



ŻYWNOŚĆ

Nauka
Technologia
Jakość

Nr 5 (60)

Kraków 2008

Rok 15

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: wnpttz@wp.pl; 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 2008

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

OD REDAKCJI

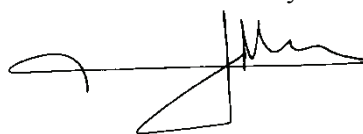
Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr 5 (60) naszego czasopisma, a w nim obok stałych działów, przede wszystkim wiele interesujących i wartościowych artykułów z różnych ośrodków naukowych w kraju. W numerze tym opublikowane są artykuły będące pokłosiem Sesji Naukowej Młodej Kadry Naukowej PTTŻ. Wszystkie publikowane artykuły są po wnikliwej recenzji specjalistów z danej dziedziny.

Powtarzamy apel do naszych Autorów: cytujmy autorów publikujących w „ŻYWNOSCI” w artykułach kierowanych do czasopism zagranicznych! To jest szansa na otrzymanie wyższej punktacji. Zwracajmy także większą uwagę na cytowanie wcześniej opublikowanych artykułów w „ŻYWNOSCI”, w nadsyłanych do redakcji artykułach. Cytowanie wcześniej opublikowanych artykułów wiążących się tematycznie z nadsyłanymi pracami będzie warunkiem przyjęcia pracy do publikacji.

Kraków, listopad 2008 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora



Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Wydział Nauk o Żywności
**Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych
i Zarządzania Jakością**

ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław

tel. 071 3205 121, fax: 071 3205 140, e-mail: ktsz@wnoz.up.wroc.pl, <http://wnoz.up.wroc.pl/wnoz/ktsz>

zapraszają na

IV Międzynarodową Konferencję z cyklu:

**”QUALITY AND SAFETY IN FOOD PRODUCTION CHAIN”
„JAKOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO ZDROWOTNE W ŁAŃCUCHU
PRODUKCJI ŻYWNOSCI”**

Konferencja odbędzie się we Wrocławiu w dniach 24 - 25 września 2009 r.

Tematyka Konferencji

1. Systemy bezpieczeństwa w łańcuchu produkcji żywności
2. Metody analityczne w żywności
3. Nowe technologie w doskonaleniu żywności tradycyjnej i funkcjonalnej
4. Utrwalanie żywności i systemy opakowań
6. Systemy edukacyjne w budowaniu świadomości i zachowań konsumentów

Szczegółowe informacje publikujemy na stronie internetowej

<http://wnoz.up.wroc.pl/wnoz/ktsz> .

Adres do korespondencji:

Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością

ul. C. K. Norwida 25;50-375 Wrocław

tel./fax 071 3205140; e-mail: ktsz@wnoz.up.wroc.pl

www.up.wroc.pl

Serdecznie zapraszamy

Sekretarz Konferencji
dr hab. Grażyna Krasnowska, prof. UP
dr inż. Małgorzata Korzeniowska

Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego
Prof. dr hab. Tadeusz Trziszka

SPIS TREŚCI

Od redakcji.....	3
PAULINA KRYSIŃSKA, DOROTA GAŁKOWSKA, TERESA FORTUNA: Charakterystyka układów skrobi modyfikowanych uzyskanych z kukurydzy woskowej	9
AGATA WOJCIECHOWICZ, ZYGMUNT GIL, MAŁGORZATA KAPELKO, TOMASZ ZIĘBA: Wpływ dodatku skrobi opornej na właściwości ciasta i jakość pieczywa pszennego	24
ANNA OSTASIEWICZ, ALICJA CEGLIŃSKA, SYLWIA SKOWRONEK: Wpływ warunków prowadzenia zakwasu na jakość pieczywa żytniego	34
PRZEMYSŁAW KRAWCZYK, ALICJA CEGLIŃSKA, JULITA KARDIALIK: Porównanie wartości technologicznej ziarna orkisz z pszenicą zwyczajną	43
KAROLINA CHRISTA, MARIA SORAL-ŚMIETANA: Wpływ procesu prażenia na dostępność enzymatyczną białek ziarniaków gryki zwyczajnej (<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench)	52
KRZYSZTOF DZIEDZIC, DANUTA GÓRECKA, AGNIESZKA DROŻDŻYŃSKA, KATARZYNA CZACZYK: Wpływ procesu otrzymywania kaszy gryczanej prażonej na zawartość wybranych składników odżywczych	63
KINGA STUPER, JULIUSZ PERKOWSKI: Zawartość ergosterolu w zbożowych produktach spożywczych.....	71
AGNIESZKA ZEMBOLD-GUŁA, JÓZEF BŁAŻEWICZ, KATARZYNA WOJEWÓDZKA: Związki białkowe w brzeczках piwnych wytwarzanych z dodatkiem nieoplewionego ziarna jęczmienia	78
PATRYCJA KŁOS, ANNA ŁOZA, ELEONORA LAMPART-SZCZAPA, JACEK KARCZEWSKI: Ocena lektynopodobnych właściwości globulin z nasion łubinu wąskolistnego (<i>Lupinus angustifolius</i> , odm. Baron)	86
MAGDALENA GRUDZIŃSKA, KAZIMIERA ZGÓRSKA: Wpływ warunków meteorologicznych na zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka	98
MAGDALENA GRUDZIŃSKA, KAZIMIERA ZGÓRSKA: Wpływ zawartości cukrów w bulwach ziemniaka na barwę chipsów	107
AGATA PEKOSŁAWSKA, ANDRZEJ LENART: Wpływ stężenia i temperatury syropu skrobiowego na przebieg odwadniania osmotycznego dyni	116
DOROTA ZIELIŃSKA, DANUTA KOŁOŻYŃ - KRAJEWSKA, ANTONI GORYL: Modele przeżywalności bakterii potencjalnie probiotycznych <i>Lactobacillus Casei</i> KN291 w fermentowanym napoju sojowym.....	126

