciu oleju rzepakowego, zawierającego 147,6  $\mu\text{g/g}$  produktów utleniania fitosteroli [12]. Pomimo wielu badań nad zawartością cholesterolu, fitosteroli oraz ich produktów utleniania w produktach spożywczych, do chwili obecnej nie określono wpływu obecności fitosteroli na proces powstania produktów utleniania cholesterolu.

Celem podjętych badań było określenie wpływu fitosteroli na utlenianie cholesterolu podczas obróbki termicznej.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem do badań modelowych był smalec dostępny na rynku warszawskim oraz preparat fitosteroli firmy Neptune Biotechnologies and Bioresources zawierający

$\beta$ -sitosterol (50%), kampesterol (30%), stigmasterol (10%), brassikasterol (10%). Badania wykonano na próbkach smalcu handlowego (I) oraz smalcu z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli (II).

Do oznaczenia zawartości steroli oraz produktów ich utleniania pobierano 0,1 g próbki tłuszczu i rozpuszczano w 2 ml heksanu, następnie dodawano standardy wewnętrzne:  $5\alpha$ -cholestan firmy Sigma, 19-hydroksycholesterol firmy Steraloids. Próbkę poddawano transestryfikacji, stosując 0,5 ml 2M KOH w metanolu w ciągu 1 godz., okresowo wytrząsając zawartość próbki. Następnie pobierano do oznaczenia 200  $\mu$ l warstwy heksanowej, zagęszczano w atmosferze azotu, dodawano odczynnik sililujący (BSTFA z 1% TCMS) firmy Sigma i prowadzono derywatyzację do estrów silylowych w temp. pokojowej w ciągu 18 godz. Następnie ponownie zagęszczano w atmosferze azotu i dodawano 1 ml heksanu [5, 13, 19].

Analizę prowadzono przy użyciu chromatografu gazowego firmy Shimadzu GC-2010 sprzężonego ze spektrometrem masowym Shimadzu GCMS-QP2010S, stosując kolumnę DB5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m) Zebron firmy Phenomenex. Temperatura komory nastrzykowej wynosiła 230°C, dzielnik strumienia 25:1. Temperatura pracy kolumny: początkowa 50°C przez 2 min, następnie wzrost temp. z szybkością 15°C/min do 250°C, utrzymywanie w tej temp. przez 1 min, ponowny wzrost temp. z szybkością 3°C/min do 310°C i izoterma końcowa przez 10 min. Gazem nośnym był hel, a jego przepływ wynosił 0,94 ml/min. Temperatura łącza GC/MS wynosiła 250°C, temp. źródła jonów - 220°C, widma masowe przemiatane w zakresie masowym - m/z 100-600 przy zastosowaniu energii jonizacji wynoszącej 70eV. Analiza produktów utleniania steroli przebiegała w trybie monitorowania wybranych jonów, dobierając jony selektywne charakterystyczne dla poszczególnych produktów utleniania steroli, przy energii jonizacji wynoszącej 70eV [5, 14, 19].

Analizy każdej próbki wykonano w trzech powtórzeniach. Identyfikacji steroli oraz produktów utleniania steroli dokonano na podstawie porównania czasu ich retencji z dostępnymi standardami oraz widm masowych analizowanych związków z biblioteką NIST 147 oraz Wiley 175. Do obliczeń ilościowych zastosowano technikę dodatku standardów:  $5\alpha$ -cholestanu firmy Sigma i 19-hydroksycholesterolu firmy Steraloids.

Analiza statystyczna została przeprowadzona za pomocą programu Statistica 6.0.

## Wyniki i dyskusja

Zawartość cholesterolu w próbkach modelowych tłuszczów przedstawiono w tab. 1. Zawartość cholesterolu w smalcu (I) poddanym obróbce termicznej w temp. 150°C zmniejszała się wraz z wydłużaniem czasu obróbki, z 55,4 mg/100 g produktu w próbce wyjściowej do 44,76 mg/100 g po 60 min ogrzewania, tj. o 19%. W smalcu z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli (II), po 60 min ogrzewania, zawartość cholesterolu zmniejszyła się o 31%, tj. do 38,2 mg/100 g. Wyniki analiz niniejszej pracy są podobne



do rezultatów uzyskanych przez Osadę i wsp. [9]. Podczas obróbki termicznej standardu cholesterolu, prowadzonej w temp. 150°C przez 60 min, uzyskali oni 10% ubytek zawartości cholesterolu. Wyniki te dowodzą, że wraz z wydłużeniem czasu obróbki termicznej standardu cholesterolu lub tłuszczu pochodzenia zwierzęcego postępuje degradacja cholesterolu. Równocześnie mogą wskazywać, że modyfikujący wpływ na degradację oraz oksydację cholesterolu może mieć dodatek preparatu fitosteroli, jednak wyjaśnienie tego wpływu wymaga dalszych badań.

Tabela 1

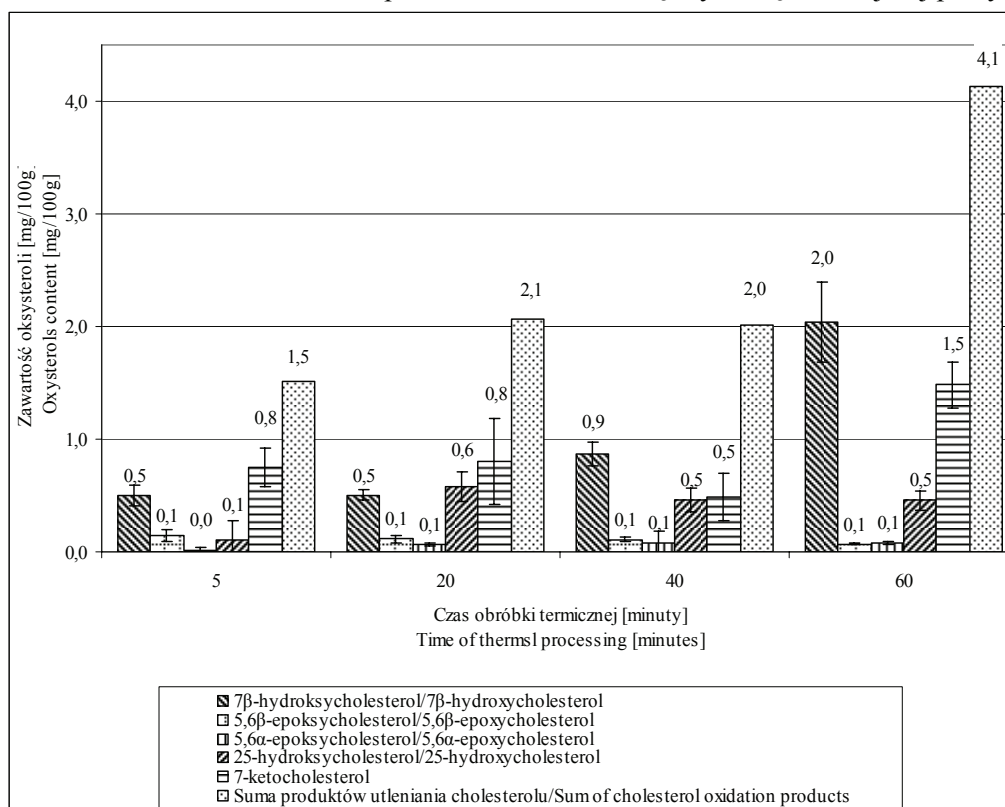
Zawartość cholesterolu w próbkach smalcu ogrzewanych w temp. 150°C.  
Content of cholesterol in the lard samples heated at a temperature of 150°C.

Czas obróbki [min] Time of processing [min]	Zawartość cholesterolu w smalcu handlowym (I) Content of cholesterol in the commercial lard (I)	Zawartość cholesterolu w smalcu z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli (II) Content of cholesterol content in the lard with 10% of phytosterols added (II)
0	55,4 ± 4,7	55,4 ± 4,7
20	55,5 ± 3,6	53,2 ± 5,2
40	46,1 ± 2,8	50,8 ± 4,7
60	44,8 ± 2,4	38,2 ± 2,0

Zawartość produktów utleniania cholesterolu i fitosteroli w próbkach modelowych tłuszczów przedstawiono na rys. 1., 2. oraz 3. W próbkach smalcu (I) poddanych obróbce termicznej w temp. 150°C, trwającej 5, 20, 40 i 60 min, zidentyfikowano następujące produkty utleniania cholesterolu: 7β-hydroksycholesterol, 5,6β-epoksycholesterol, 5,6α-epoksycholesterol, 25-hydroksycholesterol oraz 7-ketocholesterol. Sumaryczna zawartość produktów utleniania cholesterolu wzrastała wraz z wydłużaniem czasu obróbki termicznej próbek. Smalec ogrzewany przez 5 min zawierał 1,5 mg oksysteroli w 100 g, natomiast po 60 min ogrzewania – 4,1 mg/100 g (rys. 1). Produkty utleniania cholesterolu stanowiły od 2,7 do 7,4% zawartości cholesterolu. Spośród wszystkich produktów utleniania cholesterolu, w ogrzewanym smalcu największą zawartość wykazywały: 7-ketocholesterol oraz 7β-hydroksycholesterol, natomiast zawartość 5,6β-epoksycholesterolu, 5,6α-epoksycholesterolu oraz 25-hydroksycholesterolu utrzymywała się na mniejszym i stałym poziomie podczas całego okresu obróbki termicznej. W badaniach innych autorów [17, 18] stwierdzono, że głównym produktem utleniania cholesterolu jest 7-ketocholesterol. Osada i wsp. [9] podczas ogrzewania standardu cholesterolu w temp. 150°C, w okresie od 1 do 24 godz., zidentyfikowali takie same, jak w niniejszym eksperymencie, produkty utleniania cholesterolu, jednak w odmiennych proporcjach, co najprawdopodobniej mogło wynikać z różnic w matrycach tłuszczowych. W innych badaniach [16] zaobserwowano, że ogrzewanie standar-



du cholesterolu w temp. 150°C przez 20 min spowodowało powstanie o 20% większej zawartości 7-ketocholesterolu w porównaniu z wartością uzyskaną w niniejszej pracy.

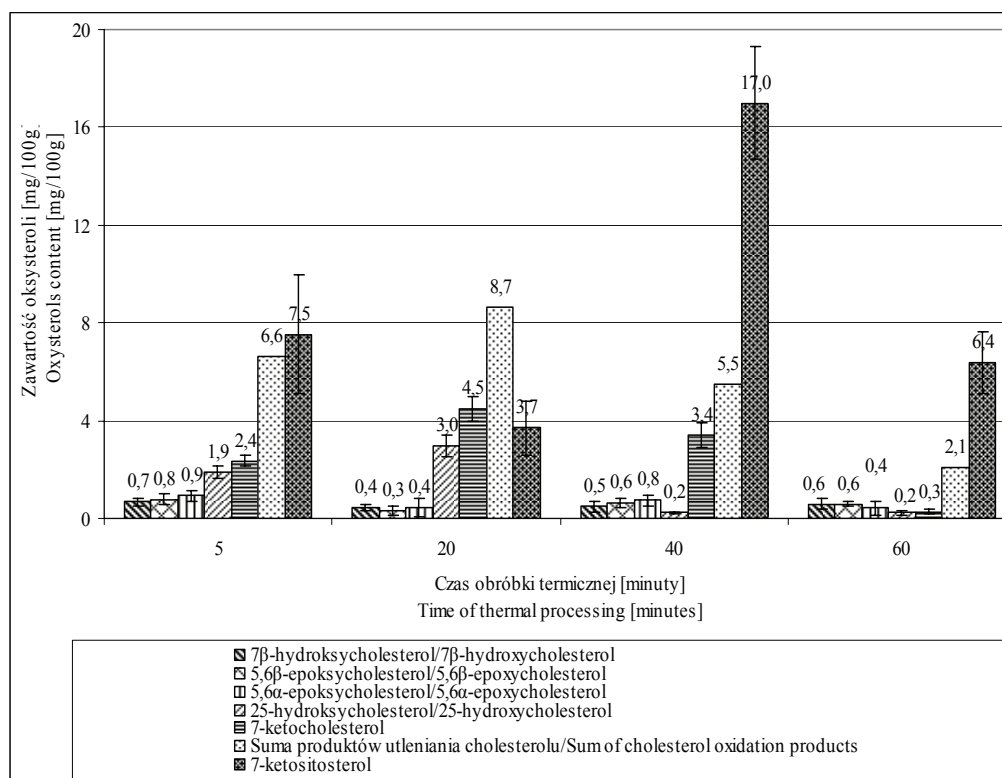


Rys. 1. Zawartość produktów utleniania cholesterolu w próbkach smalcu (I) ogrzewanych w temp. 150°C.

Fig. 1. Content of cholesterol oxidation products in the lard samples (I) heated at a temperature of 150°C.

W próbkach smalcu z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli (II) poddanych działaniu temp. 150°C stwierdzono obecność takich produktów utleniania cholesterolu, jak: 7β-hydroksy-cholesterol, 5,6β-epoksycholesterol, 5,6α-epoksycholesterol, 25-hydroksy-cholesterol, 7-ketocholesterol. Spośród produktów utleniania fitosteroli zidentyfikowano jedynie 7-ketositosterol. Łączna zawartość produktów utleniania cholesterolu zwiększyła się podczas pierwszych 20 min z 6,6 mg/100 g po 5 min i do 8,7 mg/100 g po 20 min, a następnie po upływie 40 oraz 60 min obróbki termicznej zaczęła zmniejszać się do poziomu 5,5 oraz 2,1 mg/100 g (rys. 2). Zawartość 7-ketositosterolu ulegała dużym wahaniom podczas ogrzewania smalcu z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli. Po 5 min ogrzewania zawartość 7-ketositosterolu wynosiła 7,5 mg/100 g, po 20 min zmniejszyła się do 3,7 mg/100 g. Po upływie 40 min ogrzewania zawartość

7-ketositerolu gwałtownie wzrosła do 12 mg/100 g, a następnie, po 60 min obróbki, zmniejszyło się do 6,4 mg/100 g.

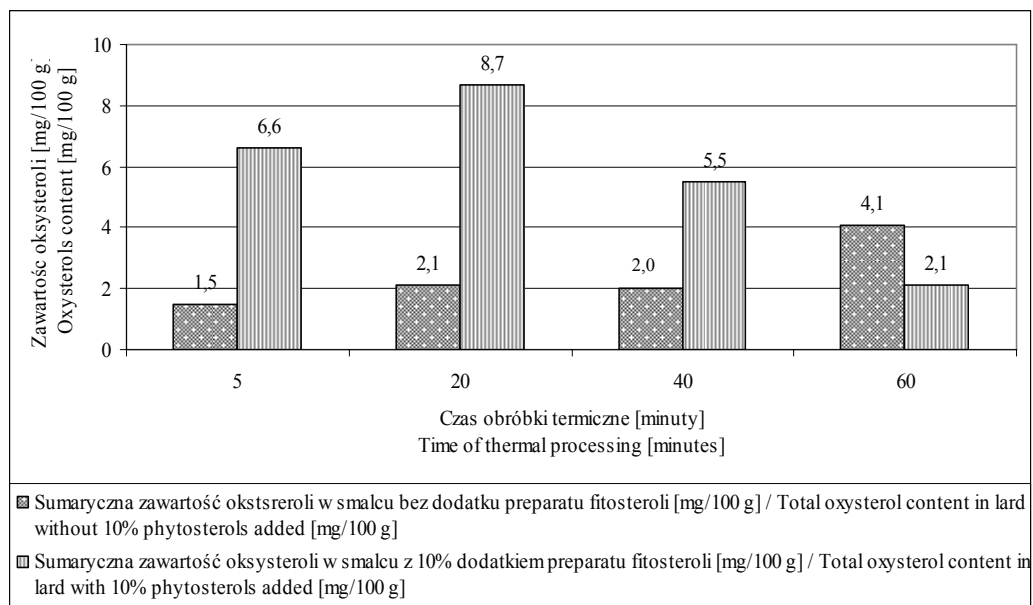


Rys. 2. Zawartość produktów utleniania cholesterolu oraz  $\beta$ -sitosterolu w próbkach smalcu z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli (II), ogrzewanych w temp. 150°C.

Fig. 2. Content of cholesterol and  $\beta$ -sitosterol oxidation products in the lard samples with 10% of phytosterols added (II) and heated at a temperature of 150°C.

Porównując sumaryczną zawartość oznaczonych produktów utleniania cholesterolu podczas obróbki termicznej w obydwu tłuszczach modelowych stwierdzono, że dodatek preparatu fitosteroli zwiększył tempo tworzenia produktów utleniania cholesterolu podczas ogrzewania przez 5, 20 i 40 min, na co wskazuje większa zawartość produktów utleniania (rys. 3). W próbkach smalcu z dodatkiem preparatu fitosteroli, w których zawartość  $\beta$ -sitosterolu była 100-krotnie wyższa od cholesterolu, zawartość produktów utleniania cholesterolu stanowiła od 3,8 do 15,7% jego wartości wyjściowej, a zawartość 7-ketositerolu stanowiła od 0,07 do 0,33% wartości wyjściowej  $\beta$ -sitosterolu, co dowodzi, że fitosterole ulegały w znacznie mniejszym stopniu utlenianiu niż cholesterol w danym układzie modelowym. Zhang i wsp. [19] stwierdzili, że ogrzewanie standardu  $\beta$ -sitosterolu w temp. 150°C powodowało utworzenie 7-keto-

sitosterolu, który po 5 min stanowił 2%  $\beta$ -sitosterolu, a po 60 min 10%  $\beta$ -sitosterolu. W cytowanej pracy [19] stwierdzono, że spośród wszystkich oznaczonych produktów utleniania  $\beta$ -sitosterolu zawartość 7-ketocholesterolu była największa. Ponadto wykazano [19], że po 60 min ogrzewania oleju oliwkowego i słonecznikowego w temp. 150°C powstający 7-ketositosterol stanowił, odpowiednio, 7 i 4%.



Rys. 3. Sumaryczna zawartość produktów utleniania cholesterolu w próbkach smalcu handlowego (I) oraz smalcu z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli (II).

Fig. 3. Total content of cholesterol oxidation products in the samples of commercial lard (I) and of the lard with 10% of phytosterols added (II).

## Wnioski

- Obróbka termiczna smalcu handlowego oraz smalcu z 10% dodatkiem preparatu fitosteroli prowadzona w temp. 150°C powoduje zmniejszenie zawartości cholesterolu i powstanie produktów ich utleniania.
- Produktami utleniania cholesterolu w obydwu tłuszczach modelowych były: 7-ketocholesterol, 7 $\beta$ -hydroksycholesterol, 25-hydroksycholesterol, 7-ketocholesterol oraz 25-hydroksycholesterol, natomiast w smalcu z dodatkiem fitosteroli także 7-ketositosterol.
- Sumaryczna zawartość produktów utleniania cholesterolu w smalcu z dodatkiem preparatu fitosteroli była dwukrotnie większa w porównaniu z zawartością tych związków w smalcu handlowym (bez dodatku fitosteroli).

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Baggio S.R., Bragagnolo N.: The effect of heat treatment on the cholesterol oxides, cholesterol, total lipid and fatty acid contents of processed meat products. *Food Chem.* 2006, **95**, 611-619.
- [2] Chang Y. H., Abdalla D.S.P., Sevanian A.: Characterization of cholesterol oxidation products formed by oxidative modification of low density lipoprotein. *Free Radical Biol. Med.*, 1997, **23**, 2, 202-214.
- [3] Dean L.O., Boyd L.C.: Chemistry, analysis and occurrence of phytosterol oxidation products in foods. Phytosterol as functional food components and nutraceuticals. Ed. Marcel Dekker, New York 2004, pp. 419-430.
- [4] Guardiola F., Codony R., Addis P.B., Refecas M., Boatella J.: Biological effects of oxysterols: current status. *Food Chem. Toxic.* 1996, **2**, 193-211.
- [5] Johnsson L.: Phytosterol oxidation products. Formation, analysis and occurrence. PhD Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 2004, pp. 46-47.
- [6] Johnsson L., Dutta P.C.: Determination of phytosterol oxides in some food products by using an optimized transesterification method. *Food Chem.* 2006, **97**, 606-613.
- [7] Lampi A.-M., Juntunen L., Toivo J., Piironen V.: Determination of thermo-oxidation products of plant sterols. *J. Chrom. B*, 2002, **777**, 83-92.
- [8] Larkenson B., Dutta P.C., Hansson I.: Effects of frying and storage on cholesterol oxidation in minced meat products. *JAOAC* 2000, **77**, 6, 675-680.
- [9] Osada K., Kodama T., Yamada K., Sugano M. : Oxidation of cholesterol by heating. *J. Agric. Food Chem.* 1993, **41**, 1198-1202.
- [10] Patel D.M, Thompson P.D.: Phytosterols and vascular disease. Review. *Atherosclerosis* 2006, **186**, 12-19.
- [11] Piironen V., Lampi A.-M.: Occurrence and levels of phytosterols in foods. Phytosterols as functional food components and nutraceuticals. Ed. Marcel Dekker, New York 2004, pp. 1-32.
- [12] Rudzińska M., Korczak J., Wąsowicz E.: Changes in phytosterols and their oxidation products during frying of French fries in rapeseed oil. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14/55**, 4, 381-387.
- [13] Ryan E., Chopra J., McCarthy F., Maguire A.R., O'Brien N.M. : Qualitative and quantitative comparison of the cytotoxic and apoptotic potential of phytosterol oxidation products with their corresponding cholesterol oxidation products. *Br. J. Nutr.* 2005, **94**, 443-451.
- [14] Santos R., Limas E., Sousa M., da Conceição Castilho M., Ramos F., Noronha da Silveira M.I. : Optimization of analytical procedures for GC-MS determination of phytosterols and phytostanols in enriched milk and yoghurt. *Food Chem.* 2007, **102**, 113-117.
- [15] Schmarr H-G, Gross H.B., Shibamoto T.: Analysis of polar cholesterol oxidation products: evaluation of a new method involving transesterification, solid phase extraction, and gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 1996, **44**, 512-517.
- [16] Wilczak J., Kulasek G.: Produkty utleniania cholesterolu w produktach pochodzenia zwierzęcego – wpływ na zdrowie zwierząt i ludzi. *Życie Wet.* 2004, **79**, 9, 1-11.
- [17] Xu Z., Zhang T., Prinyawiwatkul W., Godber J.S.: Capabilities of different cooking oils in prevention of cholesterol oxidation during heating. *JAOCS*, 2005, **82**, 4, 243-248.
- [18] Yan P.S., White P. J., Cholesterol oxidation in heated lard enriched with two levels of cholesterol. *JAOCS*, 1990, **67**, 12, 927-931.

- [19] Zhang T.: Cholesterol oxidation in roasted salmon fish with different cooking oils. Master of Science Thesis. Louisiana State University, May 2005.

### THE PROPERTIES OF EXTRUDED POTATO STARCH MODYFIED BY GLICYNE

#### S u m m a r y

The studies conducted aimed at the determination of the effect exerted by phytosterols on the oxidation of cholesterol in a model fat. The model fat was commercial lard (I) and the same lard with 10% of phytosterols added (II). The fats were thermally processed at a temperature of 150°C during 5, 20, 40, and 60 min periods. The quantitative and qualitative determinations of sterols and their oxidation products were performed using a gas chromatograph conjugated with a mass spectrometer (GC-MS).

It was found that the content of cholesterol in thermally processed lard samples without any additions and with 10% of phytosterols added decreased with prolonging the time of heating the samples. In the pure lard, the initial content of cholesterol was 55.4 mg/100 g, and it decreased to 44.8 mg/100 g (I) and to 38.2 mg/100 g (II) after the both model samples were heated during a period of 60 min.

Along with prolonging the time of thermal processing, the total content of cholesterol oxidation products (COP's) in lard without the phytosterols added (I) increased from 1.5 mg/100 g in the sample heated during 5 min to 4.1 mg/100 g in the sample processed during 60 min. The total content of cholesterol oxidation products in the lard with 10% of phytosterols added increased at the beginning of the heating and reached a level of 8.7 mg /100 g after 20 min of being processed. After 40 and 60 min of heating, the COP's content decreased to 5.5 mg /100 g and 2.1 mg/100 g, respectively. The content of 7-ketositosterol strongly fluctuated while the lard with 10% of phytosterols added was heated. While the fat (II) was heated during a period from 5 to 20 min, the content of 7-ketositosterol decreased from 7.5 mg/100 g to 3.7 mg/100 g; then, after the 40 min heating, it drastically increased to 12 mg/100 g, and after the 60 min heating, it reached a level of 6.4 mg/100 g.

The addition of phytosterols to the lard causes the formation process of particular cholesterol oxidation products to accelerate. The maximum content of these products in the lard with phytosterols added (II) was twice as high as in the lard without phytosterols added (I).

**Key words:** cholesterol, phytosterols, oxysterols, lard, thermal processing ☒

KATARZYNA JĘDRZEJKIEWICZ, ANNA FLOROWSKA

## STABILNOŚĆ I JAKOŚĆ BEZCHOLESTEROLOWYCH, NISKOTŁUSZCZOWYCH EMULSJI MAJONEZOWYCH ZAWIERAJĄCYCH INULINĘ

### Streszczenie

Badania nad wytworzeniem emulsji majonezowych z udziałem inuliny podjęto ze względu na specyficzne właściwości żywieniowe tego dodatku, m.in. działanie prebiotyczne, wspomagające odchudzanie oraz zwiększające przyswajalność i biodostępność składników mineralnych z pożywienia, a także ze względu na właściwości technologiczne, takie jak wytwarzanie mocnych żeli, synergistyczne oddziaływanie z innymi substancjami żelującymi oraz zdolność zastępowania tłuszczu w produktach spożywczych.

Celem przeprowadzonych badań była poprawa stabilności oraz jakości sensorycznej emulsji majonezowych o 5% zawartości tłuszczu i dodatku inuliny jako zamiennika tłuszczu. Oznaczano stabilność produktu metodą Saffla i Actona oraz oceniano sensorycznie wygląd, smak oraz jakość ogólną. Próbką kontrolną zawierała 15% inuliny. Zastosowano dodatek hydrokoloidów na poziomie 0,5, 1,5 i 3% żelatyny i skrobi modyfikowanej (hydroksypropylowanego fosforanu diskrobiowego), 0,5, 1 i 1,5% dodatku gumy guar oraz dodatek inuliny w ilości 14,5, 14,0 13,5 i 12%.

Wykazano, że emulsje majonezowe z inuliną, bez dodatku hydrokoloidów, charakteryzowały się niską stabilnością na poziomie 83,8%. Stwierdzono, że dodatek gumy guar zwiększył stabilność badanych emulsji do 100%. Pod względem sensorycznym najwyżej ocenione zostały majonezy z dodatkiem skrobi oraz gumy guar. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że dodatek skrobi nie wpłynął istotnie na zmianę większości badanych parametrów oraz ocenianych sensorycznie cech. Optymalny okazał się majonez o zawartości 5% tłuszczu, 14% inuliny i 1% gumy guar. Otrzymany bezcholesterolowy i niskotłuszczowy produkt był stabilny, charakteryzował się wysokim połyskiem, a jego smak był preferowany przez konsumentów.