JOANNA KOLNIAK: Wpływ sposobu zamrażania, rozmrażania oraz dodatków kriochronnych na zawartość polifenoli ogółem, antocyjanów i pojemność przeciwutleniającą mrożonek truskawkowych	135
STANISŁAW KALISZ: Wpływ sposobu otrzymywania soków truskawkowych na zawartość antocyjanów i barwę	149
ANDRZEJ GASIK, MARTA MITEK, STANISŁAW KALISZ: Wpływ procesu maceracji oraz warunków przechowywania na aktywność przeciwutleniającą i zawartość wybranych składników w soku z owoców derenia (<i>Cornus mas</i>)	161
MAŁGORZATA PRZYBYT, JOANNA BIERNASIAK: Zastosowanie biosensorów do oznaczania mleczanów w owocowych sokach komercyjnych i koncentratkach	168
KAROLINA LENTAS, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Wpływ wstępnego nasycania jonami wapnia na wybrane właściwości suszu jabłkowego	178
DOROTA ZARĘBA: Przeżywalność probiotycznego szczepu <i>Lactobacillus acidophilus</i> w mleku niefermentowanym i fermentowanym	189
DOROTA ZARĘBA, MAŁGORZATA ZIARNO, BEATA STRZELCZYK: Przeżywalność bakterii fermentacji mlekowej w warunkach modelowych jelita cienkiego ...	197
EMILIA JANISZEWSKA, DARIUSZ CUPIAŁ, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Wpływ parametrów suszenia rozpyłowego na jakość hydrolizatu białkowego	206
MACIEJ NASTAJ, WALDEMAR GUSTAW: Wpływ wybranych prebiotyków na właściwości reologiczne jogurtu stałego	217
BARTOSZ SOŁOWIEJ, WALDEMAR GUSTAW, MACIEJ NASTAJ: Wpływ dodatku koncentratów białek serwatkowych na właściwości reologiczne analogów serów topionych	226
JUSTYNA GROMADZKA, WALDEMAR WARDENCKI: Dobór optymalnych parametrów metody UV-HS-SPME/GC/FID do oceny stabilności oksydacyjnej olejów roślinnych.....	235
KATARZYNA JĘDRZEJKIEWICZ, KRZYSZTOF KRYGIER: Zastosowanie gazów inertnych do poprawy stabilności oksydacyjnej oleju rybiego, rzepakowego i ich mieszaniny	248
MAGDALENA KOSTECKA: Charakterystyka mieszaniny tłuszczu drobiowego z olejem rzepakowym przed i po przeestryfikowaniu enzymatycznym	257
MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ, BOLESŁAW KOWALSKI: Wpływ aktywności wody na stabilność hydrolityczną i oksydacyjną tłuszczu wyekstrahowanego z ziaren kukurydzy.....	273
MAŁGORZATA KARWOWSKA: Wpływ zastosowania ekstraktu lucerny w żywieniu świń na barwę mięsa	282
JOANNA STADNIK: Wpływ sonikacji wieprzowego mięsa PSE na zmiany powierzchni hydrofobowej białek miofibrylarnych	289

JOLANTA KRZYCZKOWSKA, IZABELA STOLARZEWICZ, DOMINIKA BELLOK, MAŁGORZATA BELLOK, EWA BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK: Wpływ modyfikacji pożywki na biokatalityczne właściwości drożdży	299
ALICJA KOŚMIDER, KAMIŁA MYSZKA, KATARZYNA CZACZYK: Ograniczona dostępność składników odżywczych w środowisku jako induktor wzrostu oporności drobnoustrojów na czynniki antymikrobiologiczne	307
IWONA NAMYSŁAW, EWA CZARNIECKA-SKUBINA, INGRID WACHOWICZ: Ocena prawidłowości przygotowania potraw z warzyw i ziemniaków w warunkach domowych.....	319
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	335
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Współczesny leksykon wiedzy o żywności	336
STANISŁAW POPEK: Nowe książki.....	338
Technolog Żywności	341



**Polskie Towarzystwo Technologów Żywności
Sekcja Młodej Kadry Naukowej**

**Akademia Morska w Gdyni
Wydział Przedsiębiorczości
i Towaroznawstwa**

**Polskie Towarzystwo Technologów Żywności
Oddział Gdański**

zapraszają na

XIV Sesję Naukową SMKN PTTŻ

**„Jakość i bezpieczeństwo żywności –wyzwanie
XXI wieku”**

Gdynia, 21-22 maja 2009

Kontakt: dr Anita Kukułowicz

tel.: (058) 69 01 674

e-mail: smkn@am.gdynia.pl

Informacje dotyczące Sesji znajdują się na stronie internetowej:

<http://wpit.am.gdynia.pl>

PAULINA KRYSIŃSKA, DOROTA GAŁKOWSKA, TERESA FORTUNA

CHARAKTERYSTYKA UKŁADÓW SKROBI MODYFIKOWANYCH UZYSKANYCH Z KUKURYDZY WOSKOWEJ

Streszczenie

Celem niniejszej pracy była ocena wybranych właściwości fizykochemicznych skrobi modyfikowanych z kukurydzy woskowej badanych oddzielnie, a także w układach mieszanin.

Do badań użyto preparatów skrobi kukurydzy woskowej: Clearam, Pregeflo, C*Tex, a także mieszaniny tych skrobi w stosunku 1:1. Skrobie oraz ich mieszaniny przebadano pod względem właściwości fizykochemicznych. Oznaczono rozpuszczalność w wodzie i zdolność wiązania wody w temperaturze 20, 60 i 80 °C, stopień retrogradacji oraz synerezy. Wyznaczono również charakterystykę kleikowania 7 % wodnych dyspersji skrobiowych, a także przeprowadzono badania właściwości reologicznych 5 % kleików skrobiowych w reometrze rotacyjnym, stosując współosiowe cylindry jako element pomiarowy. Wykreślono krzywe płynięcia, które opisano modelami Herschel-Bulkleya oraz Ostwalda de Waele'a, wyznaczono pole powierzchni histerezy tiksotropii, a także oszacowano stopień odbudowy struktury badanych kleików skrobiowych.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że analizowane skrobie różniły się między sobą właściwościami fizykochemicznymi. Największą zdolność wiązania wody wykazywała skrobia Clearam, a najmniejszą skrobia – C*Tex. Z kolei największą rozpuszczalnością w wodzie charakteryzował się preparat Pregeflo, a najmniejszą - skrobia Clearam. Spośród badanych układów, mieszanina skrobi Clearam i C*Tex rozpuszczała się w wodzie najłatwiej. Wszystkie badane preparaty i ich układy uzyskiwały maksymalne wartości zdolności wiązania wody i rozpuszczalności w wodzie dopiero w temperaturze 80 °C. Analizowane żele wykazywały bardzo dobrą stabilność podczas przechowywania w temperaturze 6 °C. W badanym okresie przechowywania żeli nie zaobserwowano zjawiska retrogradacji oraz nie stwierdzono objawów synerezy. Zaobserwowano znaczne różnice charakterystyki kleikowania badanych preparatów. Skrobia Pregeflo kleikowała już w temperaturze 25 °C. Niską temperaturę kleikowania oraz niską temperaturę przy maksimum lepkości wykazał także preparat Clearam. Skrobia Clearam wykazała ponad dwukrotnie większą lepkość maksymalną w porównaniu z pozostałymi preparatami. Wszystkie skrobie charakteryzowały się bardzo dobrą odpornością na ogrzewanie. Po ochłodzeniu uzyskiwały lepkość równą lub większą od wartości maksymalnej. Kleiki badanych skrobi wykazywały właściwości płynów nieniutonowskich rozrzedzanych ścinaniem, granicę płynięcia oraz zjawisko tiksotropii. Stwierdzono występowanie interakcji w układach skrobi Clearam i C*Tex oraz Clearam i Pregeflo, które objawiały się powstaniem struktury bardziej odpornej na ścinanie. Stopień odbudowy struktury wszystkich kleików skrobiowych wynosił od 70,1 % (w przypadku preparatu Pregeflo) do 96,2 % (skrobia C*Tex).

Mgr inż. P. Krysińska, dr inż. D. Gałkowska, prof. dr hab. T. Fortuna, Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

Słowa kluczowe: skrobia kukurydzy woskowej, skrobia modyfikowana chemicznie, właściwości fizykochemiczne

Wprowadzenie

Skrobia jest bardzo ważnym, szeroko dostępnym i stosunkowo tanim składnikiem pożywienia człowieka. Wykorzystywana jest głównie jako środek zagęszczający, stabilizujący i teksturotwórczy w produkcji spożywczej. Otrzymuje się ją przede wszystkim z kukurydzy, kukurydzy woskowej, tapioki, ziemniaków, a także pszenicy i ryżu [26, 30]. Często wykorzystuje się skrobię w naturalnej postaci, jednak z uwagi na jej ograniczoną stabilność reologiczną poddaje się ją różnorodnym modyfikacjom, otrzymując preparaty skrobi modyfikowanych [7, 22, 27]. Dzięki zastosowaniu tych skrobi do produkcji żywności można uzyskać szeroką listę produktów spożywczych, których właściwości reologiczne oraz sensoryczne zależą od zastosowanego preparatu skrobiowego. Skrobie najczęściej modyfikuje się metodami chemicznymi, fizycznymi, enzymatycznymi oraz ich kombinacjami. Modyfikacje chemiczne obejmują głównie sieciowanie i stabilizowanie. Proces sieciowania skrobi polega na wprowadzeniu do struktury chemicznej skrobi dodatkowych usztywniających ją wiązań poprzecznych, pochodzących od reagentów takich, jak kwas adypinowy czy trimetafosforan sodu [26, 30, 31]. Tak powstałe kleiki mają strukturę bardziej odporną na warunki termiczne, siły ścinające czy niskie pH. Z kolei proces stabilizacji polega na wprowadzeniu do struktury skrobi podstawników, np. grup estrowych, które uniemożliwiają bliskie i równoległe ułożenie łańcuchów skrobiowych. Dzięki temu zabiegowi otrzymane skrobie charakteryzują się doskonałą odpornością na retrogradację i synerezę w fazie chłodzenia oraz w procesie zamrażania i rozmrażania kleiku, obniżoną temperaturą kleikowania oraz zwiększoną lepkością kleików, a także dużą ich przejrzystością [17, 19, 23, 31].

Do najczęściej stosowanych w przemyśle spożywczym preparatów skrobi modyfikowanych chemicznie zalicza się acetylowany adypinian diskrobiowy (E 1422) oraz hydroksypropylowany fosforan diskrobiowy (E 1442). Powyższe skrobie, w zależności od stopnia podstawienia, charakteryzują się zróżnicowanymi właściwościami, np. jedne rozpuszczają się w zimnej wodzie, inne wymagają do tego celu podgrzania, niektóre mają dużą odporność na wysoką temperaturę (powyżej 100 °C) inne tej odporności nie wykazują [5, 13, 14, 15, 31].

Hydroksypropyloskrobie stosowane są głównie do poprawy tekstury makaronów i nadzień owocowych do ciast, a także jako zagęstnik produktów spożywczych [14]. Mogą także zastępować droższą pektynę i mączkę chleba świętojańskiego w produkcji przetworów mlecznych z owocami [5]. Skrobie acetylowane natomiast świetnie sprawdzają się do otrzymywania produktów mrożonych, do produkcji makaronów

tradycyjnych oraz produktów typu instant [23, 30]. Skrobie podwójnie modyfikowane przez sieciowanie i stabilizowanie (hydroksypropylowany fosforan diskrobiowy, acetylowany adypinian diskrobiowy) mają wyjątkowe właściwości. Zapewniają stabilność w kwaśnym środowisku, są odporne na wysoką temperaturę oraz mechaniczne niszczenie, wolniej retrogradują podczas przechowywania produktów spożywczych. Są powszechnie stosowane w sosach sałatkowych, konserwach owocowych, warzywnych i mięsnych oraz do produktów mrożonych i deserów mlecznych. Stosuje się je także w przemyśle ciastkarskim do nadzień, a także do pieczywa oraz wielu dań gotowych [14, 21, 22, 26].

Właściwości kleików skrobiowych zależą zarówno od rodzaju i stopnia podstawienia grupami funkcyjnymi, jak i od pochodzenia botanicznego skrobi. Skrobia kukurydzy woskowej zbudowana jest głównie z mocno rozgałęzionej amylopektyny, z tego względu charakteryzuje się niską podatnością na retrogradację i synerzę [16, 28].

Istnieje szereg doniesień dotyczących wpływu wybranych hydrokoloidów polisacharydowych na kleiki skrobiowe w celu określenia synergistycznego bądź antagonistycznego działania pomiędzy tymi składnikami [1, 6, 12, 24, 25]. Brakuje natomiast informacji na temat interakcji pomiędzy układami dwóch różnych skrobi.

Celem niniejszej pracy była ocena wybranych właściwości fizykochemicznych skrobi modyfikowanych otrzymanych z kukurydzy woskowej, badanych oddzielnie oraz w układach mieszanin z innymi skrobiami z kukurydzy woskowej w stosunku 1:1.

Materiał metody badań

Materiał badawczy stanowiły następujące handlowe preparaty skrobi kukurydzianej woskowej: Clearam CR 0820 (hydroksypropylowany fosforan diskrobiowy – E 1442), wstępnie skleikowana, rozpuszczalna w zimnej wodzie – skrobia Pregeflo CH 20 (acetylowany adypinian diskrobiowy – E 1422) firmy Roquette oraz C*Tex 06214 (acetylowany adypinian diskrobiowy – E 1422) firmy Cerestar. W badaniach użyto także mieszanin powyższych skrobi w stosunku 1:1 (Clearam+Pregeflo, Clearam+C*Tex oraz Pregeflo+C*Tex).