**Słowa kluczowe:** emulsje niskotłuszczowe, hydrokoloidy, inulina, stabilność, analiza sensoryczna

### Wstęp

Inulina jest polisacharydem z grupy fruktanów, zbudowanym z cząsteczek fruktozy połączonych wiązaniami  $\beta$  (2-1) glikozydowymi i zakończonym pojedynczą cza-

---

*Mgr inż. K. Jędrzejkiewicz, dr inż. A. Florowska, Zakład Technologii Tłuszczów i Koncentratów Spożywczych, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

steczką glukozy przyłączonej wiązaniem  $\alpha$  (1-2) glikozydowym [7]. Występuje naturalnie jako materiał zapasowy w bardzo wielu roślinach, m.in. w czosnku, cebuli, porze, łopianie, mniszku lekarskim. Na skalę przemysłową oczyszczoną inulinę produkuje się z korzeni cykorii, bulw topinamburu i bulw dalii. Jest także syntetyzowana przez niektóre bakterie, m.in. *Streptococcus mutans* [11].

Jako funkcjonalny (prozdrowotny) dodatek do żywności substancja ta wykazuje korzystny wpływ na zdrowie i samopoczucie człowieka [3]. Prebiotyczny efekt inuliny obserwuje się przy spożyciu 10 g na dobę. Występuje wtedy wyraźny wzrost pożytecznych bifidobakterii w jelicie grubym i nie występują efekty uboczne w postaci wzdęć. Zauważalna jest też redukcja niepożądanych bakterii *Clostridium*, *Fusobacterium* czy Gram-dodatnich paciorkowców [6, 10].

Inulina ma właściwości teksturotwórcze. Zdolność żelowania wykazują roztwory o stężeniu powyżej 15%. Przy stężeniu ponad 25% tężejący roztwór tworzy delikatny żel, przypominający swoją teksturą i właściwościami tłuszcz [13]. Wykazuje synergistyczne oddziaływanie z takimi substancjami żelującymi, jak: żelatyna, alginiany, karageny, guma gellan i maltodekstryna [5]. Inulina jest sacharydowym mimetykiem tłuszczu, czyli substancją imitującą pewne właściwości sensoryczne i fizyczne triacylogliceroli. Uważa się, że 1 g inuliny może zastąpić 4 g tłuszczu. Wiążąc wodę w produkcie spożywczym inulina nadaje mu odpowiednią konsystencję, opalizujący wygląd oraz odczucie „pełnego smaku” [12].

Zdolność żelowania wykorzystywana jest w produkcji żywności niskotłuszczowej bez obniżania jakości sensorycznej produktów. Niewielki dodatek inuliny poprawia ogólną smakowitość oraz kremową konsystencję nabiału, margaryn, deserów mrożonych i dresingów, a także kremów stosowanych do wyrobów ciastkarskich [5, 7, 13]. Inulina podnosi stabilność pian i emulsji, takich jak: desery piankowe, lody, margaryny czy sosy. Przy 1% dodatku wyraźnie zmniejsza się synereza w produktach spożywczych [4].

Celem przeprowadzonych badań była poprawa stabilności oraz jakości sensorycznej bezcholesterolowych (bez żółtka) emulsji majonezowych o 5% zawartości tłuszczu i dodatku inuliny jako zamiennika tłuszczu.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem teksturotwórczym była inulina HP (Orafti), żelatyna wieprzowa typ A (Winiary), hydroksypropylowany fosforan diskrobiowy (National Starch&Chemical), guma guar (SKW Biosystems). Ponadto stosowano: olej rzepakowy rafinowany (ZPT Warszawa), ocet spirytusowy 10% (Społem Kielce), musztardę Sarepską (Develey), sól kuchenną jodowaną (Solino S.A.), cukier biały (Cukrownia Glinojec S.A.), jako emulgator – białka mleka (mleko w proszku odtłuszczone, granulowane, SM Gostyń).

Do wykonania emulsji majonezowych użyto homogenizatora próżniowego HP – 1,5 firmy PT-MASZ Piaseczno. Homogenizację wykonywano z prędkością 2820 obr./min. w ciągu 4 min.

W celu zbadania właściwości technologicznych majonezów z inuliną wytworzono 4 warianty emulsji majonezowych (tab. 1), każdy w trzech powtórzeniach. Emulsja kontrolna zawierała 70,9% wody, 5% oleju, 4,5% musztardy, 1,5% mleka w proszku, 1,5% cukru, 1% soli kuchennej, 0,6% octu, 15% inuliny, bez dodatku hydrokoloidów. Schemat produkcyjny przedstawiono na rys. 1.

Tabela 1

Zawartość inuliny i hydrokoloidów w emulsjach majonezowych.  
The content of inulin and hydrocolloids in mayonnaise emulsions.

Hydrokoloidy Hydrocolloid		Żelatyna Gelatin [%]	Skrobia modyfikowana Modified starch [%]	Guma guar Guar gum [%]
Inulina Inulin [%]	15	0	0	0
	14,5	0,5	0,5	0,5
	14,0	-	-	1
	13,5	1,5	1,5	1,5
	12	3	3	3*

\*Podczas wytwarzania majonezów z hydrokoloidami okazało się, iż dodatek 3% gumy guar do roztworu inuliny spowodował powstanie bardzo gęstej galarety, która nie nadawała się do homogenizacji z pozostałymi składnikami / During production of mayonnaise with hydrocolloids it was observed that 3% addition of guar gum to inulin solution caused dense jelly formulation, which was unfit to homogenization with other ingredients.

Po 24 godz. od wytworzenia w emulsjach majonezowych oznaczano stabilność metodą Saffla i Actona [1]. Metoda ta polega na umieszczeniu emulsji majonezowej w 6 probówkach wirówkowych skalowanych do 10 ml i poddawaniu termostatawaniu przez 24 godz. w temp. 37°C. Następnie próbki wirowano przy prędkości 3500 obr./min przez 10 min w celu ewentualnego wydzielania fazy wodnej. Badano objętość fazy niezemulgowanej i porównywano z całkowitą objętością próbki. Stabilność emulsji wyznaczono z równania:

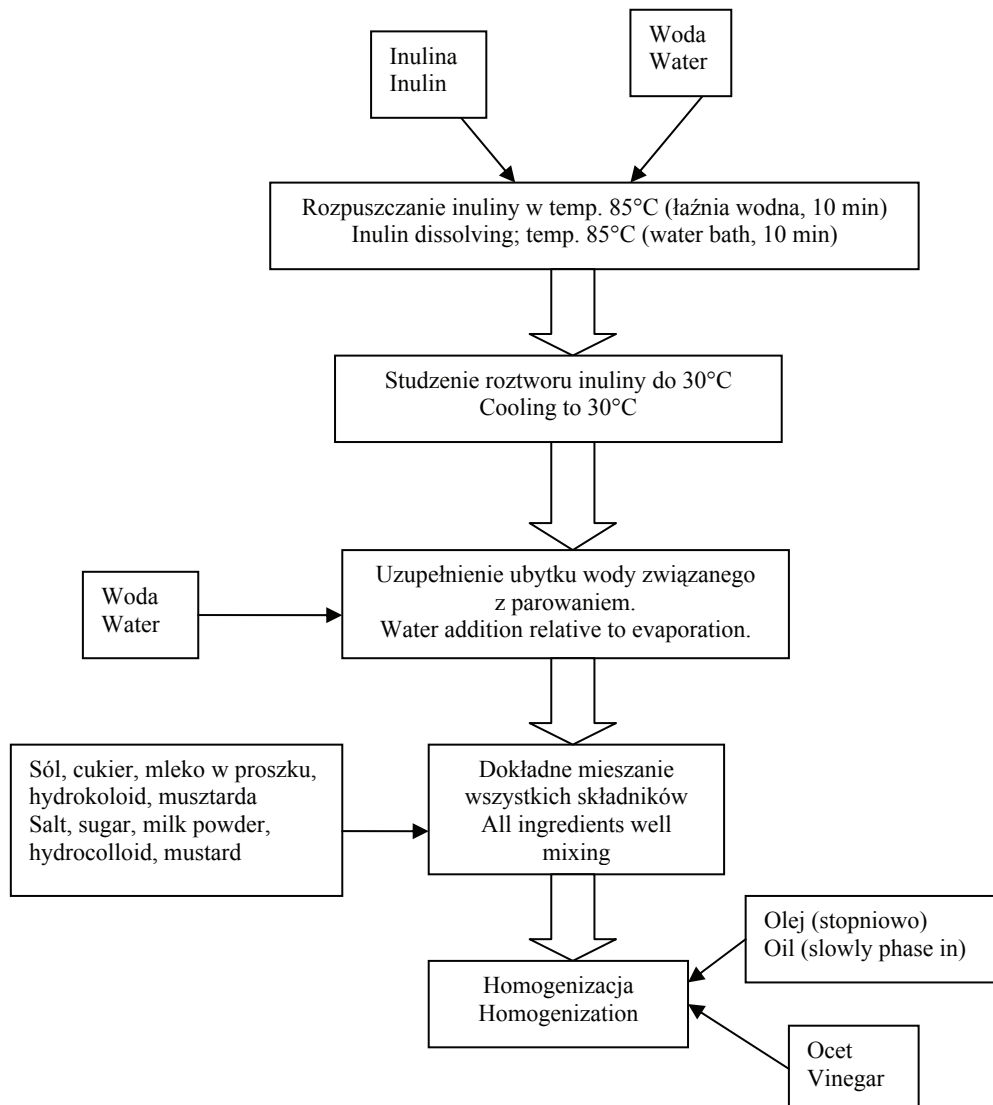
$$SE = [(V_o - V) / V_o] \cdot 100 [\%],$$

gdzie: SE – stabilność emulsji wyrażona w procentach,

$V_o$  – całkowita objętość po wirowaniu [ml],

V – objętość wydzielonej fazy niezemulgowanej [ml].





Rys. 1. Schemat produkcji majonezu z dodatkiem inuliny.

Fig. 1. Scheme of the mayonnaise with inulin production.

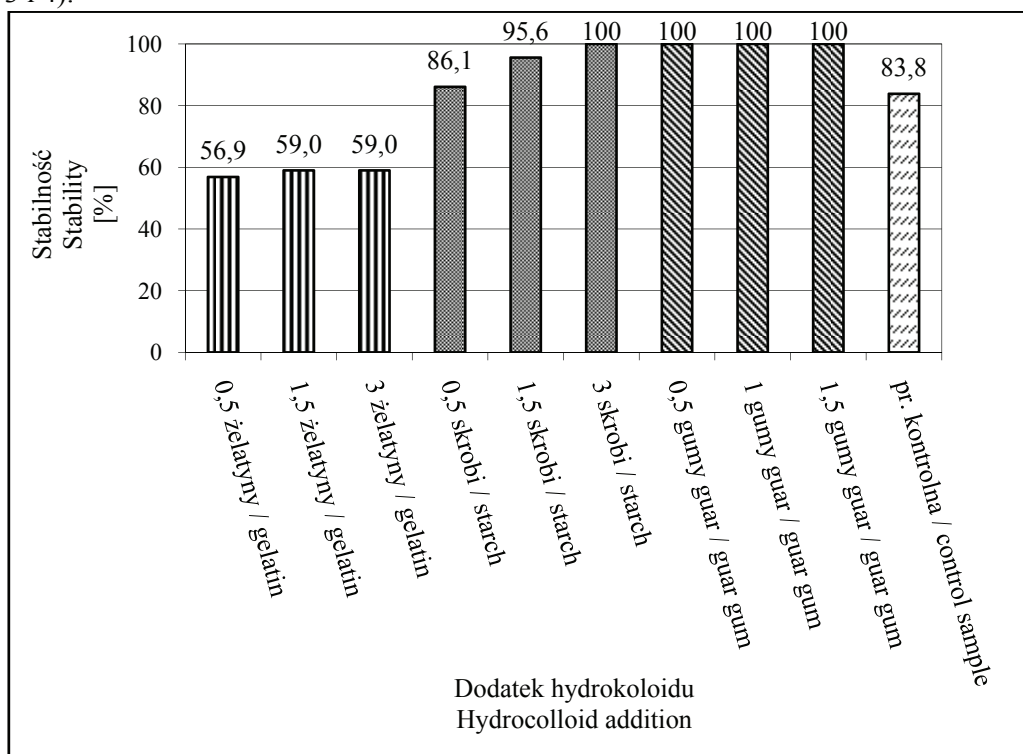
Do określenia jakości sensorycznej produktu zastosowano metodę profilowania sensorycznego [2]. Doboru wyróżników smakowo-zapachowych dokonano na podstawie PN-ISO-6564 [9]. Badanie przeprowadzono po 24 godz. od wytworzenia emulsji majonezowej. W badaniach brał udział przeszkolony, dziesięcioosobowy zespół. Ocena smaku obejmowała określenia: kwaśny, słony, słodki, gorzki, mleczny (charakterystyczny dla mleka pełnotłustego), jajeczny (charakterystyczny dla żółtka), tłuszczowy

(charakterystyczny dla oleju roślinnego) oraz obcy (smak nietypowy, nieprzyjemny). Ocena wyglądu dotyczyła barwy (od białej do jasnożółtej) oraz połysku (matowy – błyszczący). Na jakość ogólną składało się ogólne wrażenie sensoryczne na podstawie ocenianych wyróżników jakościowych.

Do opracowania statystycznego wyników zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (One – Way ANOVA). Obliczenia wykonywano w programie Statgraphics Plus 5.1. Różnice między wartościami średnimi analizowano testem t-Studenta.

### Wyniki i dyskusja

Majonez z 15% udziałem inuliny (próba kontrolna) wykazywał stabilność na poziomie 83,8% (rys. 2). Dodatek żelatyny negatywnie wpływał na wytworzone emulsje majonezowe, obniżając ich stabilność do poziomu 56,9 - 59%. Stabilnością na poziomie 100% charakteryzowały się wszystkie majonezy z dodatkiem gumy guar, co może świadczyć o synergistycznym oddziaływaniu tego hydrokoloidu z inuliną i korzystnym ustabilizowaniu emulsji. Zaobserwowane różnice okazały się statystycznie istotne zarówno pod względem ilości dodawanego hydrokoloidu (tab. 2), jak i jego rodzaju (tab. 3 i 4).



Rys. 2. Stabilność majonezów inulinowych z hydrokoloidami.

Fig. 2. Stability of inulin mayonnaises with hydrocolloids.

Analiza sensoryczna wyglądu i jakości ogólnej majonezów inulinowych z dodatkiem hydrokoloidów wykazała duże różnice pomiędzy poszczególnymi próbkami. Dodatek 0,5% żelatyny i gumy guar korzystnie zwiększał połysk majonezów z inuliną (rys. 3). Na jakość ogólną produktu najkorzystniej wpływał dodatek gumy guar, natomiast dodatek żelatyny powodował znaczne obniżenie ocen tej cechy. Dodatek skrobi w ilości 0,5% powodował znaczne zmatowienie emulsji. Najbardziej biała, zbliżona barwą do próbki kontrolnej była emulsja ze skrobią. Dodatek żelatyny i gumy guar nadawał produktowi pożądany odcień jasnożółty. Przedstawione na rys. 4. wyniki ocen charakteryzowały się większym zróżnicowaniem niż oceny próbek z 0,5% dodatkiem hydrokoloidów.

Tabela 2

Wyniki statystycznej analizy wpływu stężenia żelatyny i skrobi (0,5, 1,5, 3%) oraz gumy guar (0,5, 1 i 1,5%) na wygląd, jakość ogólną oraz stabilność majonezów inulinowych.  
Statistic analysis results of influence of gelatin and starch (0,5, 1,5, 3%) and guar gum (0,5, 1, 1,5%) on appearance, total quality and stability of inulin mayonnaise emulsions.

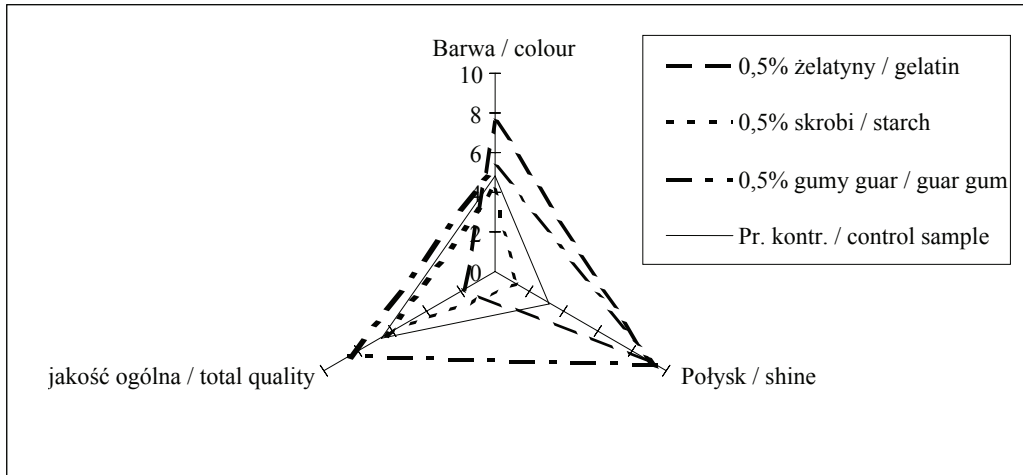
Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	F <sub>emp</sub>			
		Wygląd Appearance		Jakość ogólna Total quality	Stabilność Stability
Dodatek hydrokoloidów Hydrocolloids additive	3	barwa colour	połysk shine		
Błąd losowy Random error	119				
Żelatyna / Gelatin		28,7*	85,1*	75,82*	9,47*
Skrobia modyfikowana / Modified starch		7,03*	52,4*	7,11*	1,15
Guma guar / Guar gum		9,97*	40,1*	34,90*	4,54*

\*różnice statystycznie istotne na poziomie  $\alpha = 0,05$  / statistically significant difference at  $\alpha = 0.05$ .

Największym połyskiem charakteryzowały się majonezy z 1% dodatkiem gumy guar.

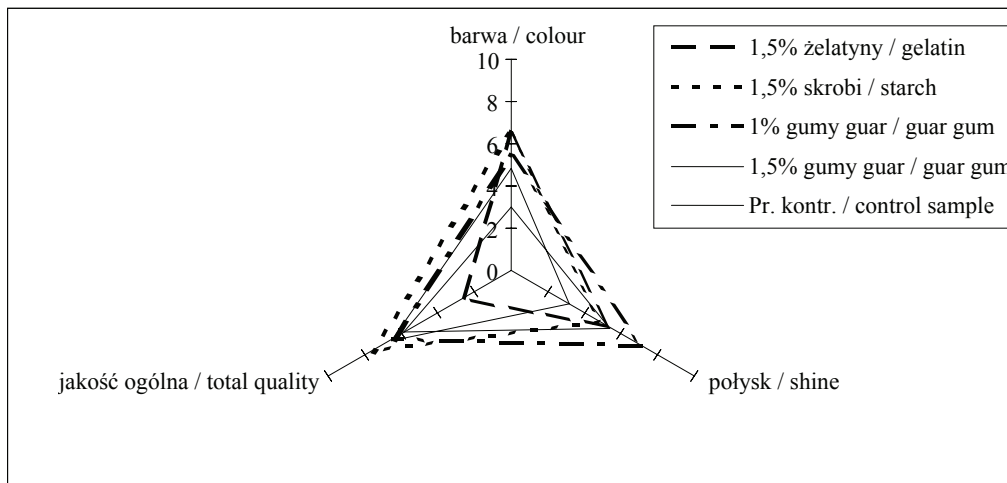
Najbardziej matowa była próba kontrolna, można zatem stwierdzić, że hydrokoloidy korzystnie zwiększają połysk produktu końcowego. Dodatek żelatyny powodował obniżenie sensorycznej jakości ogólnej produktu, natomiast guma guar i skrobia wpływały korzystnie na podniesienie oceny tej cechy. Wpływ hydrokoloidów na jakość sensoryczną emulsji potwierdzają także wyniki analizy statystycznej (tab. 2, 3, 4).

Wygląd i jakość ogólna majonezów z 3% dodatkiem hydrokoloidu różniły się znacznie od próby kontrolnej oraz w zależności od rodzaju dodawanego hydrokoloidu (rys. 5). Skrobia w ilości 3% znacznie poprawiła oceny jakości ogólnej oraz korzystnie wpłynęła na połysk otrzymanych emulsji.



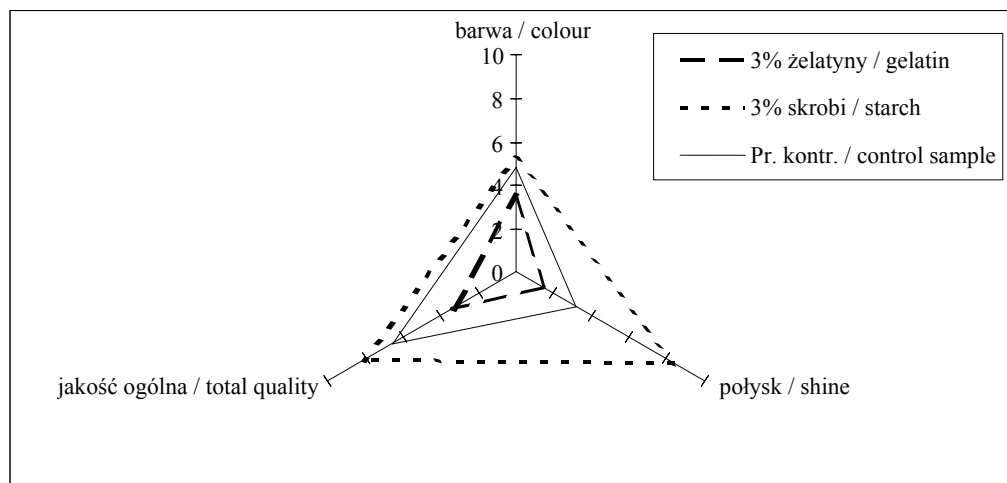
Rys. 3. Profil sensoryczny wyglądu i jakości ogólnej majonezów inulinowych zawierających 0,5% żelatyny, skrobi lub gumy guar i 14,5% inuliny.

Fig. 3. Sensory profile of appearance and total quality of inulin mayonnaises with 0,5% of gelatin, starch or guar gum and 14,5% of inulin content.



Rys. 4. Profil sensoryczny wyglądu i jakości ogólnej majonezów inulinowych zawierających 1,5% żelatyny, skrobi lub gumy guar i 13,5% inuliny oraz majonezu inulinowego zawierającego 1% gumy guar i 14% inuliny.

Fig. 4. Sensory profile of appearance and total quality of inulin mayonnaises with 1,5% of gelatin, starch or guar gum and 14,5% of inulin content and of inulin mayonnaise with 1% of guar gum and 14% of inulin content.



Rys. 5. Profil sensoryczny wyglądu i jakości ogólnej majonezów inulinowych zawierających 3% żelatyny lub skrobi i 12% inuliny.

Fig. 5. Sensory profile of appearance and total quality of inulin mayonnaises with 3% of gelatin or starch and 12% of inulin content.

Tabela 3

Wyniki statystycznej analizy wpływu rodzaju dodawanego hydrokoloidu (żelatyna, skrobia, guma guar) w ilości 0,5 i 1,5% na wygląd, jakość ogólną i stabilność majonezów inulinowych.  
Statistic analysis results of selected hydrocolloid (gelatin, starch, guar gum) influence, added in amount of 0,5 and 1,5% on appearance, total quality and stability of inulin mayonnaise emulsions.

Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	F <sub>emp</sub>			
		Wygląd Appearance		Jakość ogólna Total quality	Stabilność Stability
Dodatek hydrokoloidów Hydrocolloids additive	3				
Błąd losowy Random error	119	barwa colour	połysk shine		
0,5%		16,15*	139,10*	171,72*	6,30*
1,5%		24,60*	6,02*	59,69*	20,83*

\*różnice statystycznie istotne na poziomie  $\alpha = 0,05$  / statistically significant difference at  $\alpha = 0,05$

Na podstawie statystycznego opracowania wyników analizy sensorycznej wyglądu i jakości ogólnej wykazano zależność tych cech zarówno od stężenia dodawanego hydrokoloidu (tab. 2), jak i jego rodzaju (tab. 3, 4). Wykazano istotne różnice pomiędzy ocenami majonezów z dodatkiem żelatyny, skrobi lub gumy guar. Także różne

stężenia tych hydrokoloidów miały wpływ na wygląd i jakość ogólną analizowanych emulsji. Najlepszym dodatkiem okazała się guma guar. Majonezy inulinowe z tym dodatkiem uzyskały najwyższe oceny podczas analizy sensorycznej.

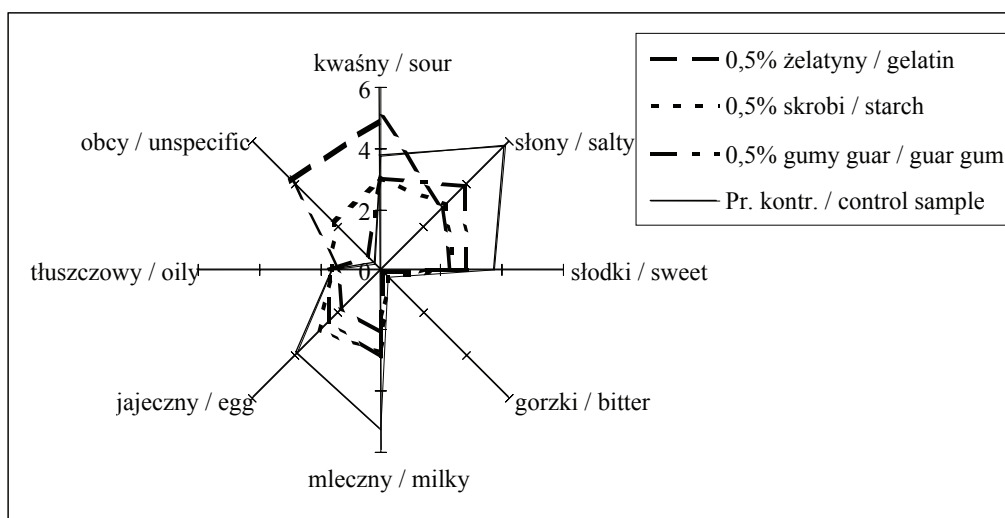
Tabela 4

Wyniki statystycznej analizy wpływu rodzaju dodawanego hydrokoloidu (żelatyna, skrobia) w ilości 3% na wygląd, jakość ogólną i stabilność majonezów inulinowych.

Statistic analysis results of selected hydrocolloid (gelatin, starch) influence, added in amount of 3% on appearance, total quality and stability of inulin mayonnaise emulsions.

Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	F <sub>emp</sub>			
		Wygląd Appearance		Jakość ogólna Total quality	Stabilność Stability
		barwa colour	połysk shine		
Dodatek hydrokoloidów Hydrocolloids additive	2	5,39*	80,32*	81,51*	20,83*
Błąd losowy Random error	89				

\*różnice statystycznie istotne na poziomie  $\alpha = 0,05$  / statistically significant difference at  $\alpha = 0,05$

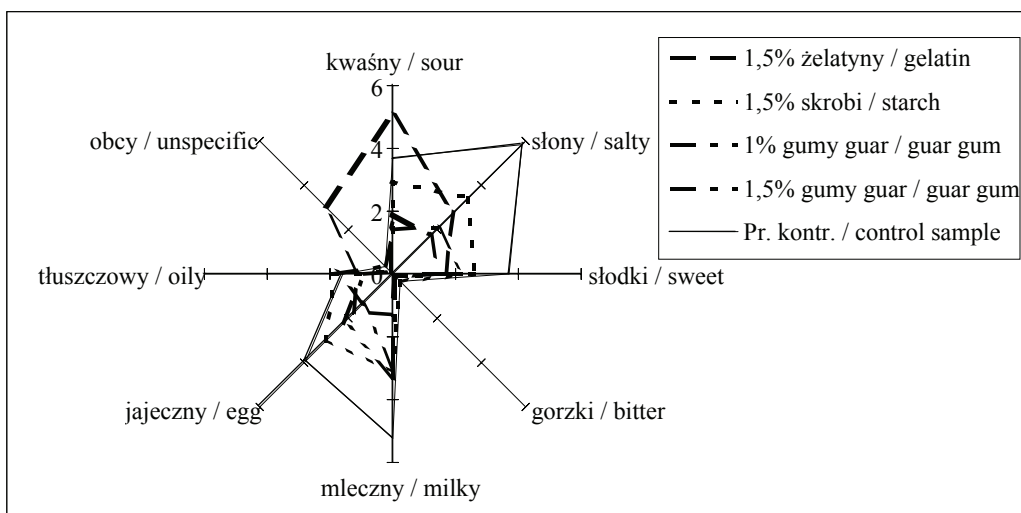


Rys. 6. Profil sensoryczny smaku majonezów inulinowych zawierających 0,5% żelatyny, skrobi lub gumy guar i 14,5% inuliny.

Fig. 6. Sensory profile of inulin mayonnaises taste with 0,5% of gelatin, starch or guar gum and 14,5% of inulin content.

Dodatek hydrokoloidów w ilości 0,5% powodował obniżenie oceny sensorycznej poszczególnych smaków w emulsjach, w porównaniu z próbką kontrolną (rys. 6). Może to być związane z synergistycznym oddziaływaniem pomiędzy inuliną a wybranymi hydrokoloidami, polegającym na maskowaniu niektórych smaków. Wyjątek stanowiły: smak kwaśny majonezu z dodatkiem żelatyny oraz smak obcy majonezu z hydrokoloidami, które otrzymały wyższe noty niż próbka kontrolna. Paneliści wyróżnili dodatkowo w majonezie z dodatkiem gumy guar smak obcy, definiowany jako gumowy. W majonezie z dodatkiem żelatyny, odczuwano smak mdły, natomiast dodatek skrobi powodował pojawienie się posmaku mącznego. Wszystkie majonezy z hydrokoloidami oraz próbka kontrolna charakteryzowały się znikomą wyczuwalnością smaku gorzkiego. Wyczuwalny był także smak jajeczny, pomimo braku dodatku żółtek jaj.

Również w przypadku 1 i 1,5% dodatku hydrokoloidów większość ocen smaku majonezów inulinowych była niższa niż próby kontrolnej (rys. 7). Wyjątek stanowił majonez z dodatkiem żelatyny, którego smak obcy (3,1) i kwaśny (5,0) oceniono wyżej niż smak próbki kontrolnej.

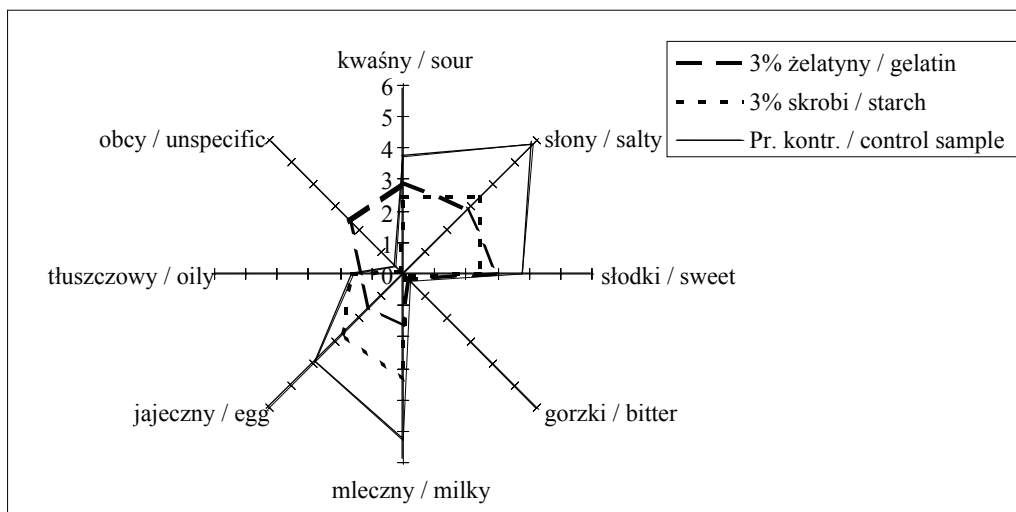


Rys. 7. Profil sensoryczny smaku majonezów inulinowych zawierających 1,5% żelatyny, skrobi lub gumy guar i 13,5% inuliny oraz majonezu inulinowego zawierającego 1% gumy guar i 14% inuliny.

Fig. 7. Sensory profile of inulin mayonnaises taste with 1,5% of gelatin, starch or guar gum and 13,5% of inulin content and of inulin mayonnaise with 1% guar gum and 14% of inulin content.

Dodatek 1,5% hydrokoloidów spowodował zmniejszenie odczucia smaku słonego i słodkiego, a także mlecznego i jajecznego, podobnie jak w przypadku 0,5% dodatku hydrokoloidów.

Istotne różnice smaku kwaśnego, słonego, słodkiego, mlecznego, jajecznego oraz obcego uzyskano w przypadku oceny sensorycznej majonezów z 3% dodatkiem skrobi i żelatyny (rys. 8).



Rys. 8. Profil sensoryczny smaku majonezów zawierających 3% żelatyny lub skrobi i 12% inuliny.

Fig. 8. Sensory profile of inulin mayonnaises taste with 3% of gelatin or starch and 12% of inulin content.

Tabela 5

Wyniki statystycznej analizy wpływu stężenia żelatyny i skrobi (0,5, 1,5, 3%) oraz gumy guar (0,5, 1, 1,5%) na smak majonezów inulinowych.

Statistic analysis results of influence of gelatin and starch (0,5, 1,5, 3%) and guar gum (0,5, 1, 1,5%) on inulin mayonnaise emulsions taste.

Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	F <sub>emp</sub>							
		Smak / taste							
Dodatek hydrokolidów Hydrocolloids additive	3	kwaśny sour	słony salty	słodki sweet	gorzki bitter	mleczny milky	jajeczny egg	tłuszczowy oily	obcy unspicy
Błąd losowy Random error	119								
Żelatyna / gelatin		11,50*	27,85*	7,67*	2,13	49,92*	17,98*	0,47	46,43*
Skrobia mod. / modified starch		3,32*	19,44*	5,35*	3,18*	13,80*	2,88*	0,20	52,52*
Guma guar / guar gum		13,77*	46,17*	16,05*	6,36*	14,81*	17,58*	2,09	3,14*

\*różnice statystycznie istotne na poziomie  $\alpha = 0,05$  / statistically significant difference at  $\alpha = 0,05$



Tabela 6

Wyniki analizy statystycznej wpływu rodzaju dodawanego hydrokoloidu (żelatyna, skrobia, guma guar) w ilości 0,5 i 1,5% na smak majonezów inulinowych.

Statistic analysis results of selected hydrocolloid (gelatin, starch, guar gum) influence, added in amount of 0,5 and 1,5% on taste of inulin mayonnaise emulsions.

Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	F <sub>emp</sub>							
Dodatek hydrokoloidów Hydrocolloids additive	3	Smak / taste							
Błąd losowy Random error	119	kwaśny sour	słony salty	słodki sweet	gorzki bitter	mleczny milky	jajeczny egg	tłuszczowy oily	obcy unspecific
0,5%		10,19*	23,72*	5,58*	4,09*	23,98*	11,44*	0,25	56,85*
1,5%		25,67*	34,28*	9,74*	3,02*	33,95*	18,23*	1,41	86,65*

\*różnice statystycznie istotne na poziomie  $\alpha = 0,05$  / statistically significant difference at  $\alpha = 0,05$

Tabela 7

Wyniki analizy statystycznej wpływu rodzaju dodawanego hydrokoloidu (żelatyna, skrobia) w ilości 3% na smak majonezów inulinowych.

Statistic analysis results of selected hydrocolloid (gelatin, starch) influence, added in amount of 3% on taste of inulin mayonnaise emulsions.

Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	F <sub>emp</sub>							
		Smak / taste							
		kwaśny sour	słony salty	słodki sweet	gorzki bitter	mleczny milky	jajeczny egg	tłuszczowy oily	obcy unspecific
Dodatek hydrokoloidów Hydrocolloids additive	2	4,70*	24,95*	4,79*	3,89*	34,83*	14,02*	0,25	64,58*
Błąd losowy Random error	89								

\*różnice statystycznie istotne na poziomie  $\alpha = 0,05$  / statistically significant difference at  $\alpha = 0,05$

Dodatek hydrokoloidów miał największy wpływ na smak słony, jajeczny oraz mleczny. W porównaniu z próbką kontrolną majonezy z hydrokoloidami charakteryzowały się niższą intensywnością tych smaków. Statystyczna analiza wyników wyka-

zała zależność smaku majonezów z dodatkiem hydrokoloidów zarówno od rodzaju dodawanego hydrokoloidu (tab. 6, 7), jak i od ilości, w jakiej został dodany do produktu (tab. 5).

### Wnioski

1. Majonezy z udziałem inuliny, bez dodatku substancji stabilizujących, charakteryzowały się niską stabilnością. Dodatek gumy guar korzystnie wpłynął na stabilność produktu końcowego. Może to świadczyć o synergistycznym oddziaływaniu inuliny i gumy guar.
2. Pomimo braku dodatku żółtek jaj w emulsjach z inuliną wyczuwalny był smak jajeczny. Dodatek hydrokoloidów powodował niekorzystne obniżenie intensywności odczuwania tego smaku.
3. Guma guar okazała się dobrym dodatkiem do majonezów inulinowych. Majonez o zawartości 5% tłuszczu, 14% inuliny i 1% gumy guar uzyskał najwyższe oceny jakości ogólnej, odpowiadającej pożądaności konsumenckiej.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Acton J., Saffle R.: Stability of oil / water emulsion. *J. Food Sci.*, 1971, **36**, 11-18.
- [2] Baryłko-Pikielna N. Sensoryczna analiza profilowa i ocena konsumencka w opracowywaniu nowych produktów żywnościowych, *Mat. Konf. „Food product development – Opracowanie nowych produktów żywnościowych”*, Akademia Rolnicza, Poznań 1998, s. 207-220.
- [3] Cherbut C.: Inulin and oligofructose in the dietary fibre concept. *Br. J. Nutr.*, 2002, **87** (Suppl.2), 159-162.
- [4] Florowska A., Krygier K.: Zastosowanie nietrawionych oligosacharydów w produktach spożywczych. *Przem. Spoż.*, 2004, **58** (5), 45-47.
- [5] Franck A.: Technological functionality of inulin and oligofructose, *Br. J. Nutr.*, 2002, **87** (Suppl. 2), 287-291.
- [6] Kolida S., Tuohy K., Gibson G. R.: Prebiotic effects of inulin and oligofructose, *Br. J. Nutr.*, 2002, **87** (Suppl.2), 193-197.
- [7] Niness K.R.: Inulin and Oligofructose: What are they? *J. Nutr.*, 1999, **129** (Suppl.7), 1402-1406.
- [8] Pawlicki T.: Badania właściwości technologicznych inuliny w układach modelowych. Praca magisterska. SGGW, Wydział Technologii Żywności, Warszawa 2004.
- [9] PN-ISO-6564: 1999. Metodologia. Metody profilowania smakowitości.
- [10] Roberfroid M. B., van Loo J. A. E., Gibson G. R.: The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis product. *J. Nutr.*, 1998, **128**, 11-19.
- [11] Skowronek M., Fiedurek J.: Inulina i inulinazy, właściwości, zastosowania, perspektywy. *Przem. Spoż.*, 2003, **57** (3), 18-20.
- [12] Waszkiewicz-Robak B., Hoffmann M.: Żywność niskoenergetyczna. W: Żywność wygodna i żywność funkcjonalna – pod red. F. Świdorskiego. WNT, Warszawa 2003, rozdz. 19, s. 259-277.

- [13] Zimeri J. E., Kokini J. L.: The effect of moisture content on the crystallinity and glass transition temperature of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 2002, **48**, 299-304.


### STABILITY AND QUALITY OF NON-CHOLESTEROL, LOW-FAT MAYONNAISE EMULSIONS WITH INULIN

#### S u m m a r y

The study of mayonnaise emulsions with inulin production was taken because of its special nutritional properties, like prebiotic, increasing minerals absorption and bioavailability from food, but also because of its technological properties, like gel forming and possible synergism activity between other gelling substances to replace fat in food products.

The objective of this study was to improve stability and sensory quality of non-cholesterol, low-fat mayonnaise emulsions with 5% fat content and inulin addition as a fat replacer. Product stability was determined with Saffle and Acton method and appearance, taste and total quality were sensory analyzed. Control sample included 15% of inulin. An addition of 0,5, 1,5 and 3% of gelatin and modified starch (hydroxy propyl distarch phosphate) and 0,5, 1, 1,5% of guar gum and 14,5, 14, 13,5 and 12% of inulin were applied.

It was proved that mayonnaise emulsions with inulin without stabilizers had low - 83,8% - stability. It was stated that guar gum increased stability of examined emulsions to 100%. The highest marks of sensory quality received mayonnaises with starch and guar gum. It was also proved that starch addition had no influence on the most of examined parameters and sensory quality. Optimum was mayonnaise with 5% fat, 14% inulin and 1% guar gum content. Non-cholesterol and low-fat product was stable, with high glossiness and with taste accepted by consumers.

**Key words:** low-fat emulsions, hydrocolloids, inulin, stability, sensory analysis 

ALEKSANDRA GRASZKIEWICZ, MAŁGORZATA KAŻMIERSKA,  
JOANNA NIEDBALSKA

## WPLYW DODATKU PREPARATÓW MINERALNO-HUMINOWYCH ORAZ PRZECIWUTLENIACZY DO PASZY NIOSEK NA AKTYWNOŚĆ LIZOZYMU I CYSTATYNY W BIAŁKU JAJ

### Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu żywienia niosek paszą standardową, wzbogaconą preparatami mineralno-huminowymi oraz przeciwutleniaczami (wit. A i E) na aktywność lizozymu i cystatyny. Materiałem doświadczalnym były jaja pochodzące od trzech grup niosek linii Tetra SL, które skarmiano: A (grupa kontrolna) paszą standardową zawierającą 17% białka, 2700 kcal/kg; B z dodatkiem witamin A i E (kolejno: 10 000 j/kg i 20 mg/kg paszy); C z dodatkiem 2% humobentofetu (HB) i humokarbowitu (HK) oraz witamin A i E (w ilościach jw.). Doświadczenie przeprowadzono na jajach świeżych oraz przechowywanych przez 4 tygodnie w temperaturze 15°C. Aktywność lizozymu oznaczano spektrofotometrycznie, mierząc zmiany absorbancji roztworu bakterii *Micrococcus lysodeicticus* podczas enzymatycznej reakcji lizozymu. Inhibitorową aktywność cystatyny oznaczano metodą Nishida i wsp. oraz Siewińskiego.

Zróżnicowane żywienie istotnie wpłynęło na poziom aktywności cystatyny w świeżym białku jaja. W wariancie A, stanowiącym grupę kontrolną, aktywność cystatyny była najwyższa i osiągnęła wartość 421 j/100 mg białka. W wariantach B i C, będących grupą statystycznie jednorodną, w których nioski skarmiano paszami wzbogaconymi, uzyskano niższe poziomy inhibitorowej aktywności cystatyny. W grupie C aktywność ta była niższa o 26,2%, a w grupie B o 26% w odniesieniu do próby kontrolnej. Białko to nie wykazało stabilności przechowalniczej. Podczas 4-tygodniowego okresu przechowywania jaj aktywność cystatyny znacznie się obniżyła w obrębie wszystkich badanych grup. Najwyższy spadek aktywności cystatyny oznaczono w wariancie A, poziom ten obniżył się o 35% w porównaniu z białkiem świeżym.

Wzbogacanie diety niosek korzystnie wpłynęło na aktywność lizozymu w białku jaj. Poziomy aktywności enzymu w grupach B i C były wyższe niż w grupie kontrolnej. Najwyższą wartość aktywności lizozymu otrzymano w białku jaj pochodzących od kur skarmianych paszą z dodatkiem witamin A i E (wariant B).

**Słowa kluczowe:** nioski, jaja, cystatyna, lizozym, inhibitory proteinaz cysteinowych, humobentofet, humokarbowit

---

*Mgr inż. A. Graszkwicz, dr inż. M. Kaźmierska, mgr J. Niedbalska, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław*

## Wprowadzenie

Jajo jest największą komórką, która zawiera informację genetyczną oraz wiele substancji niezbędnych do rozwoju nowego życia. Jest więc ono biologiczną kompozycją, w skład której wchodzi substancje odżywcze, takie jak: białka, tłuszcze witaminy i związki mineralne oraz biologicznie aktywne białka pełniące funkcję ochronną przed drobnoustrojami rozwijającego się zarodka [4, 9]. Wśród tych ostatnich należy wymienić lizozym, owomukoid, owoinhibitor, cystatynę i awidynę. Szczególnie interesujące są: lizozym i cystatyna. Lizozym jest zasadowym białkiem globularnym o masie cząsteczkowej 14 300 Da. U różnych gatunków ptaków zidentyfikowano odmienne formy tego białka, różniące się masą cząsteczkową oraz pochodzeniem gatunkowym ptaka. Lizozym typu c występuje w jajach ptaków grzebiących i kaczek, natomiast lizozym typu g w jajach gęsi i dzikiego ptactwa [4]. Lizozym wykazuje aktywność muramidazy i chitynazy, przez co ma właściwości bakteriobójcze. Białko to charakteryzuje się zdolnością flokulacyjną w wyniku oddziaływania elektrostatycznego do ujemnie naładowanej ściany komórkowej bakterii [10]. Lizozym ma zdolność inaktywacji wirusów poprzez wiązanie się z ich DNA. Dzięki trawieniu pozostałości ścian uszkodzonych bakterii lizozym prowadzi do powstania antygenowych fragmentów glikopeptydowych, które inicjują formowanie się przeciwciał [5, 6, 9, 12].

Cystatyna wykazuje właściwości bakteriobójcze i antywirusowe [6]. Należy do rodziny endogennych inhibitorów proteinaz cysteinowych [13]. Białko to wykazuje silne działanie inhibitorowe w stosunku do ficyny i papainy, ponadto wykazuje zdolność inhibowania bromelainy i katepsyn: B, H i L. Szczególnie ważną funkcją cystatyny jest wewnątrzkomórkowa i zewnątrzkomórkowa kontrola rozkładu białek [1]. Stąd też cystatyna cieszy się dużym zainteresowaniem w klinicyście. Badania naukowe wskazują, że cystatyna wyizolowana z białka jaj kurzych, poprzez hamowanie ekspresji katepsyn B i L w inwazyjnych komórkach nowotworowych szczurów, może być rozważana jako alternatywa dla leków stosowanych w terapii przeciwnowotworowej [9, 12].

Synteza białek w jaju jest determinowana przez informację genetyczną zawartą w DNA [3]. Może ona jednak podlegać modelowaniu przez substancje dostarczone w diecie. Modyfikacja sposobu żywienia niosek wpływa więc na poziom syntezy poszczególnych białek. Przemysł żywnościowy ukierunkowany jest na poszukiwanie nowych czynników przedłużających trwałość produktów spożywczych. Lizozym i nystatyna, jako substancje o silnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i antywirusowych, mogą znaleźć zastosowanie jako środki ochronne w procesach utrwalania żywności oraz w preparatach farmaceutycznych [2, 14].

Celem przedstawionej pracy było określenie wpływu żywienia niosek paszą standardową wzbogaconą preparatami mineralno-huminowymi oraz przeciwutleniaczami (wit. A i E) na aktywność lizozymu i cystatyny.

## Materiały i metody badań

Materiałem doświadczalnym były jaja pochodzące od trzech grup niosek linii Tetra SL skarmianych: A (grupa kontrolna) paszą standardową zawierającą 17% białka, 2700 kcal/kg; B z dodatkiem witamin: A i E (kolejno: 10 000 j/kg i 20 mg/kg paszy) i C z dodatkiem 2% humobentofetu (HB) i humokarbowitu (HK) oraz witamin A i E (w ilościach jw.). Eksperyment przeprowadzono na jajach świeżych oraz przechowywanych przez 4 tygodnie w temp. 15°C.

Aktywność lizozymu oznaczano metodą densymetryczną, mierząc zmiany absorbancji standardowej liofilizowanej zawiesiny ściany komórkowej bakterii *Micrococcus lysodeicticus* (Sigma) podczas reakcji z lizozymem. Reakcję prowadzono przez 6 min w temp. 25°C, mierząc absorbancję przy  $\lambda=450$  nm, co 60 s w trakcie trwania reakcji. Jednostkę enzymatycznej aktywności lizozymu stanowiła zmiana absorbancji zawiesiny o wartość 0,0001 w ciągu 1 min.

Inhibitorową aktywność cystatyny oznaczano metodą Nishida i wsp. [7] oraz Siewińskiego [8]. Metoda ta polega na kolorymetrycznym pomiarze produktów powstałych w wyniku enzymatycznej reakcji papainy z BANA (N-bezoil-DL-arginyl- $\beta$ -naphtylamide hydrochloride), będącym substratem. Reakcję prowadzono przez 20 min w temp. 37°C. Po tym czasie działanie enzymu hamowano roztworem 9,10-dimethyl-1,2-benzoantracenu w kwasie octowym. Absorbancję mierzono przy  $\lambda = 450$  nm. Za jedną jednostkę aktywności inhibitorowej cystatyny uznano ilość hamującą jedną jednostkę aktywności papainy, tj. taką ilość enzymu, która hydrolizuje 1,0 mmol substratu w ciągu 1 min w opisanych powyżej warunkach.

Analizę wyników przeprowadzono w programie Statistica wersja 6.0, przy użyciu jednokierunkowej analizy wariancji (ANOVA), na poziomie istotności  $p = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Modyfikacja składników paszy w żywieniu niosek wywarła znaczący wpływ na poziom aktywności cystatyny i lizozymu zarówno w świeżym, jak i przechowywanym białku jaja. Najwyższą aktywność cystatyny (421 j/100 mg) oznaczono w białku jaj od kur żywionych paszą standardową (grupę kontrolną tab. 1). Wzbogacenie paszy w witaminy A i E wraz z preparatami mineralno-huminowymi (wariant B) lub tylko w witaminy A i E (wariant C), spowodowało obniżenie poziomu inhibitorowej aktywności cystatyny o ok. 27%.

Podczas 4-tygodniowego przechowywania jaj aktywność cystatyny znacznie obniżyła się, szczególnie w jajach grupy kontrolnej (o ok. 35% w porównaniu z białkiem świeżym). Ujemny wpływ procesu przechowywania jaj na inhibitorową aktywność cystatyny stwierdzono w badaniach wykonanych przez Kopcina i wsp. [6], w których aktywność cystatyny podczas 2-tygodniowego przechowywania jaj, pochodzących od

niosek skarmianych paszą standardową, obniżyła się o 7,4%, a po 4 tygodniach odnotowano dalszy spadek aktywności o 88,6%. Badania te mogą wskazywać na słusność teorii, według której inhibitory proteinaz cysteinowych uczestniczą w mechanizmach ochronnych żółtka stanowiącego rezerwuuar substancji odżywczych oraz rozwijającego się zarodka, a ich zawartość zmniejsza się podczas przechowywania jaj [11].

W przypadku lizozymu wzbogacenie paszy standardowej w witaminy wykazujące właściwości przeciwutleniające korzystnie wpłynęło na jego aktywność w jajach świeżych (tab. 2). Najwyższy poziom aktywności lizozymu, wynoszący 123383 j/100 mg, oznaczono w białku jaj pochodzącym od kur skarmianych paszą z dodatkiem witaminy A i E (wariant B). Natomiast wprowadzenie do paszy substancji mineralno-huminowych nie wpłynęło istotnie na poziom aktywności enzymu. Wyższe poziomy aktywności lizozymu otrzymane w białku jaj, podczas dostarczania nioskom witamin A i E, mogą być wynikiem ochronnego działania tych przeciwutleniaczy w stosunku do substancji tłuszczowych uczestniczących w przemianach metabolicznych, których wynikiem jest obecność estrogenów w serum krwi ptaka. Z kolei estrogeny wpływają na różnicowanie się komórek jajowodu produkujących albuminy i lizozym białka [9, 15].

Tabela 1

Aktywność cystatyny w białku jaj świeżych i przechowywanych w zależności od modyfikacji żywienia. Cystatin activity in fresh and stored egg white in relation to hens feed modification.

Warianty doświadczenia Experiment variants	Parametr statyst. Statistical parameter	Inhibitorowa aktywność cystatyny [ j/100 mg białka] Cystatin activity [units/100 mg protein]	
		jaja świeże fresh eggs	jaja przechow. 4 tyg. stored for 4 weeks eggs
A (grupa kontrolna) (control )	$\bar{x}$ SD	421 <sup>d</sup> 14,4	251 <sup>a</sup> 19,1
B (wit. A + E) (vitamins A+E)	$\bar{x}$ SD	306 <sup>c</sup> 19,5	274 <sup>b</sup> 53,1
C (2% humobentofet (HB), humokarbowit (HK), wit. A + E) (2% humobentofet, humocarbovite vitamins A+E)	$\bar{x}$ SD	310 <sup>c</sup> 21,1	288 <sup>b,c</sup> 17,7

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

a, b, c, d – grupy statystycznie jednorodne przy poziomie istotności  $p = 0,05$  / the same letter in indices of mean values shows no significant differences at  $p = 0.05$ .

Tabela 2

Aktywność lizozymu w białku jaj świeżych i przechowywanych w zależności od modyfikacji żywienia.  
Lysozyme activity in fresh and stored egg white in relation to hens feed modification.