Wykonywano następujące badania skrobi:

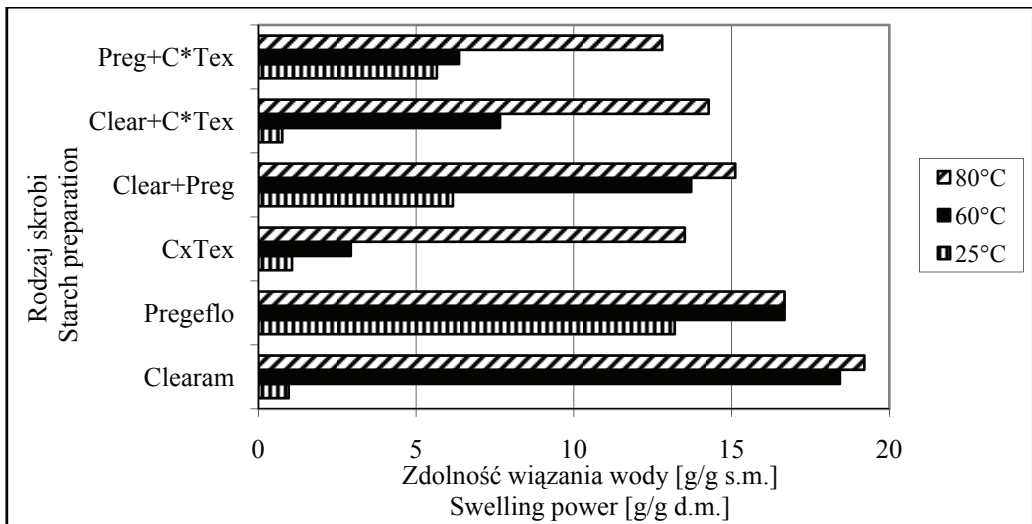
- zdolność wiązania wody [g/g s.m.] i rozpuszczalność w wodzie [%], w temp. 20, 60 i 80 °C metodą Leacha [20];
- stopień retrogradacji 2 % (m/m) wodnych dyspersji skrobiowych metodą turbidymetryczną wg Jacobson i wsp. [10];
- stopień synerzy wodnych dyspersji skrobiowych wg Kaur i wsp. [11] z niewielką modyfikacją własną. Wodne 2 % (m/m) dyspersje skrobiowe ogrzewano do temp. 95 °C przez 30 min, następnie chłodzono do temp. pokojowej. Próbkę przechowywano w chłodziarce w temp. 6 °C, badając je w 1., 2., 3., 4., 7. i 9. dniu. Synerzę

- oznaczano jako procent wody wydzielonej z próbki podczas wirowania z prędkością 5400 obr./min przez 15 min;
- charakterystykę kleikowania 7 % (m/v) wodnych dyspersji skrobiowych przy użyciu Micro Visco-Amylo-Graphu (Brabender). Próbkę ogrzewano, ciągle mieszając z prędkością 75 obr./min od temp. 25 do 95 °C, następnie przetrzymywano ją w tej temperaturze przez 20 min, w dalszym etapie próbkę chłodzono do 50 °C i przetrzymywano w tej temperaturze również przez 20 min. Wzrost temperatury od 25 do 95 °C oraz jej spadek do 50 °C zachodził z prędkością 7,5 °C/min;
 - krzywe płynięcia badanych skrobi w temp. 50 °C – oznaczenie prowadzono w reometrze rotacyjnym Rheolab MC1 (Physica Meßtechnik GmbH, Niemcy), stosując jako element pomiarowy współosiowe cylindry (średnica zewnętrzna - 27,12 mm, średnica wewnętrzna - 25 mm). Kleiki skrobiowe o stężeniu 5 % (m/m) przygotowywano, mieszając próbki z prędkością 300 obr./min przez 30 min w temp. 95 °C. Następnie kleiki umieszczano w elemencie pomiarowym reometru, gdzie ulegały schłodzeniu do temperatury pomiaru. Krzywe płynięcia wyznaczano stosując następujący model: wzrost prędkości ścinania od 1 do 300 s⁻¹ w ciągu 10 min, następnie stała prędkość ścinania 300 s⁻¹ przez 2 min, a po tym czasie zmniejszenie prędkości ścinania od 300 do 1 s⁻¹ również w ciągu 10 min. Otrzymane krzywe płynięcia opisano modelem Herschel-Bulkleya oraz Ostwalda de Waele'a oraz wyznaczono pole powierzchni pętli histerezy tiksotropii;
 - test na oznaczenie zdolności do odbudowy struktury w czasie prowadzono w reometrze rotacyjnym Rheolab MC1 według metodyki Achayuthakan i Suphantharika [1], z niewielką modyfikacją własną. Kleiki skrobiowe o stężeniu 5 % (m/m) poddawano działaniu stałej prędkości ścinania 1 s⁻¹ przez 3 min (etap pierwszy), następnie stosowano silne ścinanie z prędkością 500 s⁻¹ również przez 3 min (etap drugi), na koniec obserwowano zdolność odbudowy zniszczonej struktury kleików w ciągu 10 min, stosując stałe ścinanie z prędkością 1 s⁻¹ (etap trzeci). Stopień odbudowy struktury wyrażano w procentach, jako stosunek lepkości pozornej zmierzonej podczas ostatnich 90 s etapu trzeciego do wartości lepkości w pierwszych 90 s etapu pierwszego.

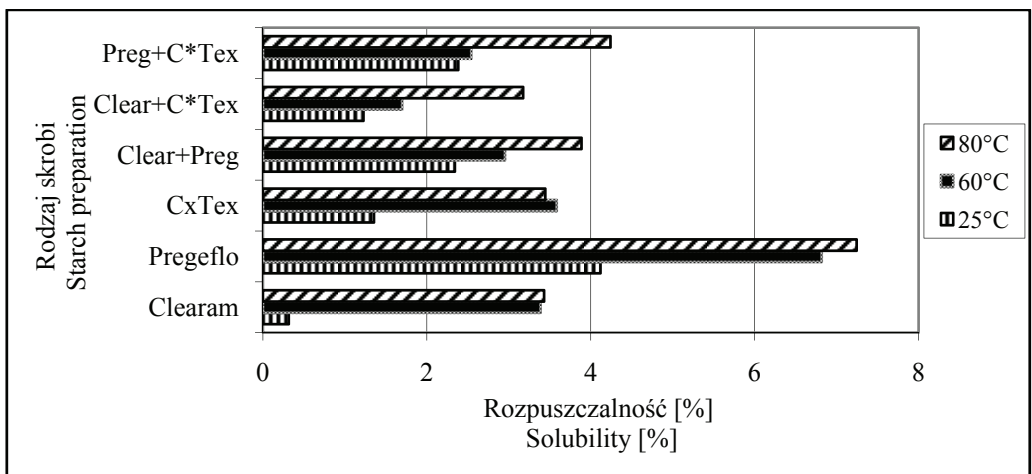
Wyniki i dyskusja

Na rys. 1. i 2. zamieszczono wyniki pomiarów zdolności wiązania wody i rozpuszczalności w wodzie badanych skrobi w temp. 20, 60 i 80 °C. Zdolność wiązania wody przez skrobie i ich mieszaniny różniła się znacznie. Największą zdolnością wiązania wody charakteryzowała się skrobia Clearam [E 1442]. Grupy hydroksypropylo- we (z natury hydrofilowe), po wprowadzeniu do granulek skrobiowych, rozluźniają ich wewnętrzną strukturę zwiększając zdolność wiązania wody przez te skrobie [15, 17].

Nieznacznie mniejszą zdolność wiązania wody niż skrobia Clearam [E 1442] wykazywał preparat Pregeflo [E 1422]. Pozostałe preparaty wiązały wodę w znacznym stopniu dopiero w temperaturze 80 °C.



Rys. 1. Charakterystyka zdolności wiązania wody przez skrobie modyfikowane z kukurydzy woskowej.
 Fig. 1. Profile of swelling power of waxy maize modified starches.

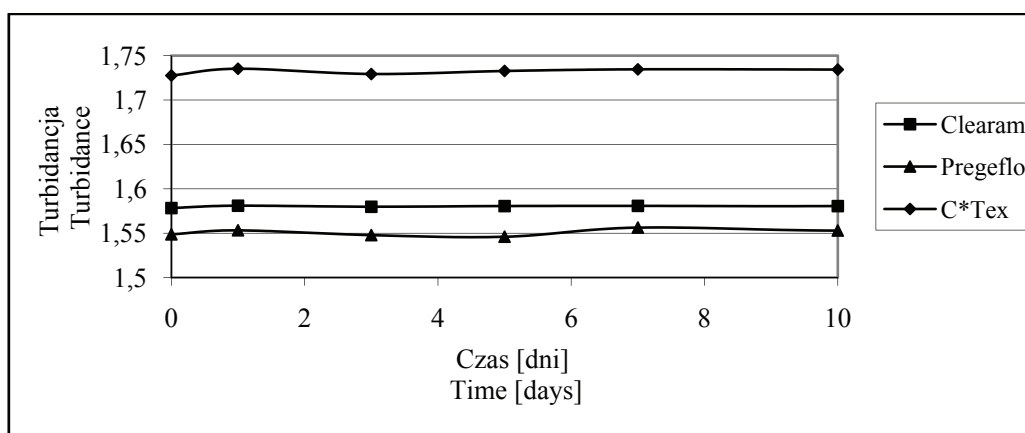


Rys. 2. Rozpuszczalność w wodzie skrobi modyfikowanych z kukurydzy woskowej.
 Fig. 2. Solubility in water of waxy maize modified starches.

Okolo dwukrotnie wyższą rozpuszczalność w stosunku do pozostałych skrobi wykazywał preparat Pregeflo [E 1422] (rys. 2). Jest to skrobia typu „instant”, która poprzez wstępne kleikowanie uzyskała zdolność rozpuszczania (pęcznienia) na zimno. Maksymalną rozpuszczalność skrobia ta osiągała w temp. 80 °C. Najmniejszą rozpuszczalność miały skrobie Clearam [E 1442] oraz C*Tex [E 1422] oraz mieszanina tych dwóch skrobi. Uzyskane wyniki świadczą o stabilności tych skrobi i odporności na oddziaływanie z cząsteczkami wody na skutek ogrzewania. Powyższe zachowanie skrobi znajduje potwierdzenie w danych literaturowych [5, 11, 15].

Fizykochemiczne właściwości skrobi, takie jak rozpuszczalność oraz zdolność wiązania wody, ściśle zależą od rodzaju i stopnia modyfikacji chemicznej. Proces hydroksypropylacji powoduje wzrost hydrofilowości, a co za tym idzie zwiększenie powinowactwa skrobi do wody, podczas gdy sieciowanie (w zależności od rodzaju czynnika sieciującego i stopnia sieciowania) zmniejsza zwykle tę właściwość. Przy bardzo wysokim stopniu usieciowania skrobia staje się całkowicie nierozpuszczalna [9, 15, 17, 26].

Na rys. 3. zamieszczono dane dotyczące retrogradacji badanych preparatów. Retrogradacja skrobi w zastosowaniu spożywczym jest zjawiskiem niepożądanym, ponieważ powoduje niekorzystne zmiany tekstury i konsystencji produktów.



Rys. 3. Retrogradacja 2 % (m/m) kleików podczas przechowywania w temperaturze 6 °C.

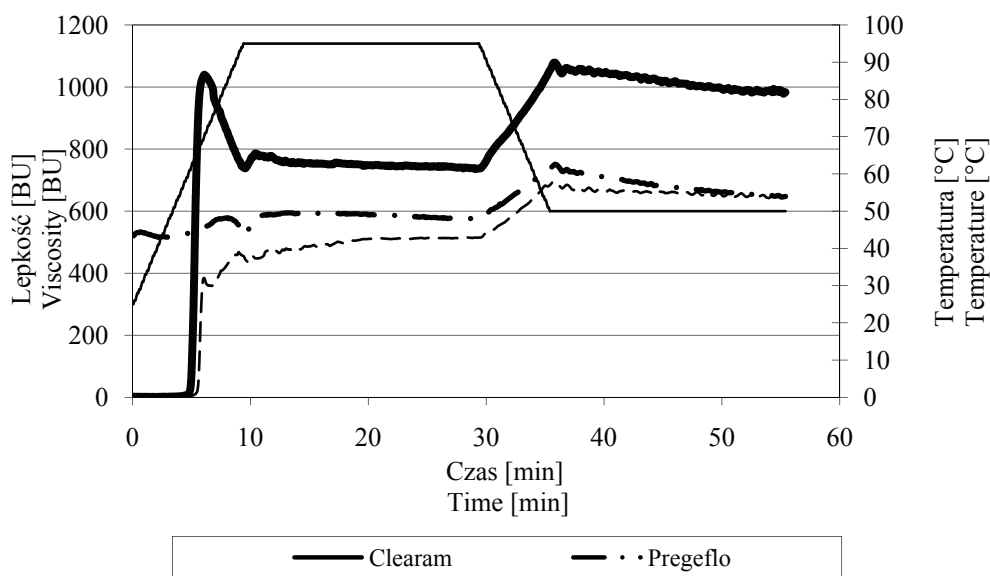
Fig. 3. Retrogradation of 2 % (w/w) starch pastes during storage at 6 °C.