Warianty doświadczenia Experiment variants	Parametr statyst. Statistical parameter	Inhibitorowa aktywność lizozymu [j/100 mg białka] Inhibitorial Lysozyme activity [units/100 mg protein])	
		jaja świeże fresh eggs	jaja przechow. 4 tyg. stored for 4 weeks eggs
A (grupa kontrolna) (control)	$\bar{X}$ SD	109 750 <sup>e</sup> 4 548	116 483 <sup>f,g</sup> 6 294
B (wit. A + E) (vitamins A+E)	$\bar{X}$ SD	123 383 <sup>h</sup> 4 826	119 975 <sup>g,h</sup> 2 831
C (2% humobentofet (HB), humokarbowit (HK), wit. A + E) (2% humobentofet, humocarbovite vitamins A+E)	$\bar{X}$ SD	113 592 <sup>e,f</sup> 6 705	110 692 <sup>e</sup> 4 270

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

Lizozym wykazał większą stabilność podczas przechowywania niż cystatyna. Najniższą aktywność tego białka po 4 tygodniach przechowywania uzyskano w przypadku jaj pochodzących od niosek skarmianych paszą wzbogaconą w HB i HK z wit. A i E (wariant C).

### Wnioski

1. Dodatek humobentofetu, humokarbowitu i witamin A i E do pasz wpłynął na obniżenie poziomu aktywności cystatyny w jajach świeżych.
2. W trakcie 4-tygodniowego przechowywania jaj następował spadek aktywności cystatyny w białku, szczególnie jeśli nioski były żywione paszą standardową.
3. Obecność witamin A i E w diecie niosek wpłynęła korzystnie na poziom aktywności lizozymu w białku jaj.

*Przedstawione wyniki stanowią fragment badań realizowanych w ramach projektu rozwojowego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr R1201401. Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*



### Literatura

- [1] Barrett A. J.: Cystatin, the egg white inhibitor of cysteine proteinases. *Methods Enzymol.*, 1981, **80**, 771-778.
- [2] Cunningham F. E., Proctor V. A., Goetsch S. J.: Egg white lysozyme as food preservative. An overview. *World's Poultry Sci. J.*, 1991, **47**, 141-163.
- [3] Grashorn M. A.: Enrichment of eggs and poultry meat with biologically active substances by feed modifications and effects on the final quality of the product. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14/55**, SI 1, 15-20.
- [4] Kaźmierska M., Jarosz B., Korzeniowska M., Trziszka T., Dobrzański T.: Comparative analysis of fatty acid profile and cholesterol content of egg yolks of different bird species. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14/55**, SI 1, 69-73.
- [5] Kopeć W., Trziszka T.: Lizozym i jego charakterystyka. Cz. 2. Izolacja i możliwości praktycznego wykorzystania. *Przem. Spoż.*, 1997, **3**, 36-37.
- [6] Kopeć W., Skiba T., Korzeniowska M., Bobak Ł., Trziszka T.: Activity of protease inhibitors and lysozyme of hen's egg white depending on feed modification and egg storage. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14/55**, SI 1, 79-83.
- [7] Nishida Y., Sumi H., Mihara H.: A thiol protease inhibitor released from cultured human malignant melanoma cells. *Cancer Res.*, 1984, **44**, 3324-3329.
- [8] Siewiński M.: Method of purification of thiol proteinase inhibitors from human urine. *Cancer Biochem. Biophys.*, 1991, **12**, 33-44.
- [9] Trziszka T.: Budowa i skład chemiczny jaja. W: *Jajczarstwo, Nauka, Technologia, Praktyka* - red. T. Trziszka, Wyd. AR we Wrocławiu., 2000, s. 147-188.
- [10] Trziszka T.: Naturalne bariery obronne jaj kurzych. 2002, [www.ppr.pl](http://www.ppr.pl)
- [11] Trziszka T., Saleh Y., Kopeć W., Siewiński M., Węsierska E.: Effect of hen's age on the level of cystatin in the chicken egg white. *Int. J. Poultry Sci.*, 2004, **3**, 471-477.
- [12] Trziszka T., Kopeć W., Skiba T., Dobrzański T.: Proteinases activity inhibitors in the egg white depending on various housing systems of egg layers. *Proc. XII Europ. Poultry Conference Verona-Italy WPSA 2006*, CD
- [13] Turk V., Bode W.: The cystatins: protein inhibitors of cysteine proteinases. *FEBS Lett.*, 1991, **285**, 213-219.
- [14] Węsierska E., Saleh Y., Trziszka T., Kopeć W., Siewiński M.: Antimicrobial activity of chicken egg white cystatin. *World J. Biotechnol. Microbiol.*, 2005, **22**, 59-64.
- [15] Whitehead C. C., Bowman A. S., Griffin H. D.: Regulation of plasma oestrogen by dietary fats in the laying: relationships with egg weight. *Br. Poult. Sci.*, 1993, **34**, 999-1010.

#### THE EFFECT WITH MINERAL-HUMINE PREPARATIONS AND ANTIOXIDANTS ADDITION TO FEED ON THE ACTIVITY OF LYSOZYME AND CYSTATIN IN EGG WHITE

#### Summary

The aim of this paper was to recognise the effect of feed modification, with standard feeding enriched with mineral-humine preparations and antioxidants (vit. A + E) on the activity of lysozyme and cystatin.

Experimental materials were eggs from 3 groups of Tetra SL laying hens: A control group with standard feeding (17% protein, 2700 kcal/kg); B with addition vitamins A (10 000 unit/kg) and E (20 mg/kg); C with addition 2% humobentofet (HB), humocarbovit (HK) and vitamins A +E. Experiment occurred

fresh Eggs stored 4 weeks at 15°C. Lysozyme activity was analysed spectrophotometrically by measuring changes in optical density of *Micrococcus lysodeicticus* solution during enzymatic lysozyme reaction. Inhibitory activity of cystatin was measured according to Nishida *et al* [7] and Siewiński [8].

Differential feeding significantly affected the level of cystatin activity in fresh egg white. In control group (A) this activity was the highest (421 units/100 mg protein). Lower cystatin activity was estimated in eggs from groups B and C laid by hens with enriched feeding. In group C this activity was lower on about 26.2% and in group B on 26% in comparison to control group. This protein did not have storage stability. The activity of cystatin in all samples decreased during storage for 4 weeks. The highest decrease of cystatin activity (35% related to fresh egg white) was analysed in group A.

Feeding modification had a positive effect on lysozyme activity in fresh egg white. The level of lysozyme enzymatic activity was higher in groups B and C than in control group. The highest lysozyme activity was obtained in egg white derived from layers fed with vitamins A and E (group B).

**Key words:** laying hens, eggs, cystatin, lysozyme, cysteine protease inhibitors, humobentofet, humocarbovite ☒

AGNIESZKA LATOCH

## WPLYW SONIFIKACJI NA WŁAŚCIWOŚCI ŻELU MIOFIBRYLI PODCZAS DOJRZEWANIA MIĘSA WOŁOWEGO

### Streszczenie

Celem badań było określenie zmian właściwości termoreologicznych białek miofibrylarnych, wyznaczenie początkowej i końcowej temperatury ich żelowania podczas dojrzwania mięsa wołowego sonifikowanego bezpośrednio po uboju ultradźwiękami o niskiej częstotliwości drgań. Badania przeprowadzono na mięśniu półbłoniastym młodego bydła rzeźnego. Surowiec przeznaczony do badań bezpośrednio po uboju dzielono na trzy części, uzyskując próbę kontrolną (K) oraz dwie próby przeznaczone do obróbki falami ultradźwiękowymi o częstotliwości 25 kHz (U) i 45 kHz (Z). Badania lepkości przeprowadzono na homogenatach otrzymywanych z mięsa (w 0,6 M NaCl, pH 6,2) po 24, 48 i 72 godz. dojrzwania w warunkach chłodniczych. Wartość pH prób ustalano na poziomie 5,3, i 7,0. Wyznaczono początkową i końcową temperaturę żelowania.

Przeprowadzone badania wykazały, że zmiany cech lepkości homogenatów mięsa w 0,6 M NaCl zależą od sposobu sonifikacji, czasu, jaki upłynął od uboju i pH. Stwierdzono, że ustalenie pH homogenatu na poziomie 5,3 prowadzi do koagulacji białek w nim zawartych. W środowisku obojętnym (pH 7,0) zmiany termoreologiczne homogenatów mięśniowych wszystkich badanych prób rozpoczynały się w temp. ok. 60°C. Próby sonifikowane (pH 7,0) cechowały się wyższą o ok. 1-2°C początkową temperaturą zmian lepkości w porównaniu z próbą kontrolną.

**Słowa kluczowe:** mięso wołowe, homogenaty mięsa, żelowanie miofibryli, sonifikacja

### Wprowadzenie

Właściwości termoreologiczne homogenatów oraz żelowanie termiczne białek miofibrylarnych mają istotne znaczenie w przetwórstwie mięsa, zwłaszcza w procesach technologicznych wymagających obróbki cieplnej [12]. Białka miofibrylarne tworzą żełe, a wiążąc tłuszcz i wodę, kształtują teksturę produktu. Oddziałują na spójność farszów, a tym samym na jakość rozdrobnionych produktów mięsnych [15]. Właściwości reologiczne, stopień zdenaturowania białek miofibrylarnych oraz stopień ich agregacji często są wyrażane poprzez pomiar lepkości, który silnie koreluje ze zmia-

nami w cząsteczkach białek mięśniowych [3, 8]. Wzrost stężenia białka i podwyższenie wartości pH zwiększają lepkość białek [3, 15]. Natomiast wzrost siły jonowej roztworu powoduje obniżenie lepkości [9, 15]. Zmiany reologiczne wywołane obróbką termiczną wynikają z denaturacji i towarzyszącej jej agregacji białek miofibrylarnych.

Celem badań było określenie zmian właściwości termoreologicznych białek miofibrylarnych oraz wyznaczenie początkowej i końcowej temperatury ich żelowania podczas dojrzewania mięsa wołowego sonifikowanego bezpośrednio po uboju.

### **Material i metody badań**

Badania przeprowadzono na mięśni pólbloniastym (*m. semimembranosus*) młodego bydła rzeźnego rasy nizinnej czarno-białej. Surowiec przeznaczony do badań bezpośrednio po uboju dzielono na trzy części (o masie ok. 0,5 kg), uzyskując próbę kontrolną (K) oraz dwie próby przeznaczone do obróbki falami ultradźwiękowymi o częstotliwości 25 kHz (U) i 45 kHz (Z) oraz natężeniu  $2 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ . Czas ekspozycji w polu ultradźwiękowym wynosił 2 min. Próby mięsa do badań przechowywano w warunkach chłodniczych. Po upływie określonego warunkami badań czasu przechowywania tj.: 24, 48 i 72 godz. od uboju z mięsa przygotowywano homogenaty, które poddawano badaniom. Badania przeprowadzono w trzech seriach. Przedstawione wyniki są wartościami średnimi obliczonymi przez wewnętrzny program komputerowy urządzenia pomiarowego.

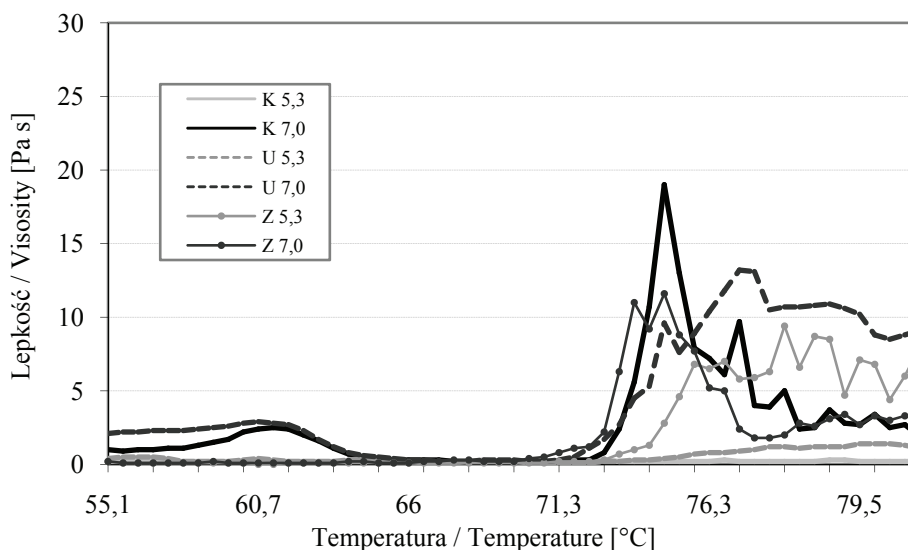
Właściwości termoreologiczne homogenatów mięsa oceniano w 0,6 M roztworze NaCl; pH 6,2. Stężenie białka w homogenacie wynosiło 4%. Wartość pH homogenatu ustalano na poziomie 5,3 (próby K 5,3; U 5,3; Z 5,3) i 7,0 (próby K 7,0; U 7,0; Z 7,0), używając 1M HCl lub 1M NaOH. Homogenat ogrzewano w temp. od 20 do 80°C, gradient przyrostu temperatury wynosił  $3^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Badania przeprowadzono przy użyciu wiskozymetru rotacyjnego firmy Brookfield Engineering Laboratories model RV, wyposażonego we wrzeciono SC4-29, prędkość ścinania wynosiła  $2,5\cdot\text{sek}^{-1}$ . Zmiany lepkości homogenatów w funkcji temperatury rejestrowano za pomocą programu komputerowego. Na podstawie otrzymanych wyników badań wyznaczono początkową i końcową temperaturę żelowania.

### **Wyniki i dyskusja**

Zmiany cech lepkosprężystych homogenatów mięsa zależały od: sposobu sonifikacji, wartości pH i czasu, jaki upłynął od uboju (rys. 1-3). Analizując przebieg krzywych lepkości homogenatów mięsa o pH 7,0 w funkcji temperatury (20–80°C) stwierdzono charakterystyczne zmiany lepkości. W temp. od 20 do 60°C lepkość badanych prób nie zmieniała się. Następnie wraz ze wzrostem temp. powyżej 61°C lepkość homogenatów obniżała się, a po przekroczeniu 69–70°C ponownie wzrastała. Podobne

zależności otrzymano we wcześniejszych badaniach właściwości termoreologicznych homogenatów o pH 6,2 w tym samym zakresie temperatury.

W próbach o pH 5,3 (K 5,3, U 5,3, Z 5,3) stwierdzono koagulację homogenatu, w związku z czym lepkość była niska i nie przekraczała 4,0 Pa·s w czasie obróbki w temp. od 20 do 70°C, niezależnie od czasu od uboju. Przy tej wartości pH nie stwierdzono wpływu sonifikacji mięsa po uboju na zróżnicowanie lepkości pomiędzy próbami K, U i Z (rys. 1-3).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

K 5,3 - homogenat mięsa próby kontrolnej; pH 5,3 / meat homogenate of control sample; pH 5,3

K 7,0 - homogenat mięsa próby kontrolnej; pH 7,0 / meat homogenate of control sample; pH 7,0

U 5,3 - homogenat mięsa próby sonifikowanej falami o częstotliwości 25 kHz; pH 5,3 / meat homogenate of sample sonicated at frequency of 25 kHz; pH 5,3

U 7,0 - homogenat mięsa próby sonifikowanej falami o częstotliwości 25 kHz; pH 7,0 / meat homogenate of sample sonicated at frequency of 25 kHz; pH 7,0

Z 5,3 - homogenat mięsa próby sonifikowanej falami o częstotliwości 45 kHz; pH 5,3 meat homogenate of sample sonicated at frequency of 45 kHz; pH 5,3

Z 7,0 - homogenat mięsa próby sonifikowanej falami o częstotliwości 45 kHz; pH 7,0 meat homogenate of sample sonicated at frequency of 45 kHz; pH 7,0

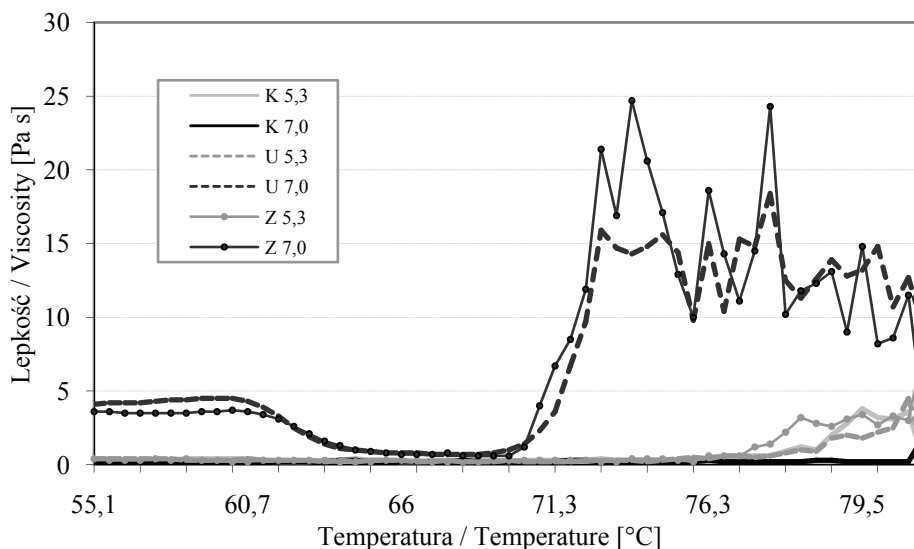
Rys. 1. Lepkość homogenatów mięsa wołowego w 0,6 M NaCl otrzymanych po 24 godz. od uboju.

Fig. 1. Viscosity of meat homogenates at 0,6 M NaCl (24 hours of ageing).

Inaczej przedstawiają się termoreogramy homogenatów mięsa, w których wartość pH ustalano na poziomie 7,0 (K 7,0, U 7,0, Z 7,0). W homogenatach otrzymanych po 24 godz. od uboju (rys. 1), podczas ogrzewania do temp. 57°C próby K 7,0, nie stwierdzono zmian lepkości (1,0 Pa·s), podobnie w próbie U 7,0 podczas ogrzewania do

temp. 58°C (2,3 Pa·s). W temp. 60,7°C zaobserwowano pierwszy wzrost lepkości w próbie K 7,0 do 2,5 Pa·s, zaś w próbie U 7,0 w temp. 60,1°C do 2,9 Pa·s. Wzrost temperatury ogrzewania powodował obniżenie, o ok. 0,3 Pa·s, lepkości obu prób. Niska lepkość homogenatów utrzymywała się do temp. 72,5°C w próbie K 7,0 i do 71,5°C w próbie U 7,0. Dalsze ogrzewanie powodowało gwałtowny wzrost lepkości badanych prób. Inny przebieg miała krzywa lepkości próby Z 7,0. Lepkość tej próby w zakresie od 20 do 71°C nie zmieniała się i wynosiła ok. 0,2 Pa·s, powyżej temp. 71°C obserwowano znaczny wzrost lepkości.

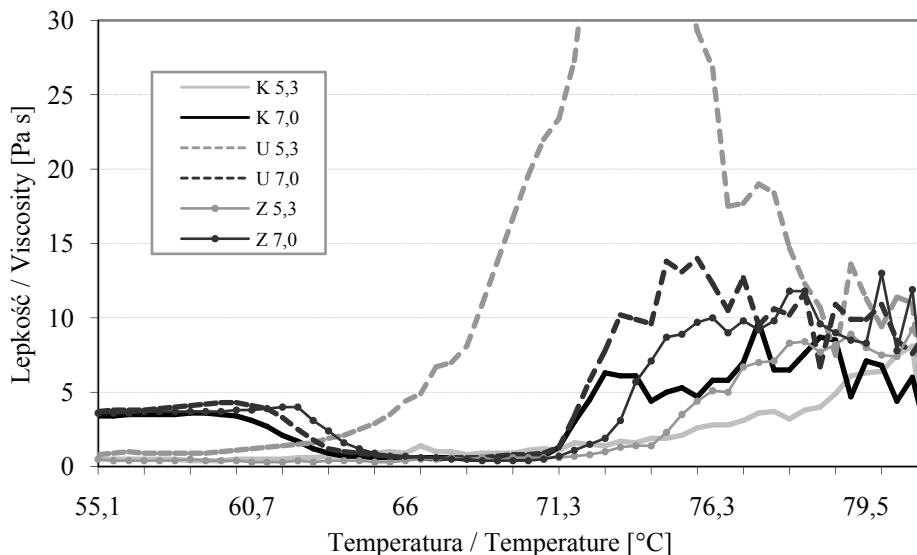
W trzeciej dobie po uboju (rys. 2) nie stwierdzono wpływu temperatury w zakresie 20–80°C na zmianę lepkości próby K 7,0. Lepkość tej próby wynosiła w badanym zakresie temperatury ok. 0,2 Pa·s. Nie stwierdzono także charakterystycznego wzrostu lepkości w temp. ok. 55°C w próbie Z 7,0. W tej próbie lepkość wynosząca ok. 3,5 Pa·s utrzymywała się do temp. 62°C, powyżej której obniżyła się do 0,7 Pa·s. Początek wzrostu lepkości stwierdzono w temp. 70°C. Typowym przebiegiem krzywej lepkości w funkcji temperatury charakteryzowała się próba U 7,0. Początkowa lepkość tej próby wynosiła 4,0 Pa·s. Wzrost lepkości stwierdzono w temp. 57°C, z maksimum wynoszącym 4,5 Pa·s w temp. 59°C. W temp. 64°C wystąpiło minimum lepkości (0,7 Pa·s) utrzymujące się do temp. 69°C, powyżej której nastąpił maksymalny wzrost lepkości.



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

Rys. 2. Lepkość homogenatów mięsa wołowego w 0,6 M NaCl otrzymanych po 48 godz. od uboju.

Fig. 2. Viscosity of meat homogenates at 0,6 M NaCl (48 hours of ageing).



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

Rys. 3. Lepkość homogenatów mięsa wołowego w 0,6 M NaCl otrzymanych po 72 godz. od uboju.

Fig. 3. Viscosity of meat homogenates at 0,6 M NaCl (72 hours of ageing).

Po 72 godz. od uboju (rys. 3) ogrzewanie próby K 7,0 w temp. od 20 do 60°C lub 61°C w przypadku prób U 7,0 i Z 7,0 nie zmieniło ich lepkości. Lepkość we wszystkich badanych próbach wynosiła ok. 3,5–3,7 Pa·s. W czwartej dobie po uboju we wszystkich próbach nie stwierdzono wzrostu lepkości, lecz jej obniżenie, do ok. 0,6 Pa·s, po przekroczeniu wyżej wymienionych zakresów temperaturowych. Początek maksymalnego wzrostu lepkości stwierdzono w temp. 71°C w próbie K 7,0 i U 7,0 oraz 71,5°C w próbie Z 7,0.

Zmiany w strukturach białka, sposób i tempo ogrzewania oraz dodatek soli mają wpływ na reologiczne właściwości mięsa białek mięśniowych oraz rozdrobnionych farszów mięsnych. Zmiany reologiczne wywołane obróbką termiczną są efektem denaturacji i towarzyszącej jej agregacji białek miofibrilarnych [5, 6, 10].

W reotermogramach rozdrobnionego i/lub solonego mięsa występują charakterystyczne cechy, które są niezależne od rodzaju i gatunku zwierzęcia [1, 4, 14]. Podczas obróbki w temp. 30–40°C zaczyna się wzrost właściwości sprężystych i lepkich, po którym następuje ich obniżenie, a następnie ponowny wzrost zaczynający się w temp. 55–60°C. Na początkowy wzrost sprężystości w dużej mierze wpływają zmiany w strukturze miozyny [11, 13]. Obniżenie lepkości w temp. ponad 40°C jest spowodowane obecnością aktomiozyny i tworzenia spójnej matrycy żelu. Przy wyższych wartościach pH, tendencja do koagulacji dominuje w temp. pomiędzy 40 i 50°C. Obniżeniu lepkości we

włóknkach mięśniowych wołowiny w temp. pomiędzy 40–60°C przypisuje się procesowi wytrącania białek miofibrylarnych. Znaczne obniżenie sprężystości żelu w temp. powyżej 65°C również tłumaczone jest koagulacją białek miofibrylarnych [5].

Na podstawie zmian lepkości homogenatów mięsa podczas dojrzewania można określić stopień zdenaturowania i agregację białek miofibrylarnych [2, 3, 8]. Wiąże się one ze zmianami w cząsteczce miozyny i aktomiozyny [11]. Wzrost stężenia białka i wartości pH zwiększają lepkość aktomiozyny [3, 15], natomiast wzrost siły jonowej roztworu zawierającego aktomiozynę obniża jej lepkość [5]. Wynika to prawdopodobnie z faktu, że wzrostowi stężenia soli towarzyszy wzrost liczby monomerów aktomiozyny. Małe cząsteczki powodują zmniejszenie lepkości. W zależności od wartości pH i siły jonowej cząsteczka miozyny ma różnie uporządkowaną strukturę. Przy niskiej sile jonowej i neutralnym pH (7,0) cząsteczki miozyny są „spakowane” jako włókna, ale działając siłą jonową powyżej 0,3, cząsteczki miozyny dzielą się tworząc monomery [3, 9].

### Wnioski

1. Lepkość homogenatów mięsa w 0,6 M NaCl zależy od czasu dojrzewania mięsa, kwasowości środowiska i sposobu sonifikacji. W zakresie temp. od 20 do 60°C lepkość badanych homogenatów przy pH 7,0 nie zmieniała się. Wraz z dalszym podwyższaniem temperatury ogrzewania obserwowano charakterystyczne zmiany lepkości badanych prób.
2. Homogenaty, w których wartość pH ustalono na poziomie 5,3 uległy koagulacji, w związku z czym nie można było stwierdzić wpływu sonifikacji o niskiej częstotliwości drgań na lepkość.
3. Homogenaty otrzymane z mięsa poddanego sonifikacji w polu ultradźwiękowym o niskiej częstotliwości i średnim natężeniu drgań, w których wartość pH wynosiła 7,0 cechowały się wyższą o ok. 1-2°C początkową temperaturą żelowania. Temperatura końcowych przemian kształtowała się na podobnym poziomie we wszystkich badanych próbach.

*Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Boyer C., Joandel S., Ouali A., Culioli J.: Determination of surface hydrophobicity of fast and slow myosins from rabbit skeletal muscles: implication in heat-induced gelation. *J Sci Food Agric.*, 1996, **72**, 367-375.
- [2] Chapleau N. J., de Lamballerie-Anton M. I.: Changes in myofibrillar proteins interactions and rheological properties induced by high-pressure processing. *Eur Food Res Technol.*, 2003, **216**, 470–476.
- [3] Cofrades S., Careche M., Carballo J., Jimenez-Colmenero F.: Protein concentration, pH and ionic strength affected apparent viscosity of actomyosin. *J. Food Sci.*, 1993, **58**, 1269.




- [4] Culioli J., Boyer C., Vignon X., Ouali A.: Heat-induced gelation properties of myosin: Influence of purification and muscle type. *Sci. Aliments.*, 1993, **13**, 249-260.
- [5] Egelanddal B., Martinsen B., Autio K.: Rheological parameters as predictors of protein functionality: A model study using myofibrils of different fibre-type composition. *Meat Sci.*, 1995, **39 (S)**, 97-111.
- [6] Hung T., Smith D. M.: Dynamic rheological properties and microstructure of partially insolubilized whey protein concentrate and chicken breast salt-soluble protein gels. *J. Agric. Food Chem.*, 1993, **41**, 1372-1378.
- [7] Latoch A., Dolatowski Z. J.: Właściwości termoreologiczne homogenatów otrzymanych z sonifikowanego mięsa wołowego. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tł.*, 2004, **t. XLI**, 181-188.
- [8] Lesiów T.: Wpływ przechowywania mięśni piersi kaczek w temperaturze  $-18\pm 2^{\circ}\text{C}$  na lepkość roztworów białek oraz farszu. *Prace Naukowe AE we Wrocławiu, Technologia*, 1994, **675 (7)**.
- [9] Ockerman H. W., Lesiów T.: Viscosity of semimembranosus and longissimus dorsi bull muscle homogenates. *Bulletin The Ohio State University Extension Research. Research and Reviews: Meat Special Circular 2001*, pp. 183-02.
- [10] Robe G. H., Xiong Y. L.: Dynamic rheological studies on salt-soluble proteins from three porcine muscles. *Food Hydrocoll.*, 1993, **7**, 137-146.
- [11] Sano T., Noguchi S. F., Tsuchiya T., Matsumoto J. J.: Dynamic viscoelastic behavior of natural actomyosin and myosin during thermal gelation. *J. Food Sci.*, 1988, **53**, 924-928.
- [12] Smith D. M.: Meat proteins functional properties in communitated meat products. *Food Tech.*, 1988, **42**, 116-121.
- [13] Smyth A. B., Smith D. M., Vega-Warner V., O'Neill E.: Thermal denaturation and aggregation of chicken breast muscle myosin and subfragments. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 1005-1010.
- [14] Xiong Y. L.: Miofibrillar protein from different muscle fiber type: Implications of biochemical and functional properties in meat processing. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1994, **34**, 293-320.
- [15] Xiong Y. L., Blanchard S. P.: Rheological properties of salt-soluble protein from white and red skeletal muscles. *J. Agric. Food Chem.* 1994, **42**, 1624.

#### SONICATION INFLUENCE ON MYOFIBRILLAR GELS PROPERTIES DURING BEEF AGEING

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

The aim of the study was evaluation the thermorheological properties of myofibrillar proteins, determination of initial and final temperature of gelation process during meat ageing sonicated right after the slaughter with low frequency ultrasonic. The tests were carried out on *semimembranosus* muscles of young bulls. The sample was divided on three parts right after slaughter, first as a control sample and other two designated to ultrasonic treatment with 25 kHz (U) i 45 kHz (Z) frequency. The viscosity tests on homogenates from meat after 24, 48 and 72 hours of ageing in cooling conditions were evaluated. The acidity level was set up on pH 5.3 and 7.0 respectively. The initiative and final gelation temperature was set up.

The tests showed that the changes of homogenates features prepared from meat in 0.6 M NaCl solution depend on the way of sonication, time after slaughter and acidity level. It was stated that setting up an acidity on 5.3 level leads to proteins coagulation. In the neutral acidity thermorheological changes of the muscle homogenates of all tested samples started around  $60^{\circ}\text{C}$ . Sonicated samples (pH 7,0) characterized 1-2 $^{\circ}\text{C}$  higher initial temperature of viscosity changes in comparison to control sample.

**Key words:** beef, meat homogenates, gelation of myofibrills, sonication 

ANNA MICHALSKA, HENRYK ZIELIŃSKI, MARIA SORAL-ŚMIETANA,  
KAROLINA STEMPIŃSKA

**ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH I POJEMNOŚĆ  
PRZECIWUTLENIAJĄCA PRODUKTÓW ŻYTNICH  
W SYMULOWANYCH *IN VITRO* ZMIANACH pH  
W PRZEWODZIE POKARMOWYM ORAZ PO TRAWIENIU  
ENZYMATYCZNYM *IN VITRO***

Streszczenie

W pracy badano pojemność przeciwutleniającą i poziom zmian związków fenolowych i flawonoidów ogółem w czterech typach pierników żytnich i dwóch typach chleba żytniego po symulowanych *in vitro* zmianach pH w przewodzie pokarmowym oraz po trawieniu enzymatycznym *in vitro*. Uzyskane wyniki wskazały, że zarówno symulowane *in vitro* zmiany pH, jak i trawienie enzymatyczne *in vitro* prowadzą do wzrostu zawartości związków fenolowych i flawonoidów ogółem oraz do znaczącego zwiększenia pojemności przeciwutleniającej badanych produktów żytnich. W pracy stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy pojemnością przeciwutleniającą a poziomem związków fenolowych i flawonoidów produktów żytnich po zmianach pH, jak również po trawieniu enzymatycznym. Należy przypuszczać, że trawienie enzymatyczne może prowadzić do takiej modyfikacji matrycy, w wyniku której uwalniane są z niej związki fenolowe kształtujące w znacznej mierze pojemność przeciwutleniającą spożywanych produktów żytnich.

**Słowa kluczowe:** produkty żytnie, zmiany pH, trawienie enzymatyczne, pojemność przeciwutleniająca, związki fenolowe

**Wstęp**

Aktualna sytuacja epidemiologiczna w Polsce wskazuje na występowanie znaczącej liczby chorób związanych z nieodpowiednim stylem życia, a przede wszystkim z nieodpowiednim sposobem odżywiania. Coraz więcej uwagi skupia się na stworzeniu modelu żywienia, w którym diety, oprócz składników o podstawowych funkcjach żywieniowych, zawierają związki bioaktywne powszechnie występujące w świecie roślinnym [1]. Związki te obejmują m.in. witaminy, makro- i mikroelementy, związki

fitynowe oraz fenolowe. Dla konsumenta ważne jest, aby związki te były dostarczane wraz z dietą. Obecnie duże zainteresowanie budzą produkty zbożowe z powodu ich stałej i wysokiej konsumpcji. Szacuje się, że rocznie statystyczny Polak spożywa około 100 kg różnego typu pieczywa [2]. Jednym z najpopularniejszych zbóż uprawianych w krajach skandynawskich i środkowo-wschodniej Europie oraz Rosji jest żyto (*Secale cereale*) [3]. Ziarno żyta jest doskonałym źródłem błonnika pokarmowego, a także w porównaniu z innymi zbożami charakteryzuje się większą zawartością pentozańców [4]. Z tego też względu jest ono cennym surowcem w przetwórstwie rolno-spożywczym. To ostatnie obejmuje głównie piekarstwo i cukiernictwo, a najbardziej cenionymi produktami są chleby oraz pierniki żytnie wypieczone według tradycyjnych technologii. Zarówno chleb, jak i piernik stanowią cenne źródło składników bioaktywnych istotnie wpływających na poprawę modelu żywienia. Do składników tych zalicza się: składniki mineralne, witaminy z grupy B, lignany oraz niskocząsteczkowe przeciwutleniacze, takie jak: tokoferole i tokotrienole, fosforany inozytolu, związki tiolowe i fenolowe. Te ostatnie, obejmujące głównie kwasy fenolowe i w mniejszym stopniu flawonoidy, w znacznej mierze wpływają na pojemność przeciwutleniającą gotowych produktów żywnych [5, 14]. Doniesienia ostatnich lat wskazują, że przeciwutleniacze występujące w produktach żywnych wykazują zdolność do neutralizacji różnego typu wolnych rodników, których negatywny wpływ na organizm człowieka został udokumentowany. Istnieją fragmentaryczne doniesienia, że po spożyciu produktów żywnych może zachodzić dalsza modyfikacja ich pojemności przeciwutleniającej wywołana trawieniem enzymatycznym, jak również zmianami pH, które odzwierciedlają przemieszczanie się treści pokarmowej w układzie pokarmowym człowieka oraz jej interakcje z mikroflorą jelitową.

Celem badań było określenie wpływu symulowanych *in vitro* zmian pH w przewodzie pokarmowym oraz trawienia enzymatycznego na pojemność przeciwutleniającą i poziom związków fenolowych produktów żywnych.

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły 2 rodzaje chleba wypieczonego z mąk żytnich o wyciągu 100% (CH1) i 92% (CH2) według tradycyjnej technologii na zakwasie i dodatkiem drożdży oraz pierniki żytnie: (P1) wypieczone na bazie mąki żytniej o wyciągu 100% i (P2) wypieczone na bazie mąki żytniej o wyciągu 92% oraz pierniki pszenno-żytnie (P3) wypieczone z mąki żytniej o wyciągu 100% i mąki pszennej jasnej i (P4) wypieczone z mąki żytniej o wyciągu 92% i mąki pszennej jasnej (P4). Mąki żytnie mieszano z mąką pszenną w proporcjach wagowych 40 : 60 (g/g). Receptura pierników obejmowała dodatek następujących składników w stosunku do 100 g mąki: 40 g miodu, 50 g cukru, 3 g proszku do pieczenia oraz 5 g przyprawy korzennej.

W celu określenia *in vitro* wpływu pH w warunkach obecnych w układzie pokarmowym na pojemność przeciwutleniającą oraz zawartość związków fenolowych i flawonoidów badanych produktów żywnych, homogenaty wodne chlebów oraz pierników inkubowano w temp. 37°C przez 30 min w środowisku o pH 6,5–7,0, następnie przez 30 min w pH 2,0 (symulacja przemieszczania się treści pokarmowej do żołądka), dalej przez 30 min w pH 6,0 (symulacja przemieszczania się treści pokarmowej w jelicie cienkim). Próby kontrolne stanowiły odpowiednie homogenaty inkubowane w temp. 37°C przez 90 min w pH 6,5–7,0. Po inkubacji próby wirowano przy  $7500 \times g$  przez 15 min w temperaturze pokojowej, po czym uzyskany supernatant przeznaczano do dalszej analizy [6].

Trawienie enzymatyczne produktów żywnych prowadzono metodą mimiczną ze wstępnym przeżuwaniem próbki i włączeniem enzymów ślinowych [7]. Tak uzyskany materiał poddawano działaniu pepsyny (2000 FIB-V/g), a następnie pankreatyny (40 g/L;  $8 \times$  USP) oraz amyloglukozydazy (3500 U). Trawienie prowadzono przez 16 godz., po czym całość wirowano w temp. 4°C, a uzyskany supernatant przeznaczano do dalszych badań. Próby kontrolne stanowił materiał uzyskany w identycznych warunkach bez zastosowania enzymów.

Związki fenolowe ogółem (TPC; z ang. Total Phenolic Compounds) oznaczano wg Shahidi i Naczka [8] i wyrażano w mg ekwiwalentu kwasu ferulowego (FA). Zawartość flawonoidów ogółem (TF; z ang. Total Flavonoids)) oznaczano wg metody Jia i wsp. [9] i wyrażano w  $\mu g$  katechiny. Pojemność przeciwutleniającą (TEAC; z ang. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) określano metodą spektrofotometryczną wg Re i wsp. [10], natomiast zdolność do wygaszania rodników nadtlenkowych (PRTC, z ang. Peroxyl Radical Scavenging Capacity) wg metody Bartosza i wsp. [11].

## Wyniki i dyskusja

### *Zmiany zawartości związków fenolowych (TPC) i flawonoidów (TF) ogółem po symulowanych in vitro zmianach pH w przewodzie pokarmowym i trawieniu enzymatycznym*

W tab. 1. przedstawiono wyniki badań dotyczące poziomu związków fenolowych i flawonoidów ogółem po symulowanych *in vitro* zmianach pH. Zawartość związków fenolowych ogółem w próbach kontrolnych pierników żywnych i chleba żywnego wynosiła od 3,20 do 1,82 mg/g s.m. Stwierdzono, że symulowane *in vitro* zmiany pH w przewodzie pokarmowym powodowały w odniesieniu do prób kontrolnych wzrost zawartości TPC w piernikach typu P1, P2, P3 i P4, odpowiednio o 12,1, 6,2, 7,3 i 24,7%. Z kolei w chlebach żywnych CH1 i CH2 wykazano wyższy poziom TPC o 3,0 i 2,6% w stosunku do prób kontrolnych.

Tabela 1

Zawartość związków fenolowych ogółem (TPC) i flawonoidów (TF) w piernikach i chlebach żytnich po symulowanych *in vitro* zmianach pH w przewodzie pokarmowym.

Total phenolic compounds (TPC) and total flavonoids (TF) content in ginger and rye breads after simulated *in vitro* changes of pH in gastrointestinal tract.

Próba Sample	Związki fenolowe ogółem Total phenolic compounds [mg kwasu ferulowego/ g s.m.]	Flawonoidy ogółem Total flavonoids [µg katechiny/ g s.m.]
P1	3,05 ± 0,07 <sup>a</sup>	147,84 ± 5,73 <sup>a</sup>
P1 Próba kontrolna Control sample	2,72 ± 0,26 <sup>b</sup>	141,08 ± 3,82 <sup>a</sup>
P2	3,40 ± 0,11 <sup>c</sup>	172,16 ± 5,73 <sup>b</sup>
P2 Próba kontrolna Control sample	3,20 ± 0,03 <sup>a,c</sup>	166,76 ± 5,73 <sup>b</sup>
P3	2,36 ± 0,16 <sup>f,e,d</sup>	69,46 ± 1,91 <sup>c</sup>
P3 Próba kontrolna Control sample	2,22 ± 0,04 <sup>h,g,f</sup>	100,54 ± 0,00 <sup>f</sup>
P4	2,27 ± 0,09 <sup>g,f,e</sup>	66,76 ± 1,91 <sup>c</sup>
P4 Próba kontrolna Control sample	1,82 ± 0,15 <sup>i</sup>	77,57 ± 1,91 <sup>e</sup>
CH1	2,38 ± 0,01 <sup>e,d,b</sup>	203,24 ± 1,91 <sup>g</sup>
CH1 Próba kontrolna Control sample	2,31 ± 0,02 <sup>d,b</sup>	193,78 ± 3,82 <sup>d</sup>
CH2	2,00 ± 0,10 <sup>i,h</sup>	191,08 ± 3,82 <sup>d</sup>
CH2 Próba kontrolna Control sample	1,95 ± 0,04 <sup>i,h,g</sup>	170,81 ± 1,91 <sup>b</sup>

Objaśnienia: / Explanatory notes:

P1, P2, P3, P4 - próby pierników po symulowanych *in vitro* zmianach pH / ginger samples after simulated *in vitro* changes of pH;

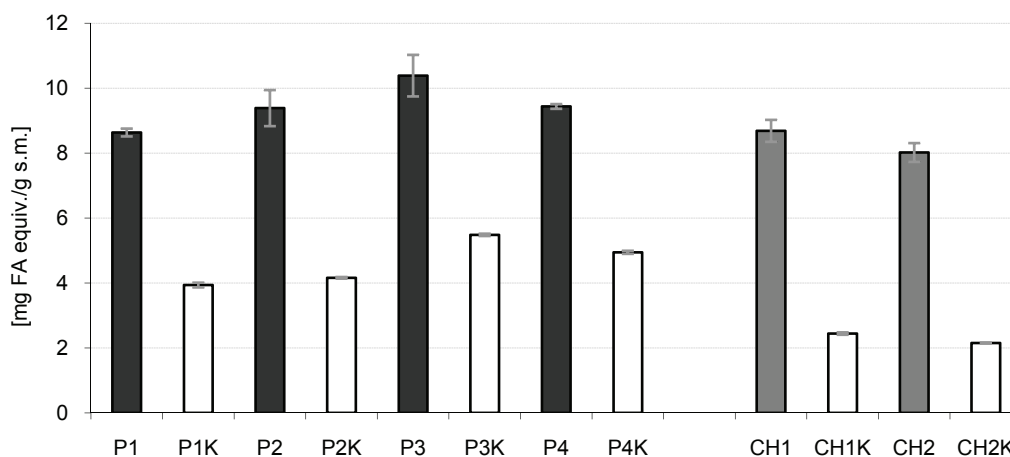
CH1, CH2 - próby chleba żytniego po symulowanych *in vitro* zmianach pH / rye bread samples after simulated *in vitro* changes of pH.

Próby kontrolne – próby pierników i chleba żytniego inkubowane w pH 6,5 - 7,0 / Control samples – ginger and rye bread samples incubated At pH 6,5 - 7,0.

a ,b,... – wartości oznaczone w indeksie tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (P>0,5) / those mean values that are followed by the same letter in superscripts are not significantly different (P>0.5).

Zawartość flawonoidów ogółem (TF) w próbach kontrolnych pierników mieściła się w zakresie od 166,8 do 77,6  $\mu\text{g}$  katechiny/g s.m., natomiast w chlebach żytnich CH1 i CH2 ich poziom był wyższy i wynosił od 170,8 do 193,8  $\mu\text{g}$  katechiny/g s.m. Symulowane *in vitro* zmiany pH powodowały w piernikach P1 i P2 wypieczonych na bazie mąki żytniej o wyciągu 100 i 92% wzrost zawartości flawonoidów, odpowiednio o 4,8 i 3,2%. Jednakże w tych samych warunkach w piernikach pszenno-żytnich P3 i P4 stwierdzono zmniejszenie zawartości tych związków o 30,9 i 13,9% w odniesieniu do odpowiednich prób kontrolnych. Z kolei, w chlebie żytnim CH1 i CH2 po symulowanych *in vitro* zmianach pH zaobserwowano wzrost zawartości flawonoidów, odpowiednio o 4,8 i 11,8%.

Zmiany zawartości związków fenolowych (TPC) i flawonoidów (TF) ogółem po trawieniu enzymatycznym *in vitro*.



Objaśnienia: / Explanations:

P1, P2, P3, P4 - próby pierników po trawieniu enzymatycznym *in vitro* / ginger samples after enzymatic digestion *in vitro*;

CH1, CH2 - próby chleba żytniego po trawieniu enzymatycznym *in vitro* / rye bread samples after enzymatic digestion *in vitro*;

Próby kontrolne (K) - próby pierników i chleba żytniego niepodane trawieniu enzymatycznemu, Control samples (K) - ginger and rye bread samples not digested.

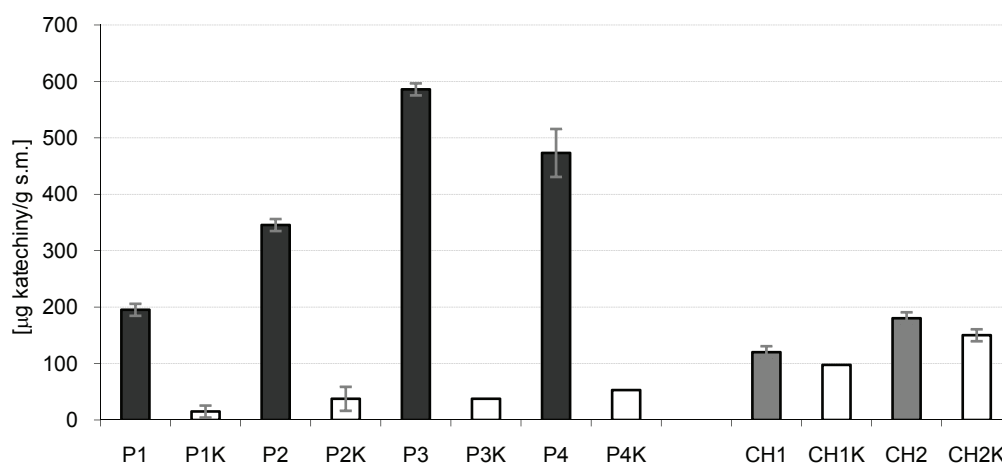
Rys. 1. Zawartość związków fenolowych ogółem w piernikach i chlebach żytnich po trawieniu enzymatycznym *in vitro*.

Fig. 1. Total phenolic compounds content in ginger and rye breads after enzymatic digestion *in vitro*.

Na rys. 1. przedstawiono zawartość związków fenolowych w próbach kontrolnych i próbach poddanych trawieniu enzymatycznemu *in vitro*. Badane pierniki niepoddane działaniu enzymów (P1K-P4K) charakteryzowały się wyższą zawartością TPC aniżeli chleby żytnie (CH1K, CH2K). I tak np. niepoddane działaniu enzymów pierniki P1K

zawierały o 38% więcej TPC w porównaniu z chlebem żytnim CH1K wypieczonym z mąki o wyciągu 100%. To zróżnicowanie wynikało jednak z doboru ilościowego składników do wypieku pierników i chleba, jak i również stosowania miodu podczas przygotowania ciasta piernikowego. Po trawieniu *in vitro* pierników, wypieczonych z mąk żytnich o wyciągu 100 i 92% (P1 i P2), jak również z mąki żytniej i pszennej (P3 i P4), zaobserwowano 2-krotny wzrost zawartości związków fenolowych. Obserwowane zmiany znajdują potwierdzenie w badaniach Liyana-Pathirana [12] oraz Andreasen i wsp. [13] dotyczących produktów pszennych i żytnich. Przedstawione zmiany zawartości TPC mogą być związane z uwolnieniem związków fenolowych z matrycy zachodzącym podczas enzymatycznej hydrolizy produktów zbożowych.

Na rys. 2. zamieszczono dane dotyczące zmian zawartości flawonoidów ogółem po trawieniu enzymatycznym *in vitro*.



Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanations as under Fig. 1.

Rys. 2. Zawartość flawonoidów ogółem w piernikach i chlebach żytnich po trawieniu enzymatycznym *in vitro*.

Fig. 2. Total flavonoids content in ginger and rye breads after enzymatic digestion *in vitro*.

Zawartość flawonoidów (TF) w próbach kontrolnych czterech typów pierników wynosiła 52,58–15,02 µg/g s.m. i była największa w piernikach P3K i P4K wypieczonych z mąk żytnich i pszennych. Trawienie enzymatyczne *in vitro* powodowało 13-, 9,2-, 15,6- i 9-krotny wzrost zawartości TF, odpowiednio w P1, P2, P3 i P4, w odniesieniu do prób kontrolnych. Zawartość flawonoidów w chlebach żytnich CH1K i CH2K wahała się od 150,2–97,7 µg katechiny/g s.m. i była 6,5 razy wyższa w chlebie żytnim CH1K w odniesieniu do piernika żytniego P1K, wypieczonego podobnie jak chleb z mąki żytniej o wyciągu 100%. Z kolei zawartość TF w chlebie żytnim CH2K

wypieczonym z mąki o wyciągu 92% była 10-krotnie wyższa w porównaniu z piernikami P2K wyprodukowanymi na bazie tej samej mąki. Proces trawienia *in vitro* chleba żytniego CH1 i CH2 prowadził do wzrostu zawartości flawonoidów o 23,1 i 20%.

*Pojemności przeciwutleniająca pierników i chlebów żytnich mierzona testem TEAC i PRTC po zmianach pH i trawieniu enzymatycznym in vitro*

Stwierdzono, że poddanie pierników i chlebów żytnich symulowanym *in vitro* zmianom pH, jak i trawieniu enzymatycznemu, ma wpływ na wartość ich pojemności przeciwutleniającej mierzonych testem TEAC wobec kationorodników ABTS<sup>+</sup>. Symulowane zmiany pH przewodności pokarmowej powodowały wzrost pojemności przeciwutleniającej pierników P1 i P2 wypieczonych z mąk żytnich (o wyciągu 100 i 92%) o 4 i 13,7%. Analogiczny wzrost TEAC o 5 i 34,6% wykazano w piernikach wypieczonych z mąk żytnich i pszennych (P3 i P4). Uzyskane wyniki zostały potwierdzone

Tabela 2

Pojemność przeciwutleniająca (TEAC) pierników i chlebów żytnich po symulowanych *in vitro* zmianach pH w przewodzie pokarmowym.

Antioxidant capacity of ginger and rye breads after simulated *in vitro* changes of pH in gastrointestinal tract.

Próby Samples	TEAC [μmol Trolox / g s.m.]	PRTC [μmol Trolox / g s.m.]
P1	14,88 ± 0,48 <sup>a</sup>	1,85 ± 0,37 <sup>a, d, e</sup>
P1 Próba kontrolna Control sample	14,32 ± 0,59 <sup>a, b</sup>	1,18 ± 0,00 <sup>b</sup>
P2	18,46 ± 0,56 <sup>c</sup>	3,98 ± 0,15 <sup>c</sup>
P2 Próba kontrolna Control sample	16,23 ± 0,50 <sup>d</sup>	2,06 ± 0,37 <sup>d, e, f</sup>
P3	11,49 ± 1,05 <sup>e, f</sup>	1,85 ± 0,07 <sup>a, d, e</sup>
P3 Próba kontrolna Control sample	10,94 ± 0,56 <sup>e</sup>	0,74 ± 0,11 <sup>g</sup>
P4	12,81 ± 0,18 <sup>h</sup>	1,65 ± 0,07 <sup>a</sup>
P4 Próba kontrolna Control sample	9,49 ± 0,19 <sup>g</sup>	0,46 ± 0,15 <sup>g</sup>
CH1	14,65 ± 0,54 <sup>b, a</sup>	2,32 ± 0,00 <sup>f</sup>
CH1 Próba kontrolna Control sample	13,81 ± 0,44 <sup>h, b, a</sup>	1,70 ± 0,00 <sup>a, d</sup>
CH2	13,43 ± 0,08 <sup>h, b</sup>	2,09 ± 0,04 <sup>e, f</sup>
CH2 Próba kontrolna Control sample	12,65 ± 1,00 <sup>h</sup>	1,65 ± 0,18 <sup>a</sup>

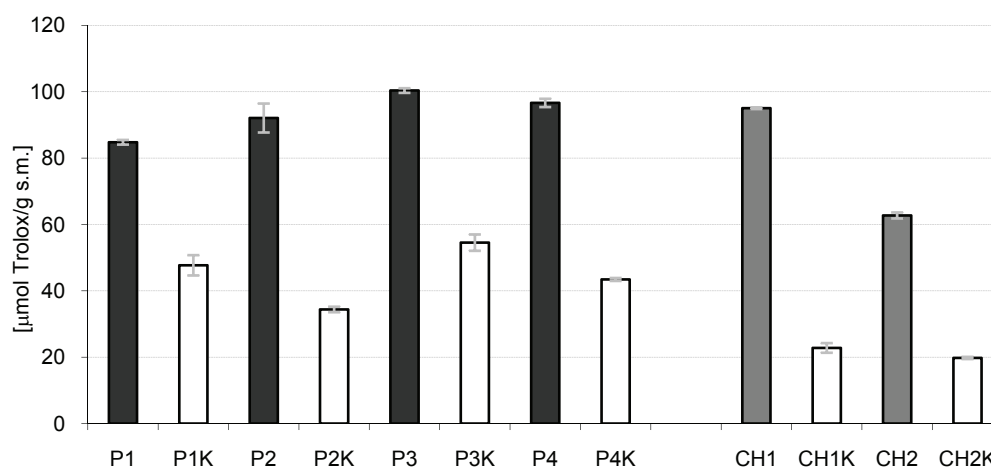
Objaśnienia jak w tab. 1. / Explanation as in Tab. 1.

a ,b,... – wartości średnie oznaczone w indeksie tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (P > 0,5) / those mean values that are followed by the same letter in superscripts are not significantly different (P > 0.5).



testem PRTC, w którym zdolność do neutralizowania rodników nadtlenkowych (ROO<sup>•</sup>) ekstraktów 4 typów pierników i 2 typów chleba poddanych symulowanym zmianom pH była wyższa odpowiednio o 56,7–25,8% i o 26,7–36,5% w stosunku do odpowiednich prób kontrolnych (tab. 2).