Retrogradacja żelu zachodzi najsilniej i najszybciej w niskiej temperaturze (lecz powyżej temperatury zamrażania) oraz w skrobiach z dużą zawartością nierozpuszczalnej amylozy, która ulega wytrąceniu z roztworu już po kilku godzinach przechowywania chłodniczego. Kleiki i żele mętnieją, maleje ich lepkość, a na powierzchni żelu pojawia się niezwiązana woda. Skrobie z kukurydzy woskowej zawierają głównie

amylopektynę, która również, choć dużo wolniej, wpływa na wzrost sztywności starzejącego się żelu [3, 13, 27].

Badane żele skrobi acetylowanych i hydroksypropylowanych z kukurydzy woskowej praktycznie nie wykazały retrogradacji w trakcie 21 dni przechowywania w temp. 6°C, co znajduje potwierdzenie w danych literaturowych [9, 11, 15, 17, 28]. Żele skrobiowe nie wykazały również zjawiska synerezy podczas ich dziewięciodniowego przechowywania chłodniczego. Podstawienie grup hydroksylowych grupami acetylowymi i hydroksypropylowymi powoduje powstanie uporządkowanej struktury, która uniemożliwia równoległe i bliskie ustawienie się łańcuchów skrobiowych. Zawartość tych grup przyczynia się ponadto do zatrzymywania wody w cząsteczkach skrobi i opóźnienia krystalizacji amylopektyny. Dzięki tym zabiegom ogranicza się proces retrogradacji i wynikającą z niego synerezę [17, 21, 26, 28].

Przebieg krzywych kleikowania badanych preparatów skrobi kukurydzy woskowej przedstawiono na rys. 4., a parametry tego procesu zestawiono w tab. 1.



Rys. 4. Krzywe kleikowania 7 % wodnych dyspersji skrobi modyfikowanych.

Fig. 4. Pasting curves of 7 % water dispersion of modified starches.

Preparat Pregeflo [E 1422] kleikował już w temp. 25 °C. Proces ogrzewania w temp. 95 °C przez 20 min, a następnie chłodzenie tego kleiku do temp. 50 °C wywołało dalszy wzrost jego lepkości (η), która nieznacznie zmniejszyła się przy przetrzymywaniu kleiku w tej temp. przez 20 min. Świadczy to o bardzo dobrej stabilności

Tabela 1

Parametry modeli reologicznych opisujących krzywe płynięcia kleików modyfikowanych skrobi z kukurydzy woskowej oraz ich mieszanin.

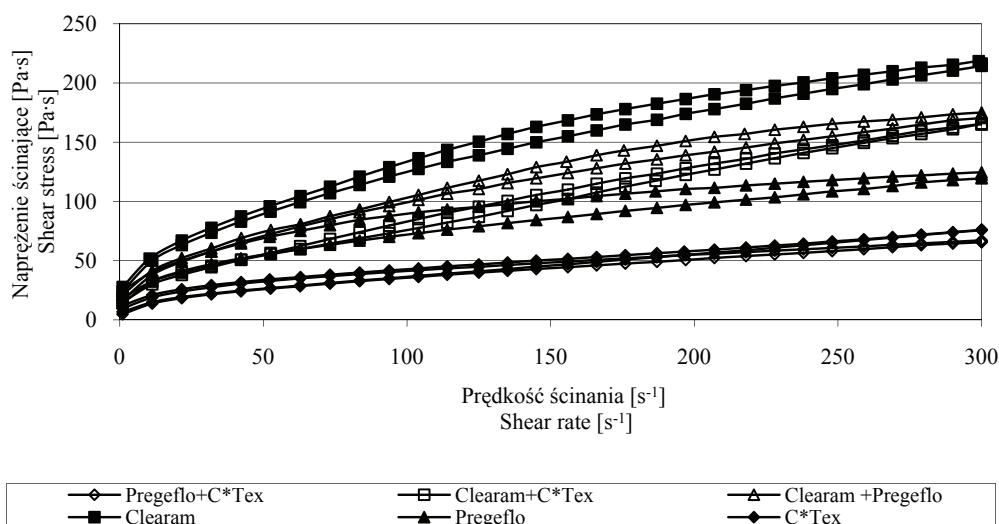
Parameters of rheological models describing flow curves of modified starch pastes of waxy maize and of their systems.

Nazwa preparatu Name of starch preparation	Model Herschel-Bulkleya Herschel-Bulkley model				Model Ostwalda de Waele'a Ostwald de Waele model			
	τ_0 [Pa]	K [Pa·s ⁿ]	n	R ²	H.A. [Pa/s·ml]	K [Pa·s ⁿ]	n	R ²
Clearam	18,58	9,07	0,55	0,9979	152,60	21,88	0,40	0,9924
Pregeflo	2,60	13,83	0,35	0,9998	153,99	15,95	0,33	0,9995
C*Tex	9,64	2,89	0,54	0,9952	74,60	9,67	0,34	0,9738
Clearam+Pregeflo	14,97	6,29	0,58	0,9974	123,99	16,37	0,41	0,9894
Clearam+C*Tex	17,83	1,79	0,77	0,9977	-68,62	11,91	0,44	0,9552
Pregeflo+C*Tex	5,90	4,33	0,47	0,9989	74,01	8,70	0,35	0,9909
NIR _{0,05} LSD _{0,05}	2,84	1,63	0,06	-	45,03	1,59	0,01	-

preparatu Pregeflo na działanie wysokiej temperatury. Niską temperaturę kleikowania oraz temperaturę przy maksimum lepkości wykazał preparat Clearam (E 1442). Parametry kleikowania tej skrobi mieściły się w zakresie danych literaturowych dotyczących skrobi hydroksypropylowanych [4, 14, 15, 17]. Stwierdzono obniżenie wartości tych temperatur w stosunku do naturalnej skrobi z kukurydzy woskowej. Skrobia Clearam wykazała ponad dwukrotnie wyższą lepkość maksymalną w porównaniu z pozostałymi badanymi preparatami. Lepkość obniżyła się o około 30 % w temp. 95 °C, lecz podczas ogrzewania skrobi przez 20 min w tej temperaturze nie stwierdzono dalszych zmian lepkości. W fazie chłodzenia skrobia odzyskała natychmiast swoją maksymalną lepkość, co świadczy o dużej stabilności tego preparatu pod wpływem silnego ogrzewania. Z kolei preparat C*Tex [E 1422] wykazywał wartość lepkości maksymalnej zbliżoną do tej, którą uzyskał preparat Pregeflo [E 1422]. Lepkość skrobi C*Tex zmniejszyła się w temp. 95°C w małym stopniu, a następnie wzrosła nieznacznie podczas przetrzymywania w tej temperaturze przez 20 min. Wartość lepkości wykazała dalszą tendencję wzrostową w czasie dwudziestominutowego przetrzymywania kleiku w temp. 50 °C i ostatecznie osiągnęła poziom lepkości preparatu Pregeflo. Temperatura kleikowania tej skrobi była typowa dla acetylowanego adypinianu diskrobiowego, a także dla skrobi natywnych, co znajduje potwierdzenie w literaturze [2, 4, 5].