Pojemność przeciwutleniająca niepodanych działaniu enzymów pierników i chlebów żytnich mierzona testem TEAC wynosiła odpowiednio od 34,4 do 54,5  $\mu\text{g}$  Trolox/g s.m. i od 19,8 do 22,8  $\mu\text{g}$  Trolox/g s.m. Trawienie enzymatyczne *in vitro* pierników i chlebów żytnich prowadziło do wzrostu pojemności przeciwutleniającej TEAC (rys. 3). W przypadku pierników stwierdzono prawie 2–3-krotny wzrost TEAC. Analogiczne zmiany wystąpiły także w chlebach żytnich, wypieczonych z mąk o wyciągu 100 i 92%, w których stwierdzono wzrost TEAC odpowiednio o 317 i 217%.



Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanations as under Fig. 1.

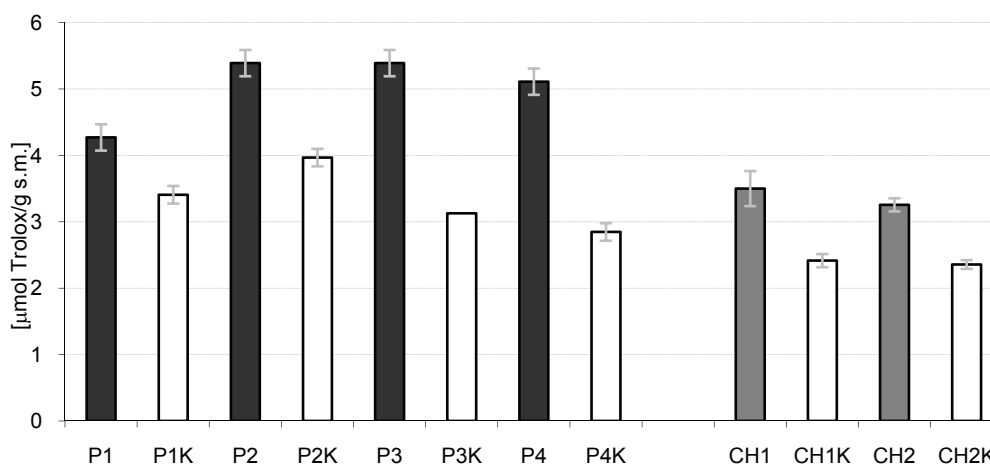
Rys. 3. Pojemność przeciwutleniająca pierników i chlebów żytnich po trawieniu enzymatycznym *in vitro*.

Fig. 3. Antioxidant capacity of ginger and rye breads after enzymatic digestion *in vitro*.

Uzyskane rezultaty pojemności przeciwutleniającej poddano weryfikacji za pomocą testu PRTC. Stwierdzono, że ekstrakty z nietrawionych enzymatycznie pierników P1K i P2K wykazywały wyższą zdolność do neutralizowania rodników nadtlenkowych odpowiednio o 68 i 41% w porównaniu z analogicznymi ekstraktami chlebów CH1K i CH2K (rys. 4). Z kolei trawienie enzymatyczne *in vitro* pierników prowadziło do prawie 2-krotnego wzrostu PRTC. W przypadku chlebów żytnich CH1 i CH2 odnotowano wzrost PRTC o około 45 i 37%.

Zastosowane w pracy dwie metody badania pojemności przeciwutleniającej wykorzystujące dwa typy rodników (ABTS<sup>•+</sup> i ROO<sup>•</sup>) były z sobą dodatnio skorelowane

( $r = 0,96$ ). Dostarczały one jednak odmiennych informacji o zdolności związków przeciwutleniających obecnych w badanych ekstraktach do neutralizowania generowanych *in vitro* wolnych rodników, albowiem wyniki uzyskane testem TEAC były wielokrotnie wyższe od uzyskanych testem PRTC. Pomimo tego stwierdzono, że zmiany pojemności przeciwutleniającej po trawieniu enzymatycznym *in vitro* mierzone testem TEAC i PRTC były dodatnio skorelowane ze zmianami zawartości TPC ( $r = 0,98$  i  $r = 0,94$ ) oraz ze zmianami zawartości TF ( $r = 0,86$  i  $r = 0,95$ ).



Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanations as under Fig. 1.

Rys. 4. Pojemność przeciwutleniająca pierników i chlebów żytnich mierzona testem PRTC.

Fig. 4. Peroxyl Radical Trapping Capacity of ginger and rye breads.

## Wnioski

1. Symulowane *in vitro* zmiany pH w przewodzie pokarmowym czterech typów pierników i chlebów żytnich prowadziły do niewielkiego wzrostu poziomu związków fenolowych i flawonoidów ogółem.
2. W wyniku trawienia enzymatycznego *in vitro* badanych produktów żytnich następował znaczący wzrost poziomu związków fenolowych.
3. Stwierdzono pozytywną korelację pomiędzy pojemnością przeciwutleniającą a poziomem związków fenolowych badanych produktów żytnich po zmianach pH, jak również po trawieniu enzymatycznym.
4. Trawienie enzymatyczne może prowadzić do modyfikacji matrycy, w wyniku której uwalniane są z niej związki fenolowe kształtujące w znacznej mierze pojemność przeciwutleniającą spożywanych produktów żytnich.

Pracę wykonano w ramach grantu zamawianego PBZ-KBN-094/P06/2003/13 oraz w ramach wsparcia finansowego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Unii Europejskiej w ramach projektu Z/2.28/II/2.6/00015/06 „Transfer wiedzy pomostem do innowacyjności i konkurencyjności gospodarczej regionu – stypendia doktoranckie”. Praca stanowi fragment rozprawy doktorskiej A. Michalskiej. Była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

### Literatura

- [1] Kunachowicz H., Nadolna I.: Jakość zdrowotna produktów zbożowych z uwzględnieniem żywności specjalnego żywieniowego przeznaczenia. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2002, **2**, 3-8.
- [2] Gąsiorowski H., Urbanowicz M., Kowalczyk Cz.: Chleb z żyta i owsa. *Problemy*, 1992, **545**, 31-32.
- [3] Lliukkonen K.-H., Heinio R.-L., Salmenkallio-Marttila M., Autio K., Katina K., Poutanen K.: Rye. In: *Bakery products – science and technology*, (red. Y.H. Hui), Blackwell Publishing, 1 August 2006, pp. 109-122.
- [4] Gąsiorowski H., Kączkowski J., Kołodziejczyk P.: Skład chemiczny ziarna żyta, W: *Żyto – chemia i technologia - pod red. Gąsiorowskiego H., PWRiL, Poznań 1994*, s. 52-72.
- [5] Michalska A., Ceglińska A., Amarowicz R., Piskula M.K., Szawara-Nowak D., Zieliński H.: Antioxidant contents and antioxidative properties of traditional rye breads. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 734-740.
- [6] Baublis A.J., Clydesdale F.M., Decker E.A.: Antioxidants in wheat-based breakfast cereals. *Cereal Food World*, 2000, **45/2**, 71-74.
- [7] Akerberg A., Liljenberg H., Granfeldt Y., Drews A., Bjorck I.: An *in vitro* method, based on chewing, to predict resistant starch content in food allows parallel determination of potentially available starch and dietary fiber. *J. Nutr.*, 1998, **128**, 651-660.
- [8] Shahidi F., Naczek M.: Methods of analysis and quantification of phenolic compounds. In: *Food phenolic: sources, chemistry, effects and applications*. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, Pennsylvania USA, 1995, pp. 287-293.
- [9] Jia Z., Tang M., Wu J.: The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.*, 1998, **64**, 555-559.
- [10] 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)**, 1291-1237.
- [11] Bartosz G., Janaszewska A., Ertel D., Bartosz M.: Simple determination of peroxy radical-trapping capacity. *Biochem. Mol. Biol. Inter.*, 1998, **46/3**, 519-528.
- [12] Liyana-Pathirana Ch. M., Shahidi F.: Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 1256-1264.
- [13] Andreasen M.F., Christensen L.P., Meyer A.S., Hansen A.: Release of hydrocinnamic and hydrobenzoic acids in rye by commercial plant cell wall degrading enzyme preparations. *J. Sci. Food Agric.*, 1999, **79**, 411-413.
- [14] Szajdek A., Borowska J.: Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4(41)**, 5-28.

**TOTAL PHENOLICS CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF RYE PRODUCTS  
AFTER SIMULATED *IN VITRO* pH CHANGES IN GASTROINTESTINAL TRACT AND  
ENZYMATIC DIGESTION *IN VITRO***

S u m m a r y

The antioxidant capacity and the level of changes of phenolics compounds and total flavonoids in four types of ginger and two types of rye bread after stimulated *in vitro* pH changes in gastrointestinal tract and after enzymatic digestion *in vitro* were tested.

Obtained results showed that the stimulated *in vitro* pH changes and enzymatic digestion *in vitro* leads to increase phenolics compounds and total flavonoids content and to growth of antioxidant capacity of tested products. In the study, the positive correlation between antioxidant activity and content of total phenolic compounds and total flavonoids was shown. The results suggests that enzymatic digestions may lead to matrix modification, in which phenolics compounds are released and shape the antioxidant capacity in rye products.

**Key words:** rye-based products, pH changes, enzymatic digestion, antioxidant activity, phenolic compounds ☒

EWA ŻARY-SIKORSKA, JERZY JUŚKIEWICZ

## WPLYW FRUKTANÓW O RÓŻNYM STOPNIU POLIMERYZACJI ŁAŃCUCHA WĘGLOWODANOWEGO NA PROCESY FERMENTACYJNE W KOŃCOWYM ODCINKU PRZEWODU POKARMOWEGO U SZCZURÓW DOŚWIADCZALNYCH

### Streszczenie

W przeprowadzonym doświadczeniu zbadano wpływ dwóch typów fruktanów o różnym stopniu polimeryzacji łańcucha węglowodanowego: krótkołańcuchowych fruktooligosacharydów (FOS) oraz długołańcuchowej inuliny na fizjologię jelita ślepego u szczurów. W badaniach zastosowano trzy diety: dietę kontrolną zawierającą 7,5% sacharozy i dwie diety doświadczalne zawierające: 8,3% preparatu inuliny (IN) i 7,9% preparatu FOS (FOS) (preparaty komercyjne). Młode samce rasy Wistar (8 osobników w grupie) otrzymywały diety *ad libitum* przez 4 tygodnie. Określono indywidualne spożycie paszy oraz przyrost masy ciała. Pomiarowi podlegały m.in.: masa tkanki i treści jelita ślepego, pH, sucha masa, amoniak, białko, lotne kwasy tłuszczowe (LKT) i aktywność enzymów bakteryjnych w treści jelita ślepego.

Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy grupami w wielkości spożycia diet oraz przyrostu masy ciała. Spożycie diet zawierających FOS i inulinę spowodowało znaczny wzrost masy ściany i treści jelita ślepego ( $P < 0,05$ ) w stosunku do grupy kontrolnej. W grupach doświadczalnych stwierdzono także wzrost koncentracji białka oraz suchej masy w treści jelitowej. Istotnie niższe ( $P < 0,05$ ) wartości pH i koncentrację amoniaku odnotowano u zwierząt żywionych dietami z FOS i inuliną. Suplementacja diet fruktanami spowodowała wzrost zawartości LKT w przeliczeniu na 100 g masy ciała (pula LKT). Inulina, korzystniej niż FOS wpływała na produkcję LKT, zwłaszcza istotnie zwiększając zawartość kwasu propionowego i masłowego w treści jelita ślepego. Inulina w sposób bardziej korzystny niż FOS oddziaływała również na aktywność enzymatyczną mikroflory jelita ślepego. W grupie IN obserwowano najniższą aktywność  $\beta$ -glukuronidazy, która jest biomarkerem aktywności mikroflory patogennej.

**Słowa kluczowe:** fruktany, inulina, FOS, lotne kwasy tłuszczowe, enzymy bakteryjne

### Wprowadzenie

W krajach wysoko rozwiniętych zwiększa się potrzeba kształtowania prozdrowotnego modelu żywienia człowieka oraz wzrasta zainteresowanie prozdrowotnymi

właściami żywności. Tendencja ta, wynikająca z dużej zachorowalności na schorzenia cywilizacyjne, starzenie się populacji oraz niewłaściwe nawyki żywieniowe skutkujące dużą liczbą ludzi otyłych, staje się przyczyną zwiększonego zainteresowania ochroną zdrowia poprzez dietę [10] oraz przyczyną licznych badań, mających na celu charakterystykę fizjologicznej roli niestrawnych oligo- i polisacharydów [3, 11, 12].

Fruktany są naturalnymi składnikami wielu surowców roślinnych (np: cebuli, czosnku, cykorii), z którymi mogą być spożywane. Do fizjologicznie ważnych cech fruktanów zalicza się ich oporność na trawienie w jelicie cienkim oraz podatność na bakteryjną fermentację w końcowym odcinku przewodu pokarmowego sprzyjającą powstawaniu przyjaznego dla gospodarza ekosystemu [3].

Celem przeprowadzonych badań była analiza fizjologicznego oddziaływanie modelowych diet kazeinowych typu „western” wzbogaconych w preparaty długołańcuchowej inuliny oraz krótkołańcuchowych FOS w końcowym odcinku przewodu pokarmowego szczura.

### **Materialy i metody badań**

Doświadczenie przeprowadzono na 24 młodych samcach rasy Wistar. Wszystkie metody i procedury stosowane w badaniach na szczurach doświadczalnych zostały zaakceptowane przez Lokalną Komisję Etyczną w Olsztynie przy Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim, której podlega Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie. Szczury podzielono na trzy grupy doświadczalne liczące po 8 osobników. Zwierzęta przebywały w indywidualnych klatkach, w standardowych warunkach: w temperaturze 21–22°C, wilgotności względnej powietrza 50-70% oraz intensywnej wentylacji pomieszczeń (15x/h). Cykl jasność/ciemność wynosił 12 h/12 h. Dobór zwierząt do doświadczenia oraz warunki ich utrzymania były zgodne z powszechnie obowiązującymi zasadami [8]. Szczury żywiono *ad libitum*. Grupie kontrolnej (K) podawano dietę zawierającą 7,5% sacharozy, pozostałe 2 grupy żywiono dietami doświadczalnymi z dodatkiem 8,3% inuliny (IN) (Frutafit Tex, Sensus, Holandia) oraz 7,9% fruktooligosacharydów (FOS) (WPCI, Tokio). Ilości preparatów były tak dobrane, aby zawartość obu typów fruktanów w diecie wynosiła 7,5% (tab. 1).

W czasie całego doświadczenia kontrolowano spożycie diety i przyrosty masy ciała. W końcowej fazie doświadczenia zwierzęta usypiano przy użyciu 20% roztworu uretanu (Sigma) w soli fizjologicznej. Następnie pobierano krew oraz narządy wewnętrzne. Wypreparowane jelita cienkie, ślepe i okrężnicę ważono i mierzono pH treści jelitowej. Następnie pobierano próbki treści jelita ślepego oraz okrężnicy do oznaczenia suchej masy treści oraz białka w treści. W treści jelita ślepego określano ponadto aktywność enzymów bakteryjnych oraz zawartość amoniaku i lotnych kwasów tłuszczowych. Amoniak oznaczano metodą Conway’a, polegającą na wyparciu amoniaku z treści jelitowej przez nasycony roztwór węgla potasu i związanie go przez

kwasy borowe, a następnie miareczkowanie boranu amonowego kwasem siarkowym wobec wskaźnika Ma Zanzaga. Zawartość białka w próbach oznaczano wg Lowry'ego i wsp. [6]. Aktywność enzymów bakteryjnych oznaczano zmodyfikowaną metodą Andrieux i wsp. [1]. Aktywność  $\beta$ -glukuronidazy,  $\alpha$ - i  $\beta$ -galaktozydazy,  $\alpha$ - i  $\beta$ -glukozydazy mierzono kolorymetrycznie ilością uwolnionego p- lub o-nitrofenolu z odpowiednich substratów. Zawartość lotnych kwasów tłuszczowych w treści jelita ślepego oznaczano metodą chromatografii gazowej. Próby rozcieńczano wodą dejonizowaną, wirowano przy 10 000 obr./min przez 5 min i supernatantu używano do nastrzykiwania na kolumnę. Do analiz użyto chromatografu Shimadzu GC-14A z kolumną szklaną 2,5 m x 2,6 mm zawierającą 10% SP-1200/1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> na 80/100 Chromosorb W AW. Temperatura kolumny wynosiła 110°C, temp. detektora FID 180°C i temp. w komorze nastrzyku 195°C.

Wyniki badań opracowano statystycznie z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA i testu Duncana wielokrotnego rozstępu przy  $P \leq 0,05$ .

Tabela 1

Skład diet [%].

Composition of the diets [%].

Składnik / Component	Dieta kontrolna Control diet	Inulina / Inulin	FOS
Kazeina / Casein	14,8	14,8	14,8
DL-metionina /DL-methionine	0,2	0,2	0,2
Sacharoza /Saccharose	7,5	-	-
Celuloza /Cellulose	0,6	0,6	0,6
Olej sojowy / Soybean Oil	5,0	5,0	5,0
Smalec / Lard	5,0	5,0	5,0
Cholesterol / Cholesterol	0,5	0,5	0,5
Mieszanka mineralna / Mineral mixture	3,5	3,5	3,5
Mieszanka witaminowa / Vitamin mixture	2,0	2,0	2,0
Preparat FOS / FOS preparation	-	-	7,9
Preparat inuliny / Inulin preparation	-	8,3	-
Skrobia kukurydziana / Maize starch	60,9	60,1	60,5

## Wyniki i dyskusja

Zastosowanie w dietach dodatku FOS i inuliny nie miało wpływu na wielkość spożycia diet i przyrostów masy ciała szczurów (tab. 2). Podobne wyniki uzyskano w badaniach innych autorów [5, 7]. Nie stwierdzono istotnego wpływu dodatku fruktanów na

analizowane parametry jelita cienkiego. W grupach IN oraz FOS stwierdzono istotny ( $P < 0,05$ ) wzrost masy tkanki i treści jelita ślepego w porównaniu z grupą kontrolną (K). Podobne rezultaty z zastosowaniem inuliny uzyskali Bielecka i wsp. [2] oraz Gråsten i WSP. [4], a w przypadku FOS Lobo i WSP. [5]. W grupach doświadczalnych odnotowano istotne ( $P < 0,05$ ) obniżenie pH oraz koncentracji amoniaku w treści jelita ślepego. Diety FOS oraz IN spowodowały istotny ( $P < 0,05$ ), w odniesieniu do grupy kontrolnej, wzrost zawartości białka Lowry'ego w treści jelita ślepego. W obu grupach doświadczalnych stwierdzono także wzrost koncentracji suchej masy treści jelita ślepego, jednak w przypadku grupy FOS był on statystycznie nieistotny w odniesieniu do grupy K.

Tabela 2

Parametry fizjologicznego oddziaływania fruktanów.  
Parameters of the physiological interactions of fructans.

Parametr / Parameter	Dieta kontrolna Control diet	Inulina Inulin	FOS	SEM
Masa ciała początkowa Initial body weight [g]	103,2	103,2	102,9	–
Masa ciała końcowa / Final body weight [g]	273,1	266,9	261,6	3,495
Przyrost masy ciała / Gain in body weight [g]	169,8	163,6	158,7	2,973
Spożycie diety / Consumption of diet [g]	444,3	447,8	432,8	6,583
FCR [g/g]	2,62	2,74	2,74	0,029
pH żołądka / pH – stomach	3,66	3,91	3,77	0,084
Jelito cienkie / Small intestine:				
tkanka / tissue [g/100g mc]	1,688	1,694	1,636	0,066
treść / Fill [g/100g mc]	0,803	0,934	1,040	0,058
pH treści / pH of the fill	6,02	6,40	6,17	0,104
Jelito ślepe / Blind gut:				
tkanka / tissue [g/100g mc]	0,277 <sup>b</sup>	0,509 <sup>a</sup>	0,542 <sup>a</sup>	0,029
treść / fill [g/100g mc]	1,171 <sup>b</sup>	1,545 <sup>a</sup>	1,684 <sup>a</sup>	0,092
pH treści / pH of the fill	7,15 <sup>a</sup>	6,38 <sup>b</sup>	6,44 <sup>b</sup>	0,115
sucha masa / dry mass [%]	16,78 <sup>b</sup>	19,67 <sup>a</sup>	18,79 <sup>ab</sup>	0,467
amoniak / ammonia [mg/100 g]	36,97 <sup>a</sup>	28,29 <sup>b</sup>	29,28 <sup>b</sup>	1,311
białko / protein [mg/g]	0,138 <sup>b</sup>	0,196 <sup>a</sup>	0,218 <sup>a</sup>	0,106
Okreźnica / Colon:				
tkanka [g/100g mc] / tissue	0,396 <sup>b</sup>	0,509 <sup>a</sup>	0,519 <sup>a</sup>	0,018
sucha masa / dry mass [%]	1602 <sup>b</sup>	19,90 <sup>a</sup>	16,82 <sup>b</sup>	0,637
pH treści / pH of the fill	6,85 <sup>a</sup>	6,02 <sup>b</sup>	6,48 <sup>b</sup>	0,099
białko / protein [mg/g]	0,244 <sup>b</sup>	0,264 <sup>b</sup>	0,349 <sup>a</sup>	0,012



T a b e l a 3

Aktywność glikolityczna w treści jelita ślepego [U/g treści].  
Glycolytic activity in the blind gut fill [U/g fill].

Enzym / Enzyme	Dieta kontrolna Control diet	Inulina Inulin	FOS	SEM
$\alpha$ -glukozydaza / $\alpha$ -glucosidase	0,81	1,01	1,12	0,078
$\beta$ -glukozydaza / $\beta$ -glucosidase	0,25 <sup>ab</sup>	0,40 <sup>a</sup>	0,11 <sup>b</sup>	0,049
$\alpha$ -galaktozydaza / $\alpha$ -galactosidase	0,35	0,38	0,35	0,043
$\beta$ -galaktozydaza / $\beta$ -galactosidase	2,24 <sup>ab</sup>	1,91 <sup>b</sup>	3,99 <sup>a</sup>	0,406
$\beta$ -glukuronidaza / $\beta$ -glucuronidase	0,97 <sup>a</sup>	0,50 <sup>b</sup>	0,67 <sup>ab</sup>	0,072

T a b e l a 4

Zawartość kwasów tłuszczowych w treści jelita ślepego [ $\mu$ mol/g treści] oraz w przeliczeniu na 100 g masy ciała [ $\mu$ mol/100 g mc].

Contents of fatty acids in the blind gut fill [ $\mu$ mol/g fill] and per 100 g of the body weight [ $\mu$ mol/100 g of body weight].

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Dieta kontrolna Control diet	Inulina Inulin	FOS	SEM
Koncentracja LKT [ $\mu$ mol/g treści] / Concentration of VFA [ $\mu$ mol/g fill]				
Octowy / Acetic acid	60,05	61,63	57,06	1,467
Propionowy / Propionic acid	17,13 <sup>b</sup>	28,98 <sup>a</sup>	18,34 <sup>b</sup>	1,387
Izo-masłowy / Isobutyric acid	0,81 <sup>a</sup>	0,20 <sup>b</sup>	0,32 <sup>b</sup>	0,078
Masłowy / Butyric acid	8,16 <sup>c</sup>	18,68 <sup>a</sup>	13,27 <sup>b</sup>	1,085
Izo-walerianowy / Isovaleric acid	1,47 <sup>a</sup>	0,70 <sup>b</sup>	0,88 <sup>b</sup>	0,098
Walerianowy / Valeric acid	1,49 <sup>b</sup>	2,82 <sup>a</sup>	1,32 <sup>b</sup>	0,269
Ogółem / Total	89,12 <sup>b</sup>	113,02 <sup>a</sup>	91,19 <sup>b</sup>	2,997
Pula LKT [ $\mu$ mol/100g mc] / VFA pool				
Octowy / Acetic acid	69,36 <sup>b</sup>	95,94 <sup>a</sup>	98,05 <sup>a</sup>	6,484
Propionowy / Propionic acid	19,50 <sup>c</sup>	45,92 <sup>a</sup>	31,73 <sup>b</sup>	3,459
Izo-masłowy / Isobutyric acid	0,88 <sup>a</sup>	0,31 <sup>b</sup>	0,49 <sup>b</sup>	0,082
Masłowy / Butyric acid	9,95 <sup>b</sup>	28,42 <sup>a</sup>	22,39 <sup>a</sup>	2,093
Izo-walerianowy / Isovaleric acid	1,74	1,10	1,41	0,149
Walerianowy / Valeric acid	1,69 <sup>b</sup>	4,25 <sup>a</sup>	2,39 <sup>ab</sup>	0,451
Ogółem / Total	103,12 <sup>b</sup>	175,95 <sup>a</sup>	156,45 <sup>a</sup>	115,04

Diety doświadczalne istotnie wpłynęły na aktywność enzymatyczną mikroflory jelita ślepego (tab. 3). Dieta FOS istotnie ( $P < 0,05$ ) obniżyła aktywność  $\beta$ -glukozydazy w stosunku do diety IN, natomiast dodatek inuliny spowodował istotny ( $P < 0,05$ ) spadek aktywności  $\beta$ -galaktozydazy w odniesieniu do grupy FOS oraz

$\beta$ -glukuronidazy, będącej biomarkerem aktywności mikroflory patogennej [2], w stosunku do grupy K. Obniżenie aktywności  $\beta$ -glukuronidazy pod wpływem inuliny obserwowano we wcześniejszych badaniach [9], ale także odnotowywano wyniki przeciwnostawne [4].