Wszystkie badane skrobie należą do skrobi sieciowanych i stabilizowanych, stąd wynika ich duża odporność na silne ogrzewanie oraz na siły mechaniczne towarzyszące temu procesowi. Pozwala to na szerokie zastosowanie tych skrobi w procesach cieplnych, np. pasteryzacji.

Krzywe płynięcia badanych preparatów skrobiowych i ich układów przedstawiono na rys. 5. Zarówno przebieg krzywych kleikowania, jak i parametry zastosowanych modeli reologicznych (tab. 1) świadczą, że w zakresie analizowanych prędkości ścinania badane preparaty różniły się pomiędzy sobą. Wszystkie skrobie wykazywały charakter cieczy nieniutonowskich rozrzedzanych ścinaniem, granicę płynięcia oraz zjawisko tiksotropii.



Rys. 5. Krzywe płynięcia 5 % kleików skrobi modyfikowanych kukurydzy woskowej.

Fig. 5. Flow curves of 5 % pastes of modified waxy maize starches.

Kleiki preparatów skrobi kukurydzy woskowej wykazywały zjawisko tiksotropii. Największym polem powierzchni pętli histerezy (H.A.) charakteryzowały się kleiki skrobi Clearam [E 1442] oraz Pregeflo [E 1422], a także mieszanina powyższych skrobi. Właściwość tę skrobie zawdzięczały swojej strukturze stabilizowanej przez dodatkowe wiązania sieciujące, które wpływają na wzrost oporności układu podczas ścinania [2, 32]. Kleik skrobi C*Tex (E 1422) miał podobną wartość pola powierzchni histerezy, jak otrzymany z kombinacji skrobi Pregeflo i C*Tex. Układ skrobi Clearam i C*Tex wykazywał zjawisko przeciwne do tiksotropii i w zakresie naprężeń od około 50 do 165 Pa przyjmował ujemną wartość pola powierzchni histerezy tiksotropii – w konsekwencji obserwowano zagęszczanie ścinaniem. Antytiksotropowy charakter

modyfikowanych preparatów skrobi kukurydzy woskowej jest zjawiskiem częstym w kleikach skrobiowych i jest szeroko opisany w literaturze [8, 25, 28, 29].

Przedstawione w tab. 1. współczynniki determinacji R^2 świadczą o dobrym dopasowaniu obydwu modeli do wyników pomiaru, przy czym nieznacznie lepszym współczynnikiem determinacji charakteryzował się model Herschel-Bulkleya.

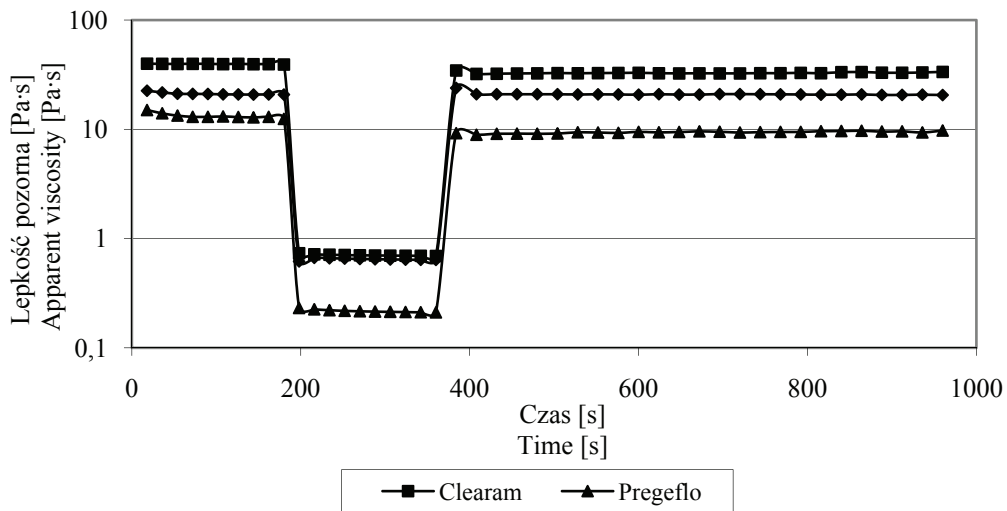
Najwyższymi wartościami granicy płynięcia (τ_0) w analizowanym zakresie prędkości ścinania charakteryzował się kleik otrzymany z preparatu Clearam (E 1442) oraz konfiguracji tej skrobi ze skrobią C*Tex (E 1422) oraz Pregeflo (E 1422). Wystąpiły tu wyraźne interakcje pomiędzy tymi preparatami prowadzące do powstania bardziej odpornej na ścinanie struktury skrobi w układach mieszanin niż badanych oddzielnie. Sieciowanie skrobi przez wprowadzenie tlenu propylenu wpływa na wzrost granicy płynięcia, a co za tym idzie na zwiększenie stabilności na siły mechaniczne oraz ogrzewanie [26].

W modelu Herschel-Bulkleya największą wartością współczynnika konsystencji K (który jest miarą lepkości skrobi) charakteryzowały się kleiki skrobi Pregeflo oraz Clearam. Pozostałe kleiki wykazywały kilkukrotnie niższe wartości tego współczynnika, co świadczy o ich mniejszej lepkości. Najwyższą wartością wskaźnika płynięcia (n) charakteryzował się układ skrobi Clearam i C*Tex (co świadczy, że mieszanina ta wykazywała dużą odporność na rozrzedzanie przez siły ścinające), a najniższą skrobia Pregeflo.