Grupa IN charakteryzowała się największą koncentracją LKT ogółem, a także kwasów propionowego, masłowego i walerianowego w treści jelita ślepego ( $P < 0,05$  vs grupy FOS i K) (tab. 4). Zastosowanie preparatu inuliny i FOS w dietach istotnie ( $P < 0,05$ ) zwiększyło produkcję (pułę) LKT w jelicie ślepym, w tym kwasu octowego i masłowego w przeliczeniu na 100 g masy ciała ( $\mu\text{mol}/100 \text{ g mc}$ ). Wielu autorów wskazuje, że w przypadku niestrawnych oligo- i polisacharydów puła LKT (uwzględniająca ilość treści w jelicie) w lepszy i bardziej precyzyjny sposób opisuje procesy fermentacyjne w jelitach. [3, 12]. W grupie IN wykazano istotny wzrost zawartości kwasu propionowego w odniesieniu do grupy FOS. Podobne wyniki badań uzyskano stosując 5% dodatek inuliny do diety w odniesieniu do wzrostu kwasu masłowego i propionowego w badaniach Zduńczyka i wsp. [11]. W obu grupach doświadczalnych poziom kwasu izo-masłowego uległ istotnemu zmniejszeniu w doniesieniu do grupy kontrolnej.

### Wnioski

1. Dodatek fruktanów do diety szczurów nie spowodował przyrostu masy ich ciał, spowodował natomiast znaczny wzrost masy ściany i treści jelita ślepego.
2. Suplementacja diet fruktanami spowodowała wzrost wartości pH i zawartości amoniaku w treści jelitowej, a także wzrost zawartości LKT w przeliczeniu na 100 g masy ciała.

*Praca wykonana w ramach grantu P06T00730; była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura

- [1] Andrieux C., Pacheco E.D., Bouchet B., Gallan D., Szylit O.: Contribution of the digestive tract microflora to amylo maize starch degradation in the rat. *Brit. J. Nutr.*, 1992, **67**, 489-499.
- [2] Bielecka M., Biedrzycka E., Majkowska A., Juśkiewicz J., Wróblewska M.: Effect of non-digestible oligosaccharides on gut microecosystem in rats. *Food Res. Inter.*, 2002, **35**, 139–144.
- [3] Campbell J.M., Fahey Jr. G.C., Wolf B.W.: Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J. Nutr.*, 1997, **127**, 130–136.
- [4] Gråsten S. M., Pajarib A.M., Liukkonenc K.H., Karppinenc S., Mykkanena H. M.: Fibers with different solubility characteristics alter similarly the metabolic activity of intestinal microbiota in rats fed cereal brans and inulin. *Nutr. Res.*, 2002, **22**, 1435-1444.
- [5] Lobo A. R., Colli C., Filisetti T.: Fructooligosaccharides improve bone mass and biomechanical properties in rats. *Nutr. Res.*, 2006, **26**, 413-420.


- [6] Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biolog. Chem.*, 1951, **193**, 265-275.
- [7] Nzeusseu A., Dienst D., Haufroid V., Depresseux G., Devogelaer J-P., Manicourt D. H.: Inulin and fructo-oligosaccharides differ in their ability to enhance the density of cancellous and cortical bone in the axial and peripheral skeleton of growing rats. *Bone*, 2006, **38**, 394-399.
- [8] Rakowska M., Szkiłłądziowa W., Kunachowicz H.: Wartość biologiczna białka żywności. Wyd. WNT, Warszawa 1978.
- [9] Rowland I.R., Rumney C.J., Coutts J.T., Lievens L.C.: Effect of *Bifidobacterium longum*, and inulin on gut bacterial metabolism, and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis*, 1998, **19**, 281-285.
- [10] Sibbel A.: The sustainability of functional foods. *Social Science & Medicine*, 2007, **64**, 554-561.
- [11] Zduńczyk Z., Juśkiewicz J., Estrella I.: Cecal parameters of rats fed diets containing grapefruit polyphenols and inulin as single supplements or in a combination. *Nutrition*, 2006, **22**, 898-904.
- [12] Zduńczyk Z., Juśkiewicz J., Wróblewska M., Król B.: Physiological effects of lactulose and inulin in the caecum of rats. *Arch. Anim. Nutr.*, 2004, **58**, 89-98.

**THE EFFECT EXERTED BY FRUCTANS WITH A DIFFERENT POLYMERIZATION  
DEGREE OF CARBOHYDRATE CHAIN ON FERMENTATIVE PROCESSES IN THE END  
SEGMENT OF THE ALIMENTARY TRACT IN EXPERIMENTAL RATS**

S u m m a r y

In the experiment accomplished, the effect was investigated of two types of fructans: short-chain fructooligosaccharides (FOS) and long-chain inulin, on the blind gut physiology in rats. Three diets were applied in the experiment: control diet (K) contained 7.5% of saccharose, and two other experimental diets contained: 8.3% of inulin (IN) and 7.9% of the FOS preparation (FOS) (commercial preparations). Young male rats of the Wistar breed (8 rats per one group) were fed *ad libitum* during 4 weeks. The individual feed consumption rates and gains in body weight of rats were determined. The following parameters was measured, among other things: the weight of tissue and of blind gut fill, pH, dry matter, ammonia, protein, volatile fatty acids (VFA), and activity of bacterial enzymes in the blind gut fill.

No statistically significant differences in the total dietary food intake rate and in gains in body weight of rats among the experimental groups were found. The consumption of diets containing FOS and inulin caused a considerable increase in the weight of blind gut wall and fill ( $P < 0.05$ ) compared to the control group. In the experimental groups, an increase was found in the concentration rates of protein and dry matter in the blind gut fill. The significantly lower ( $P < 0.05$ ) values of pH and ammonia contents were found in the animals fed with the dietary food containing FOS and inulin. When fructans were added to the dietary food, the level of VFA increased per 100g of the body weight (LFA pool). The inulin impacted the production of VFA more beneficially than FOS, especially, it generated a statistically significantly increase in the content levels of propionate and butyrate acids in the blind gut fill. Furthermore, the inulin impacted the enzymatic activity of blind gut micro-flora more effectively than FOS. In the IN group, the lowest level of the activity of  $\beta$ -glucuronidase was found, whereas the  $\beta$ -glucuronidase is a biomarker of the activity of pathogenic micro-flora.

**Key words:** fructans, inulin, FOS, volatile fatty acids, bacterial enzymes 

MONIKA TWORKO, ALEKSANDRA MARKUCIŃSKA, ANNA WĘGRZYNEK

## ZASTOSOWANIE BIOLUMINESCENCYJNEGO POMIARU ATP DO OCENY POZIOMU HIGIENY W GOSPODARSTWACH DOMOWYCH

### Streszczenie

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania bioluminescencyjnego pomiaru ATP do sprawdzenia poziomu higieny w gospodarstwach domowych i analiza uzyskanych wyników w zależności od rodzaju badanej powierzchni oraz lokalizacji gospodarstwa domowego. Badano 5 powierzchni kuchennych (blat stołu, zlew, deska do krojenia, ściana lodówki oraz jej uchwyt), łącznie w 100 domach, w mieście i na wsi, zlokalizowanych w województwie mazowieckim i podkarpackim.

Średnie wartości poziomu ATP na badanych powierzchniach kuchennych znacznie przekraczały akceptowane poziomy referencyjne, a także poziomy możliwe do przyjęcia (strefa ryzyka). To wskazuje na brak właściwych praktyk higienicznych podczas postępowania z żywnością w badanych gospodarstwach domowych. Najniższy poziom higieny stwierdzono w kuchniach miejskich gospodarstw województwa mazowieckiego oraz w kuchniach wiejskich województwa podkarpackiego. Metoda ATP może być przydatnym narzędziem oceny stanu higieny powierzchni w kuchniach.

**Słowa kluczowe:** gospodarstwa domowe, higiena, pomiar ATP

### Wprowadzenie

Dane epidemiologiczne dotyczące zatruc pokarmowych wskazują na gospodarstwa domowe jako miejsce powstawania zagrożeń zdrowotnych związanych z żywnością. Zapobieganie tym zatruciom pokarmowym to przede wszystkim stosowanie właściwych praktyk higienicznych przy przygotowywaniu posiłków w domach [4, 11]. Najbardziej prawdopodobną przyczyną powstania zagrożeń w kuchniach domowych jest krzyżowe zanieczyszczenie powierzchni i produktów, szczególnie podczas przygotowania surowego drobiu lub mięsa, gdyż mogą one być źródłem dużej liczby opornych bakterii, takich jak *Salmonella* czy *Campylobacter*, które z łatwością rozprzestrzeniają się na powierzchniach w kuchni [2, 13]. Znaczącym źródłem mikroorganizmów jest zwłaszcza surowa żywność; nieuniknione jest również zanieczyszczenie nią

---

*Mgr inż. M. Tworko, mgr inż. A. Markucińska, mgr inż. A. Węgrzynek, Zakład Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

powierzchni oraz sprzętu podczas przygotowywania posiłków. Ważne jest, aby nie dopuszczać do nagromadzenia zanieczyszczeń na powierzchniach z którymi często styka się żywność i na etapach kończących produkcję potraw. Obecność zanieczyszczeń pochodzących z pozostałości żywności, ciał obcych, mikroorganizmów może być ograniczana przez mycie i dezynfekcję [9, 14].

Scott i Bloomfield [15] stwierdzili, że czas przeżywalności mikroorganizmów na wielu powierzchniach w kuchni wynosi od 4 do 24 godz. Przeżywalność jest dłuższa, gdy zanieczyszczona mikrobiologicznie powierzchnia jest brudna i mokra. Niektóre gatunki rozmnażają się na zanieczyszczonych powierzchniach, a po dostaniu się do żywności mogą spowodować jej zepsucie lub potencjalne zagrożenie zdrowotne.

Właściwe utrzymywanie higieny w domu zmniejsza ryzyko powstawania i przenoszenia czynników chorobotwórczych. Jednak, aby żywność była bezpieczna pod względem zdrowotnym, domownicy powinni również przestrzegać określonych zasad postępowania z żywnością, stanowiących ważną część ochrony przed rozprzestrzenianiem się chorób [4, 17]. Ważne jest też poznanie newralgicznych miejsc w kuchniach domowych, które mogą być źródłem mikrobiologicznego zanieczyszczenia żywności.

W Zakładzie Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności SGGW prowadzone są badania ankietowe dotyczące higieny środowiska domowego i jej wpływu na bezpieczeństwo przygotowywanych potraw. Uzupełnieniem tych badań jest ocena czystości powierzchni roboczych w kuchniach domowych.

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania bioluminescencyjnego pomiaru ATP do sprawdzenia poziomu higieny w gospodarstwach domowych i analiza uzyskanych wyników w zależności od rodzaju badanej powierzchni oraz lokalizacji gospodarstwa domowego.

### **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły powierzchnie robocze w kuchniach losowo wybranych 100 gospodarstw domowych województwa mazowieckiego (50) i województwa podkarpackiego (50). W każdym województwie badanie przeprowadzono w 25 kuchniach gospodarstw wiejskich i 25 miejskich. Pomiar wykonywano metodą ATP w 5 ustalonych miejscach (powierzchniach) w każdej kuchni: blat, na którym przygotowuje się posiłki, zlew, deski do krojenia, ściany lodówki oraz jej uchwyty. Zastosowano aparat Uni-Lite Xcel firmy Biotrace. Próbkę do badania pobierano za pomocą wymazówek (piór) znajdujących się w specjalnych probówkach. Po wyjęciu wymazówki z próbki pocierano jej końcówką badaną powierzchnię ograniczoną jałowym metalowym szablonem o powierzchni 25 cm<sup>2</sup>. Następnie wymazówkę umieszczano w probówce, umożliwiając rozpoczęcie reakcji. Tak przygotowaną próbkę wkładano do aparatu Uni-Lite Xcel i po około 15-20 s odczytywano wynik w jednostkach RLU (Relative Light Units).

Wartość RLU jest wprost proporcjonalna do stężenia reagentów reakcji. W przypadku metody ATP wartość RLU zależy od ilości ATP, gdyż ten związek jest reagentem limitowanym, przyjmuje różne wartości natomiast stężenia pozostałych substratów reakcji są stałe, niezmiennie [10]. Reakcja polega na oksydatywnej dekarboksylacji lucyferyny katalizowanej przez lucyferazę, w obecności wysokoenergetycznego ATP oraz jonów magnezu. W wyniku reakcji następuje świecenie o intensywności proporcjonalnej do zawartości ATP w pobranej próbce przy jednoczesnym założeniu, że ilość ATP w komórce jest stała, a ilość emitowanego światła będzie proporcjonalna do liczby żywych komórek [1]. Intensywność światła mierzona jest luminometrem przy długości fali 562 nm, a wyrażana we względnych jednostkach świetlnych RLU (Relative Light Units) [10]. Reakcja powinna przebiegać również w odpowiednich warunkach pH (optimum 7,8–7,9, przedział 6,5–8,0) i temperatury (optimum 25°C, przedział 20–30°C [5, 8]. Na pomiar ATP może mieć wpływ niedostateczna ilość enzymów, jonów metali, zbyt krótki czas pomiarów impulsów świetlnych czy obecność endogennych ATP [5].

Niski poziom ATP w badanej próbce wskazuje, iż dana powierzchnia jest wolna od zanieczyszczeń organicznych i mikrobiologicznych, natomiast jeśli poziom ATP jest wysoki oznacza to, że powierzchnię należy uznać za zanieczyszczoną substancjami organicznymi i mikrobiologicznymi [16].

Metoda ta pozwala na szybką ocenę czystości mikrobiologicznej badanych obiektów, a przez to podjęcie natychmiastowych działań korygujących w przypadku uzyskania wyników niemieszczących się w ustalonych przedziałach krytycznych.

Pomiar ATP jest stosowany jako wskaźnik higieny, świadczący o obecności: zanieczyszczeń, które mogą zawierać bakterie lub inne mikroorganizmy, brudu, ekskrementów, żywności, itp. Metoda ta gwarantuje wykrycie nie tylko ATP pochodzenia mikrobiologicznego, ale również ATP z surowców i produktów spożywczych (ze względu na czystość i higienę nie jest ważne czy na powierzchni roboczej lub urządzeniu produkcyjnym znajdują się drobnoustroje, pozostałości materiału biologicznego, surowca czy też krwi) [6, 10].

Analizę statystyczną uzyskanych pomiarów higienicznych w zależności od miejsca zamieszkania przeprowadzono za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji.

## Wyniki i dyskusja

Badania przeprowadzono w czasie normalnego funkcjonowania kuchni, bez dodatkowego czyszczenia i mycia. Szeroki zasięg odczytanego poziomu ATP można tłumaczyć różnicami między badanymi powierzchniami, np. ze względu na ich rodzaj, okres użytkowania, budowę, a także czyszczenie ich różnymi materiałami przez różne osoby. Otrzymane wartości średnie, minimalne, maksymalne oraz odchylenie standardowe przedstawiono w tab. 1. Uzyskane pomiary ATP porównano z wartościami referencyjnymi zaproponowanymi przez Worsfolda i Griffitha [18] do powierzchni kuchni domowych.

Z przedstawionego porównania wynika, że średnie wartości poziomu ATP wszystkich badanych powierzchni kuchennych przekraczały limity uznane za bezpieczne, a także tak zwaną strefę ryzyka. Porównanie wartości średnich wskazuje, że najbardziej zanieczyszczoną (najwyższe wartości RLU) powierzchnią były uchwyty lodówek, natomiast najmniej zanieczyszczoną była ściana lodówki. Według Grzebińskiej [7] uchwyty chłodziarki to miejsca mające częsty kontakt z dłońmi, dlatego narażone są one na zabrudzenia i z tego powodu są potencjalnym źródłem zanieczyszczenia.

Wysokie poziomy RLU stwierdzono również na powierzchni blatu stołu, deski oraz zlewu. Zlew jest miejscem sprzyjającym rozwojowi drobnoustrojów, ze względu na dużą ilość wody oraz wszelkich pozostałości organicznych na zmywakach po myciu brudnych naczyń. Wysokie wartości RLU ocenione na deskach do krojenia i blatach stołu mogą mieć związek z obecnością pozostałości żywności na tych powierzchniach.

Otrzymany poziom ATP z wielu powierzchni kuchni wskazywał na niepokojący poziom zabrudzenia, podczas gdy domownicy uważali swoje kuchnie za wystarczająco czyste do przygotowania żywności.

Tabela 1

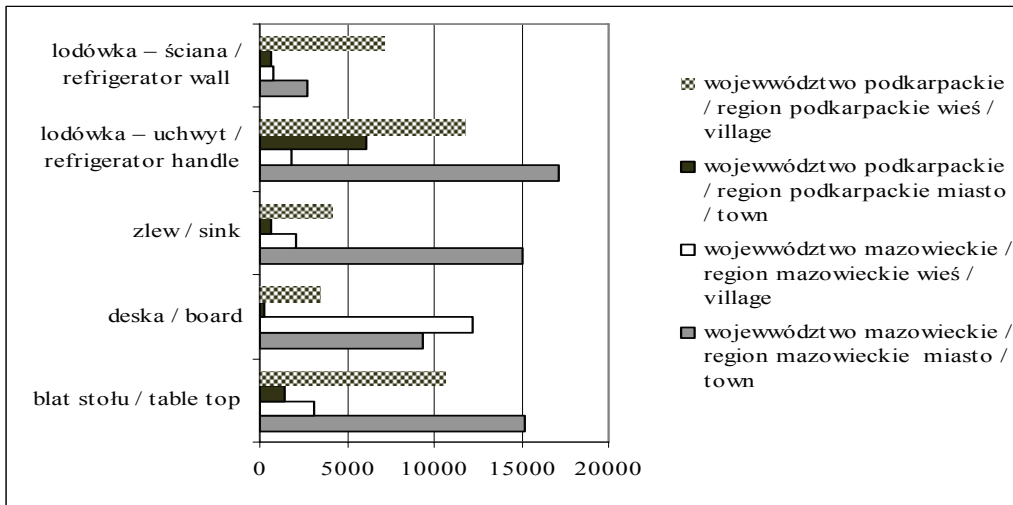
Porównanie stanu higieny (RLU) badanych powierzchni kuchennych z wartościami referencyjnymi.  
Comparison of hygiene level (RLU) of evaluated kitchen surfaces to references value.

Badane powierzchnie Surfaces evaluated	Badania własne Own study				Wartości referencyjne uzyskane w badaniach finansowanych przez Ministerstwo Rolnictwa, Rybactwa i Żywności w Wielkiej Brytanii [18] References value obtained during studies by sponsored Ministry of Agriculture, Fisheries and Food in Great Britain [18]		
	$\bar{x}$ RLU	$S_x$ RLU	Min RLU	Max RLU	Poziom akceptowany Accept RLU	Strefa ryzyka Caution RLU	Poziom nieakceptowany Reject RLU
Blat stołu Table top	7517,535	14256,96	91	94968	<336	336-403	>403
Deska Board	6266,05	27190,47	17	257394	<813	813-976	>976
Zlew Sink	5436,594	9387,014	29	54805	<621	621-745	>745
Uchwyt lodówki Refrigerator handle	9148	21665,13	12	125479	<171	171-205	>205

Uzyskane średnie wartości RLU powierzchni w kuchniach w zależności od miejsca zamieszkania (miasto, wieś, województwo podkarpackie, województwo mazowieckie) przedstawiono na rys. 1.



Hipotezę o wpływie miejsca zamieszkania na poziom higieny powierzchni w kuchniach zweryfikowano metodą dwuczynnikowej analizy wariancji. Starano się odpowiedzieć na pytanie, czy określone w planie doświadczenia dwa czynniki (województwo i typ miejscowości: miasto, wieś) powodują zróżnicowanie wyników badania parametrów ATP. Weryfikację postawionych hipotez zerowych: o wpływie obu czynników i interakcji pomiędzy tymi czynnikami wykonano przy przyjętym poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  (tab. 2).



Rys. 1. Ocena stanu higienicznego powierzchni kuchennych w zależności od lokalizacji – wartości średnie RLU.

Fig. 1. Hygiene level of kitchen surfaces depending on kitchen location – mean values RLU.

Tabela 2

Wyniki analizy wariancji dotyczące wpływu miejsca zamieszkania na poziom higieny badanych powierzchni.

Variance analyses concerning influence of residences on level of evaluated surfaces hygiene.

Czynnik Factor	Blat stołu Table top	Deska Board	Zlew Sink	Lodówka - uchwyt Refrigerator handle	Lodówka - ściana Refrigerator wall
	Wartości testu F / Value test F				
Województwo / Region	1,332	3,643*	16,122*	0,014	0,784
Typ miejscowości / Type of place	0,280	0,310	9,609*	1,272	0,843
Interakcja: Województwo. Typ miejsc. Interaction: Region. Type of place	16,010*	0,001	28,548*	6,138*	3,937*

Symbol \* oznacza, że hipotezę zerową należy odrzucić / Symbol \* mean that zero hypothesis should be rejected



Poziom ATP niektórych powierzchni kuchennych (deska, zlew) w badanych gospodarstwach w województwie mazowieckim różnił się statystycznie istotnie od poziomu RLU w gospodarstwach zlokalizowanych w województwie podkarpackim. Różnice statystycznie istotne występowały również w przypadku interakcji obu czynników: województwo i typ miejscowości, na badany poziom RLU.

Porównanie średnich wartości RLU powierzchni w badanych kuchniach zlokalizowanych w różnych miejscach, z wartościami referencyjnymi Worsfolda i Griffitha [18] pozwala na bardziej optymistyczne wnioski dotyczące higieny. Poziom higieny deski do krojenia w gospodarstwach miejskich województwa podkarpackiego można uznać jako akceptowany, natomiast pozostałe powierzchnie znajdują się w strefie ryzyka. Podobne wyniki czystości powierzchni uzyskali w swoich badaniach Worsfold i Griffith [18]. Ponad połowa blatów była na poziomie akceptowanym, jednak większość kurków kranów i uchwytów lodówek na poziomie nieakceptowanym.

Z kolei mikrobiologiczną ocenę powierzchni przeprowadzili Beumer i Gifell [13] w 1999 r. w 250 kuchniach domowych, w których w 15 różnych miejscach, między innymi na ścierkach do naczyń, deskach do krojenia i sprzęcie kuchennym badano obecność patogenów. W żadnej z badanych próbek nie stwierdzono obecności *Salmonella*. Mógł się do tego przyczynić fakt, że próbki nie były pobierane podczas przygotowywania posiłku lub bezpośrednio po jego przygotowaniu.

W innych pracach badawczych [3] stwierdzono, że 2 do 4 godzin po przygotowywaniu posiłków liczba Gram-ujemnych bakterii znacznie się zmniejszyła odpowiednio do wysuszenia powierzchni. Gram-dodatnie patogeny, takie jak *Clostridium perfringens* oraz bakterie z grupy coli wykryto we wszystkich badanych domach. *Bacillus cereus* i *Staphylococcus aureus* dominowały głównie w miejscach suchych. *Listeria monocytogenes* były obecne w 10% badanych gospodarstwach domowych.

W badaniach prowadzonych przez Larson [12] w 2003 r., zastosowanie metody ATP w gospodarstwach domowych zostało pozytywnie przyjęte przez domowników. Badania wskazały, że metoda ta może stanowić godne zaufania praktyczne narzędzie do oszacowania warunków higienicznych w domach. Dzięki temu metoda ta może być pomocna specjalistom ds. sanitarnych i innym zajmującym się przenoszeniem zagrożeń mikrobiologicznych w środowiskach domowych.

## Wnioski

1. Średnie wartości poziomu ATP na badanych powierzchniach kuchennych znacznie przekraczały przyjęte akceptowane poziomy referencyjne, a także poziomy możliwe do przyjęcia (strefa ryzyka), co wskazuje na brak właściwych praktyk higienicznych podczas postępowania z żywnością w badanych gospodarstwach domowych.

2. Najniższy poziom higieny stwierdzono w kuchniach miejskich gospodarstw województwa mazowieckiego oraz w kuchniach wiejskich województwa podkarpackiego.
3. Metoda ATP może być przydatnym narzędziem oceny stanu higienicznego powierzchni w kuchniach.

*Praca została wykonana pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Danuty Kołożyn-Krajewskiej i była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.*

### Literatura


- [1] Adamczak M., Bednarski W., Kowalska A.: Szybkie testy biologiczne szansą poprawy i standaryzacji jakości żywności. *Przem. Spoż.*, 1999, **53**, 6, 36-40.
- [2] Beumer R.E., te Eiffel M.C. Pathogens in domestic kitchens: facts and fiction. In: Tuijelaars, A.C.J., Samson R. A., Rombouts F.M., Notermans S. (Eds.) *Food Microbiology and Food Safety into the Next Millenium*. Zeist, The Netherlands 1999, pp. 345-347.
- [3] Beumer R. R., Kusumaningrum H. D. Kitchen in daily life. *International Biodeterioration and Biodegradation* 2003, **51**, 299-302.
- [4] Beumer R. R., Kusumaningrum H. D. Survival and cross-contamination of foodborne pathogens in the domestic kitchen: a review. In: *Restaurant and Catering Food Safety: Putting HACCP on the Menu*, editors: Maunsell B., Bolton D.J. 2005, pp. 42-60.
- [5] Czaczyk K.: Bioluminescencyjny pomiar ATP – szybka metoda oceny zakażenia mikrobiologicznego. *Przem. Spoż.*, 1999, **53**, 12, 39-40.
- [6] Czajkowska D., Witkowska-Gwiazdowska A. Ocena stanu higieny w zakładach piwowskich. Zastosowanie metody oznaczania ATP. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1996, **6**, 5-7.
- [7] Grzebińska W. Higiena Absolutna Coś Całkiem Proste (XXIII). *Przegl. Gastr.*, 2006, **1**, 4.
- [8] Jałosińska-Pieńkowska M.: Nowoczesne metody mikrobiologiczne w zapewnieniu i kontroli higieny produkcji żywności. W: *Higiena produkcji żywności – red. Kołożyn-Krajewska D.*, Wyd. SGGW, Warszawa 2003.
- [9] Josephson K.L., Rubino J.R., Pepper I.L. Characterization and quantification of bacterial pathogens and indicator organisms in household kitchen with and without the use of a disinfectant cleaner. *J. Appl. Microbiol.*, 1997, **83**, 737-750.
- [10] Kołożyn-Krajewska D. (red.): *Higiena produkcji żywności*. Wyd. SGGW, Warszawa 2003.
- [11] Kołożyn-Krajewska D., Korczak J.: Mikroorganizmy w przetwórstwie domowym i technologii potraw. W: *Mikroorganizmy w żywności i żywieniu - red. Gawęcki J., Libudzisz Z.*, Wyd. AR, Poznań 2006.
- [12] Larson E. L., Aiello A.E., Gomez-Duarte C., Lin S.X., Lee L., Della-Latta P., Lindhardt Ch.: Bioluminescence ATP monitoring as a surrogate marker for microbial load on hands and surfaces in the home. *Food Microbiol.*, 2003, **20**, 735-739.
- [13] Redmon E.C., Griffith C.J.: Consumer food handling in the home: a review of food safety studies. *J. Food Prot.*, 2002, **66** (1), 130-161.
- [14] Rusin P., Orosz-Coughlin P., Gerba C.: Reduction of fecal coliform, coliform and bathroom by disinfection with hypochlorite cleaners. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **85**, 819-828.

- [15] Scott E., Bloomfield S.F. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. *J. Appl. Bacteriol.*, 1990, **68**, 271-278.
- [16] Stoińska H.: Higiena personelu produkcyjnego. W: *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym* red. - Żakowska Z., Stoińska H., Wyd. PŁ, Łódź 2000.
- [17] Worsfold D., Griffith C.J. Cross-contamination in domestic food preparation. *Hygiene and Nutrition in Foodservice and Catering*, 1996, **1**, 151-162.
- [18] Worsfold D., Griffith C.J. An assessment of cleanliness in domestic kitchens. *Hygiene and Nutrition in Foodservice and Catering*, 1996, **1**, 163-173.

#### APPLICATION OF BIOLUMINESCENCE ATP FOR LEVEL OF HYGIENE ESTIMATION AT HOMES

##### Summary

Aim of the study was assessment of ATP bioluminescence measurement results for hygiene level evaluation at homes. Analysis of obtained results was performed depending on kind of evaluated surface and location of housekeeping. Five kitchen surfaces (sink, board, wall and handle of refrigerator) at 100 homes in town and village localized in mazowieckie and podkarpackie region were evaluated. Mean values of ATP levels on evaluated kitchen surfaces considerably surpassed accept reference level as well as zone risk. It indicates lack of proper hygiene procedures during food preparation at evaluated homes. Lowest level of hygiene was obtained in town kitchens of mazowieckie region and in village kitchens of podkarpackie region. ATP method can be useful tool for surface hygiene estimation at homes.

**Key words:** household, hygiene, ATP measurement 

GRAŻYNA MORKIS

## 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 30 listopada 2007 r.

### *Polskie akty prawne*

1. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 17 października 2007 r. w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego (Dz. U. 2007 r. Nr 209, poz. 1518).

W rozporządzeniu określono:

- przeznaczenie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego,
- szczegółowe wymagania, jakie powinny spełniać te środki, w szczególności w zakresie ich składu,
- wykaz substancji chemicznych należących do kategorii substancji dodawanych w szczególnych celach żywieniowych do środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego, które mogą być wykorzystane w produkcji tych środków spożywczych oraz warunki ich stosowania,
- szczególne wymagania i warunki dotyczące oznakowania, prezentacji i reklamy środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego i przedmiotów służących do karmienia niemowląt,
- wymagania w zakresie treści materiałów informacyjnych i edukacyjnych dotyczących żywienia niemowląt oraz warunki przekazywania takich materiałów przez producentów i dystrybutorów środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego i przedmiotów służących do karmienia niemowląt,

- warunki wprowadzania do obrotu środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego przeznaczonych bezpośrednio dla konsumenta finalnego bez opakowania obejmującego w całości środek spożywczy.

### ***Unijne akty prawne***

1. Rozporządzenie Komisji (WE) NR 1353/2007 z dnia 20 listopada 2007 r. zmieniające załącznik I 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 monenzyny, lasalocidu i tylwalozyny (tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L 303 z dn. 21.11.2007 r., s. 6).  
Zostały ustalone najwyższe dopuszczalne poziomy pozostałości monenzyny w odniesieniu do bydła (mięśnie, tłuszcz, wątroba, nerki, mleko) oraz dla lasalocidu w odniesieniu do drobiu (mięśnie, skóra, tłuszcze, wątroba, nerki). ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, DAGMARA MIERZEJEWSKA

## WSPÓŁCZESNY LEKSYKON WIEDZY O ŻYWNOSĆCI

Prezentujemy 28. część haseł *Współczesnego leksykonu wiedzy o żywności*. Druk leksykonu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 3 (28), 2001.

**ADIPOGENEZA / ADIPOGENESIS** – tworzenie się tkanek tłuszczowych (komórek tłuszczowych). Może się odnosić także do produkcji tłuszczu albo zwyrodnienia tłuszczowego, albo nacieczenia komórek tłuszczami (stłuszczenie)

**APOLIPOPROTEINA / APOLIPOPROTEIN** – składnik białkowy, który łączy się z tłuszczem tworząc lipoproteinę

**BIOAKTYWACJA / BIOACTIVATION** – konwersja (przemiana) nieaktywnego związku do aktywnego wewnątrz żywego organizmu

**CHIMERA / CHIMERA** – organizm, organ lub część składająca się z dwu lub więcej tkanek o różnym genetycznym składzie, powstała jako wynik transplantacji organu przeszczepu lub inżynierii genetycznej

**TECHNOLOGIE „OMIKS” / OMICS TECHNOLOGIES** – wysoko wydajne, zaawansowane przetwórcze technologie stosowane równocześnie do analizy różnych rodzajów makromolekuł. Np. transkryptomika mierzy wiele transkryptów, proteomika mierzy wiele białek, metabolomika mierzy wiele metabolitów

**SAMOBÓJCZE SUBSTRATY / SUICIDAL SUBSTRATES** – inhibitory enzymów projektowane jako związki, które powinny być aktywowane przez enzym w

reakcji enzymatycznej, a które w efekcie wiążą nieodwracalnie miejsce aktywne enzymu

**STAN POPOSIŁKOWY / POSTPRANDIAL STATE** – fizjologiczny i metaboliczny stan następujący po spożyciu pokarmu

**SZLAK UBIKWITYNOWY / UBIQUITIN PATHWAY** – seria enzymatycznych reakcji, które ostatecznie degradują białka. Ubikwityna jest przyłączana do białek przeznaczonych do degradacji ☒

## NOWE KSIĄŻKI

### **Kinetic Modelling of Reactions in Foods**

[Kinetyczne modelowanie reakcji w żywności]

Tiny van Boekel, Wageningen University, The Netherlands

Wydawnictwo: Taylor & Francis Group, 2008, ISBN 9781574446142, stron 400, cena 179,95\$

Zamówienia: [www.crcpress.com](http://www.crcpress.com)

Modelowanie zmian zachodzących w żywności ma charakter kinetyczny. Łącząc naukę o żywieniu, kinetykę i statystykę opisano badania służące przewidywaniu i kontroli wyróżników jakości żywności z wykorzystaniem modeli komputerowych. W książce przedstawiono zastosowanie modeli kinetycznych uwzględniających ogólne zasady chemii, fizyki i biochemii. Wyjątkowo cenną cechą omawianej publikacji jest powoływanie się Autorów na przykłady praktyczne, a nie hipotetyczne.

### **Technologia żywności pochodzenia zwierzęcego. Surowce**

Skrabka-Błotnicka Teresa

Wydawnictwo: AE we Wrocławiu, Wrocław 2007, ISBN: 83-7011-847-1, stron 207, cena 38,99 zł

Podręcznik zawiera informacje dotyczące podstawowych surowców pochodzenia zwierzęcego, co stanowi podstawę do lepszego zrozumienia procesów technologicznych, zagadnień sanitarno-weterynaryjnych, ochrony środowiska i kontroli jakości. Bardzo wyważona interpretacja tzw. nowości naukowych sprawia, że przedstawiony materiał można rekomendować studentom, a także pracownikom naukowym.

### **Postawy względem żywności i żywienia. Wybrane aspekty teoretyczne i metodyczne**

Jerzewska-Zychowicz M., Piłska A.

Wydawnictwo: SGGW, Warszawa 2007, ISBN 83-7244-829-9, stron 103, cena 19,80 zł  
Książka powstała z myślą o badaczach zajmujących się zachowaniami żywieniowymi i ich uwarunkowaniami. Omówiono w niej następujące zagadnienia: 1. Postawy, ich



---

istota i geneza; 2. Badanie postaw; 3. Związek postaw z zachowaniami; 4. Zastosowanie teorii planowych zachowań w badaniach empirycznych - aspekty metodyczne; 5. Zastosowanie teorii planowych zachowań w ocenie czynników warunkujących zachowania związane z suplementacją diety.

Opracował: *Stanisław Popek*

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

W dniach 23-24 maja 2007 r., w Lublinie, odbyła się XII Sesja Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ z cyklu: „Jakość i prozdrowotne cechy żywności”. Wiodącym tematem tegorocznej Sesji były „Właściwości funkcjonalne żywności i jej składników”. Organizatorami tegorocznej Sesji byli: Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ oraz Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii Akademii Rolniczej w Lublinie. Natomiast współorganizatorami Sesji byli: Oddział Lubelski PTTŻ oraz Zarząd Główny PTTŻ.

Sesja SMKN PTTŻ była kontynuacją corocznych spotkań naukowych, których celem jest umożliwienie prezentacji dorobku naukowego doktorantów i młodych pracowników nauki oraz wymiana doświadczeń i poglądów w gronie młodych naukowców, a także doświadczonej kadry, której obecność i zaangażowanie podczas obrad jest inspiracją i bodźcem do dalszego doskonalenia swojego warsztatu naukowego. Prezentowane prace dotyczyły: przetwarzania żywności, udoskonalania procesów technologicznych, funkcjonalnych i biologicznych właściwości składników żywności, postępów w produkcji żywności funkcjonalnej oraz analizy żywności i zagadnień pokrewnych.

W tegorocznym spotkaniu uczestniczyli przedstawiciele następujących ośrodków: Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego (Warszawa), Akademia Rolnicza (Poznań), Uniwersytet Warmińsko-Mazurski (Olsztyn), Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN (Olsztyn), Uniwersytet Przyrodniczy (Wrocław), Akademia Rolnicza (Kraków), Akademia Ekonomiczna (Kraków), Politechnika Łódzka (Łódź), Akademia Morska (Gdynia), Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy (Bydgoszcz), Akademia Medyczna (Warszawa), Akademia Rolnicza (Szczecin), Politechnika Gdańska (Gdańsk), Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (Oddział Jadwisin, Serock), Państwowy Instytut Weterynaryjny – PIB (Puławy), Wytwórnia Octu i Musztardy (Parczew) i gospodarze z Akademii Rolniczej w Lublinie. W spotkaniu uczestniczyło 130 osób. Podczas Sesji przedstawiono 19 komunikatów ustnych i 83 plakaty.

W czasie Sesji wysłuchano referatów plenarnych, które wygłosili: prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna nt. „Sensoryczne interakcje potencjatorów smaku z modelowymi produktami i ich wpływ na afektywne i jakościowo-ilościowe aspekty smakowości”, prof. dr hab. Henryk Kostyra pt. „Zintegrowane systemy analityczne w badaniach żywności” oraz prof. dr hab. Stanisław Mleko pt. „Żywność kosmiczna jako czynnik rozwoju badań nad bezpieczeństwem i jakością żywności”.

Prezentowana była również aparatura analityczno-badawcza i wyposażenie laboratoriów przez przedstawicieli firm SHIM-POL A.M. Borzymowski s.c, TEHAND, ATU sp. z o.o., MERCK sp. z o.o. Ponadto Pan mgr Jerzy Czajkowski z firmy ATU przedstawił wykład pt. „Nowoczesne rozwiązania wspierające jakość żywności”.

W otwarciu Sesji udział wzięli m.in.: J. M. Rektor AR - prof. dr hab. Zdzisław Targoński, Prorektor ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą - prof. dr hab. Janusz Wiśniewski, Prorektor ds. Organizacji i Kadr - dr hab. Krzysztof Czernaś, Dziekan Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii - prof. dr hab. Barbara Baraniak, Prodziekan ds. Studenckich - prof. dr hab. Izabella Jackowska, Prodziekan ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą - prof. dr hab. Stanisław Mleko, Prezes PTTŻ - prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska. Sesję uświetniła także obecność Profesorów: Antoniego Rutkowskiego, Niny Baryłko-Pikielnej, Henryka Kostyry, Małgorzaty Nogali-Kałuckiej, Marii Wojtatowicz, Marioli Friedrich, Zbigniewa Dolatowskiego, Marii Mikos-Bielak, Ewy Makarskiej Ireny Peruckiej, Ewy Solarskiej, Leszka Mościckiego, Jerzego Jamroza, Janusza Kalbarczyka i Wiesława Wójcika, którzy uczestniczyli w dyskusji z doktorantami nie tylko w czasie trwania sesji referatowej, ale również podczas prezentacji plakatów.

Organizatorzy, wspólnie z Komitetem Doradczym i prezesem Oddziału Lubelskiego PTTŻ - prof. dr hab. Stanisławem Mleko, uhonorowali nagrodami 4 prace w kategorii komunikat ustny i plakat.

W kategorii komunikat nagrody otrzymali:

- I miejsce - dr inż. Joanna Sadowska z Akademii Rolniczej w Szczecinie za opracowanie nt. „Wpływ składu diety i jej suplementacji wybranymi witaminami z grupy B na stężenie kortykosteronu i aldosteronu we krwi szczura”;
- wyróżnienie – mgr inż. Maciej Kuligowski z Akademii Rolniczej w Poznaniu za opracowanie nt. „Wpływ metody obróbki na jakość produktów typu tempeh”.

W kategorii plakat nagrody otrzymali:

- I miejsce - mgr Krzysztof Bielikowicz z Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie za opracowanie nt. „Wpływ nieenzymatycznej glikacji na właściwości immunogenne albumin i globulin pszenicy”;
- wyróżnienie - dr inż. Stanisław Kalisz ze Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie za opracowanie nt. „Zmiany wybranych wyróżników jakościowych podczas przechowywania soków odtwarzanych z koncentratów”.

Patronat medialny Sesji objęła TVP 3, Panorama Lubelska, Radio Lublin, Kurier Lubelski oraz nasze media uczelniane: Aktualności AR i magazyn studencki Radar. Ponadto sponsorami Sesji byli: A.J. Motyl, ATU, Benecol-Raisio, Biuro Promocji Miasta Lublin, MI-GO, Fructo-Maj, Grand Caffè, Lubelski Rynek Hurtowy w Elizówce, MERCK, MPK Lublin, Nałęczów Zdrój – Cisowianka, PERŁA – Browary Lubelskie, RHL-Service, SHIM-POL A.M. Borzymowski, TEHAND.

Pierwszy dzień Sesji zakończyło spotkanie integracyjne w Dworku Ziemiańskim Akademii Rolniczej w Lublinie.

Kolejna XIII Sesja MKN PTTŻ odbędzie się w maju 2008 roku w Łodzi, gdzie już teraz w imieniu Organizatorów gorąco zapraszam życząc im wielu sukcesów.

*Bartosz Sołowiej*

## TECHNOLOG ŻYWNOSCI

### INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 17 Nr 5

grudzień 2007

---

#### DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

##### Zarząd Główny

W dniu 30.11.2007 roku w Warszawie została zawarta umowa pomiędzy Krajowym Związkiem Spółdzielni Mleczarskich i Sekcją Ekonomiczną PTTŻ. PTTŻ zobowiązał się do opracowania tematu „Analiza zwyczajów i postępowania konsumentów na rynku mleka i przetworów mlecznych” na podstawie badań rynkowych.

Zarząd Główny nawiązał współpracę z Funduszem Współpracy „AGRO-SMAK-2”, w ramach której Towarzystwo będzie realizować temat pt. „Diagnoza stanu bezpieczeństwa w procesach wytwarzania produktów tradycyjnych i lokalnych oraz projekt modelu systemu bezpieczeństwa i doradztwa technologicznego dla tych produktów”.

PTTŻ jako organizacja pożytku publicznego złożyła odpowiednie dokumenty w Urzędzie Skarbowym w związku ze zmianą w sposobie przekazywania 1% podatku. Obecnie wypełniając PIT do rozliczeń za rok 2007 wystarczy wpisać nazwę Towarzystwa i nr KRS, a pieniądze przekaże za nas fiskus.

#### WAŻNIEJSZE MIĘDZYNARODOWE I KRAJOWE KONFERENCJE I KONGRESY NAUKOWE

**2008 r.**

##### Luty

**12 – 13 OLSZTYN – KORTOWO = XI Międzynarodowa Sesja naukowa nt.: „Postęp w technologii, technice, analityce i organizacji mleczarstwa”.**

Kontakt: dr inż. Krzysztof Bohdziewicz, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością UWM, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn; tel.: 89/5233908;  
e-mail: k.bohdziewicz@uwm.edu.pl

Maj

**12 – 15 SZKLARSKA PORĘBA = V Konferencja Naukowa z cyklu: „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie” nt.: „Przetwórstwo ziemniaka czynnikiem wzrostu i racjonalizacji jego produkcji”**

Organizator: Oddział Wrocławski PTTŻ, Sekcja Technologii Węglowodanów

**28 – 29 ŁÓDŹ = XIII Sesja Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ nt.: „Żywność XXI wieku – szanse i zagrożenia”**

Czerwiec

**17 – 21 KRAKÓW = XVI International Starch Convention Cracow-Moscow**

Kontakt : mgr Joanna Opalińska – Piskorz

e-mail: joal11@wp.pl

Wrzesień

**8 – 10 CAPE TOWN, South Africa = 17th World Meat Congress**

**14 – 16 WARSZAWA = 5th EUROPEAN CONGRESS ON NUTRITION AND HEALTH IN THE ELDERLYNHE – 2008**

**25 – 26 LUBLIN = III Międzynarodowa Konferencja Naukowa z cyklu „Mięso w przetwórstwie i żywieniu człowieka” nt.: „Tradycyjne i regionalne technologie i produkty w żywieniu człowieka”**

Kontakt: dr inż. Agnieszka Latoch, dr inż. Joanna Stadnik

tel.: 081 462 33 40÷41, fax: 081 462 33 45

e-mail: ktmzj@ar.lublin.pl

**25 – 27 TORUŃ = IX Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Technologiczna**

Organizator: Sekcja Chemii i Technologii Tłuszczów PTTŻ

Październik

**19 – 24 SHANGHAI, China = The 14\* IUFoST World Congress of Food Science and Technology, Food for Health and Wellbeing: Tradition Meets the Future.,**

Contact: e-mail: cifst@yahoo.com.cn

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA  
TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, RAISIO POLSKA FOODS Sp. z o.o. Karczew, FRITO – LAY POLAND Sp. z o.o. Grodzisk Mazowiecki, HORTIMEX Sp. z o.o. Konin.**

Przy Oddziale Łódzkim: **POLFARMEX S.A.**

---

Przy Oddziale Małopolskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO BIELMAR Sp. z o.o., Bielsko-Biała.**

Przy Oddziale Szczecińskim: **TECHNEX Sp. z o.o., Szczecin.**

Przy Oddziale Warszawskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO S.A., WARSZAWA.**

Przy Oddziale Wielkopolskim: **PRZEDSIĘBIORSTWO PRZEMYSŁU FERMENTACYJNEGO „AKWAWIT” S.A., Leszno, HORTIMEX Sp. z o.o., Konin, SŁAWSKI ZAKŁAD PRZETWÓRSTWA MIĘSA I DROBIU s.c. „BALCERZAK I SPÓŁKA”, Wróblów k. Sławy, POZMET S.A., Poznań.**

Przy Oddziale Wrocławskim: **REGIS Wieliczka.**

---

---

*Material zawarty w Nr 5 (54)/2007 Biuletynu podano według stanu informacji do 10 grudnia 2007 r.*

*Materiały do Nr 1/2008 prosimy nadsyłać do 1 marca 2008 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**

<b>PREZES / ODDZIAŁ</b>	<b>ADRES</b>
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: kasia@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
<b>SEKCJE</b>	
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	WSliZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 022 646 20 60; e-mail: krajewski@wsliiz.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. Waclaw 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-Łukasiak Młodej Kadry Naukowej	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA e-mail: katarzyna_marciniak_lukasiak@sggw.pl



## CONTENTS

From the Editor .....	7
<i>Zbyszko Lubiewski, Joanna Le Thanh, Lidia Stendera, Grażyna Lewandowicz</i> : Enzymatic hydrolysis of sodium starch octenylsuccinate in continuous recycle membrane reactor.....	9
<i>Małgorzata Kapelko, Tomasz Zięba</i> : The properties of extruded potato starch modified by glycine .....	23
<i>Małgorzata Piecyk, Renata Walicka</i> : The effect of the hydrothermal modification on the properties of the starch obtained from chosen legume seeds .....	33
<i>Agnieszka Trela, Leszek Mościcki</i> : Influence of extrusion process on selected quality properties of cereal pellets .....	43
<i>Anna Matusz-Mirlak, Dorota Pastuszka, Halina Gambuś</i> : The content of some selected pro-health ingredients in extrudates containing rye bran added .....	55
<i>Karolina Stempińska, Maria Soral-Śmietana, Henryk Zieliński, Anna Michalska</i> : Effect of thermal treatment on chemical and antioxidant properties of buckwheat grains .....	66
<i>Agnieszka Zembold-Guła, Józef Błażewicz</i> : The effect of barley grain malting time modification on selected properties of worts obtained with maize grits addition .....	77
<i>Magdalena Skotnicka, Piotr Palich</i> : Influence of storage conditions on the staling rate of frozen cake products.....	84
<i>Dominika Boguszevska</i> : Changes of chemical compounds in potato tubers under drought conditions .....	93
<i>Dariusz Kowalczyk, Małgorzata Stryjecka, Barbara Baraniak</i> : The profile of functional properties of native and acylated lentil protein concentrates and their trypsin hydrolysates.....	102
<i>Beata Drużyńska, Agnieszka Jeżak</i> : Antioxidative properties of polyphenols contained in the seed coats of broad bean .....	113
<i>Urszula Samotyja, Tomasz Zdziebłowski, Mirosława Szlachta, Maria Malecka</i> : Antioxidant properties of extracts of germinated seeds .....	122
<i>Ewa Sosińska, Mieczysław W. Obiedziński</i> : Investigation on bioactive glucosinolates in chosen cruciferous vegetables varieties by HPLC.....	129
<i>Ewa Jabłońska-Ryś</i> : The content of polyacetylenes comparison in the 18 cultivars of celeriac.....	137
<i>Michał Gośliński, Renata Zawirska-Wojtasiak, Janina Gajc-Wolska</i> : Parameter optimization of the SPME technique for the purpose of evaluating the aroma of the fruit of cucumber of transgenic lines with a gene of thaumatin II .....	144
<i>Joanna Niewczas, Marta Mitek</i> : The storage influence on selected chemical composition parameters of new varieties of the winter squash ( <i>Cucurbita maxima</i> ).....	155
<i>Emilia Bernaś, Grażyna Jaworska, Ireneusz Maciejaszek, Adriana Biernacka</i> : The influence of preliminary treatment, freezing and frozen storage on <i>Agaricus bisporus</i> texture .....	165
<i>Arkadiusz Szterk, Piotr P. Lewicki</i> : Study on $\beta$ -carotene stability on various solid food supports .....	173

<i>Dorota Zielińska, Urszula Uzarowicz</i> : Development of ripening and storage conditions of probiotic soy beverage .....	186
<i>Stanisław Kalisz, Marta Mitek</i> : The influence of wild rose nectar addition into apple juices on the antioxidant activity and the bioactive components content .....	194
<i>Stanisław Kalisz, Michał Wolniak</i> : Changes of selected qualitative distinguishing features during storage of restored juices from concentrates .....	203
<i>Magdalena Kopera, Marta Mitek</i> : Effect of osmotic dehydration on polyphenols content in dried pears ( <i>Pyrus communis</i> i <i>Pyrus pyrifolia</i> ) .....	213
<i>Małgorzata Rząca, Dorota Witrowa-Rajchert</i> : Influence of convective-microwave drying parameters on radical scavenging activity of dried apples .....	222
<i>Iwona Ścibisz, Marta Mitek</i> : Influence of freezing process and frozen storage on anthocyanin contents of highbush blueberries .....	231
<i>Tomasz Krupa, Piotr Latocha</i> : Antioxidant activity and contents of vitamin C and phenolic compounds in fruit of various hardy kiwifruit ( <i>Actinidia lindl.</i> ) genotypes .....	239
<i>Ewa Majewska, Anna Delmanowicz</i> : The aroma profile in selected bee honey .....	247
<i>Przemysław Krawczyk, Beata Drużyńska</i> : Comparison of determination of catechins in green and black tea leaves using vanillin Assay And HPLC-Method .....	260
<i>Marta Ciecierska, Mieczysław W. Obiedziński, Marta Albin</i> : Teas' contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons .....	267
<i>Waldemar Gustaw, Maciej Nastaj, Bartosz Sołowiej</i> : The effect of hydrocolloids addition on rheological properties of set yoghurt .....	274
<i>Maciej Nastaj, Waldemar Gustaw, Bartosz Sołowiej</i> : The rheological properties of milk desserts obtained from the whey proteins with the addition of different sweeteners .....	283
<i>Bartosz Sołowiej</i> : Texture analysis of processed cheese analogs with whey products addition .....	292
<i>Anna Bzducha, Mieczysław W. Obiedziński</i> : The count of <i>Lactobacillus</i> and <i>Bifidobacterium</i> rods and their effect on the content of conjugated linoleic acid in the model ripening cheeses .....	301
<i>Karolina Szulc, Andrzej Lenart</i> : Influence of agglomeration on useful properties of powdered model nutrients for children .....	312
<i>Sabina Kokoszka, Andrzej Lenart</i> : Selected physical properties of whey protein based edible coatings .....	321
<i>Urszula Złotek, Urszula Gawlik-Dziki</i> : Effect of acidic hydrolysis on the antioxidant properties of alcoholic extracts from the selected spices .....	329
<i>Dorota Derewiaka, Mieczysław W. Obiedziński</i> : The properties of extruded potato starch modified by glycine .....	337
<i>Katarzyna Jędrzejkiewicz, Anna Florowska</i> : Stability and quality of non-cholesterol, low-fat mayonnaise emulsions with inulin .....	346
<i>Aleksandra Graszkiwicz, Małgorzata Kaźmierska, Joanna Niedbalska</i> : The effect with mineral-humane preparations and antioxidants addition to feed on the activity of lysozyme and cystatin in egg white .....	360
<i>Agnieszka Latoch</i> : Sonication influence on myofibrillar gels properties during beef ageing .....	367

---

<i>Anna Michalska, Henryk Zieliński, Maria Soral-Śmietana, Karolina Stempińska</i> : Total phenolics content and antioxidant capacity of rye products after simulated <i>in vitro</i> pH changes in gastrointestinal tract and enzymatic digestion <i>in vitro</i> .....	374
<i>Ewa Żary-Sikorska, Jerzy Juśkiewicz</i> : The effect exerted by fructans with a different polymerization degree of carbohydrate chain on fermentative processes in the end segment of the alimentary tract in experimental rats.....	385
<i>Monika Tworko, Aleksandra Markucińska, Anna Węgrzynek</i> : Application of bioluminescence ATP for level of hygiene estimation at homes.....	392
<i>Grażyna Morkis</i> : Food Problems in Polish and EU Legislation .....	400
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Dagmara Mierzejewska</i> : Food Science Lexicon – Contemporary Terms .....	402
<i>Stanisław Popiek</i> : Book Reviews .....	404
<i>Bartosz Sołowiej</i> : 12th Session of Young Research Personnel of the Polish Society of Food Technologists – Quality and Healthful Features of Food.....	406
<b>The Food Technologist</b> .....	<b>409</b>