Test odbudowy struktury został wykonany w celu zbadania zdolności badanych skrobi oraz ich mieszanin do odzyskania pierwotnej struktury po jej uprzednim zniszczeniu. Obserwowano w jakim procencie nastąpiła odbudowa struktury próbek kleików skrobiowych w ciągu 10 min ścinania z prędkością 1 s^{-1} po wcześniejszym poddaniu próbek niszczącemu działaniu silnego ścinania z prędkością 500 s^{-1} . Na rys. 6. i 7. zilustrowano profil lepkości badanych próbek w funkcji czasu, natomiast procent odbudowy struktury, obliczony na podstawie pierwotnej lepkości, zamieszczono w tab. 2.

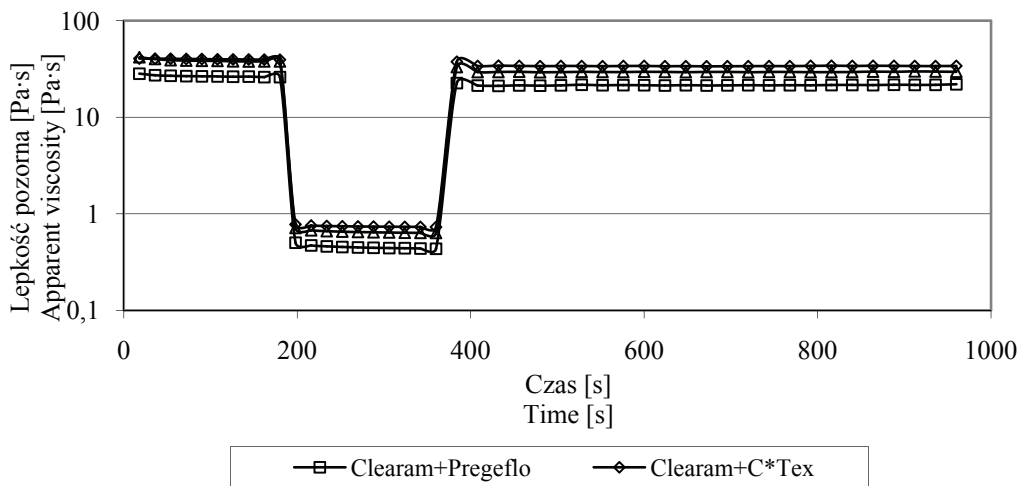
Analiza właściwości tiksotropowych badanych produktów przy zmiennej prędkości ścinania wykazała, że spośród analizowanych skrobi najszybciej strukturę odzyskał kleik skrobi C*Tex [E 1422]. Już po 10 min stałego ścinania z prędkością 1 s^{-1} kleik odbudował swoją strukturę aż w 96,2 %. Koreluje to ściśle z niewielkim polem powierzchni histerezy tiksotropii jaki wykazała ta skrobia (tab. 2). Skrobia C*Tex charakteryzowała się najbardziej sztywną i elastyczną strukturą w porównaniu z pozostałymi badanymi skrobiami. Znajduje to potwierdzenie w literaturze [1].

Drugą z kolei skrobią o dużej zdolności do odzyskiwania pierwotnej struktury była skrobia Clearam [E 1442], następnie mieszanina skrobi Clearam i Pregeflo oraz Clearam i C*Tex. Mieszanina skrobi Pregeflo i C*Tex wykazała nieznacznie mniejsze właściwości tiksotropowe, ale większe niż skrobia Pregeflo [E 1422] badana oddzielnie.



Rys. 7. Krzywe charakteryzujące zdolność odbudowy struktury skrobi modyfikowanych z kukurydzy woskowej w czasie.

Fig. 7. Curves characterizing the time-dependent reconstruction capacity of structure of modified waxy maize starches.



Rys. 8. Krzywe charakteryzujące zdolność odbudowy struktury układów skrobi modyfikowanych z kukurydzy woskowej.

Fig. 8. Curves characterizing the time-dependent reconstruction capacity of structure of modified waxy maize starch systems.

Tabela 2

Zdolność odbudowy struktury kleików skrobi modyfikowanych z kukurydzy woskowej, mierzonej w temp. 25 °C, determinowana rodzajem skrobi.

Kind of starch-depending reconstruction capacity of structure of modified waxy maize starch pastes measured at a temperature of 25 °C.

Nazwa skrobi Name of starch preparation	Procent odbudowy struktury kleików skrobiowych po czasie 10 min [%] The percentage of structural recovery for each starch paste after 10 minutes [%]
Clearam	83,5
Pregeflo	70,1
C*Tex	96,2
Clearam+Pregeflo	80,0
Clearam+C*Tex	83,9
Pregeflo+C*Tex	74,9

Wnioski

1. Największą zdolność wiązania wody wykazywała skrobia Clearam (hydroksypropylowany fosforan diskrobiowy – E 1442), a najmniejszą skrobia – C*Tex (acetylowany adypinian diskrobiowy – E 1422). Z kolei największą rozpuszczalnością w wodzie charakteryzował się pęczniący na zimno preparat Pregeflo (acetylowany adypinian diskrobiowy – E 1422), a najmniejszą - skrobia Clearam. Spośród badanych układów mieszanina skrobi Clearam i C*Tex rozpuszczała się w wodzie najslabiej. Wszystkie badane preparaty i układy mieszanin wykazywały maksymalną zdolność wiązania wody i rozpuszczalności w wodzie dopiero w temperaturze 80 °C.
2. Żele badanych skrobi wykazywały bardzo dobrą stabilność podczas przechowywania w temperaturze 6 °C. W badanym okresie nie zaobserwowano zjawiska retrogradacji oraz nie stwierdzono objawów synerezy.
3. Zaobserwowano duże różnice w charakterystyce kleikowania badanych kleików. Skrobia Pregeflo kleikowała już w temperaturze 25 °C. Niską temperaturę kleikowania oraz temperaturę przy maksimum lepkości wykazał także preparat Clearam. Skrobia Clearam wykazała ponad dwukrotnie większą maksymalną lepkość w porównaniu z pozostałymi preparatami. Wszystkie skrobie charakteryzowały się bardzo dobrą odpornością na ogrzewanie. Po ochłodzeniu uzyskiwały lepkość równą lub wyższą od wartości maksymalnej.
4. Kleiki badanych skrobi wykazywały właściwości płynów nieniuonowskich rozrzedzanych ścinaniem, granicę płynięcia oraz zjawisko tiksotropii.

5. Stwierdzono występowanie interakcji w układach skrobi Clearam i C*Tex oraz Clearam i Pregeflo, które objawiały się powstaniem struktury bardziej odpornej na ścinanie.
6. Stopień odbudowy struktury wszystkich kleików skrobiowych wynosił od 70,1 % (preparat Pregeflo) do 96,2 % (skrobia C*Tex).

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 – 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Achayuthakan P., Supphantharika M.: Pasting and rheological properties of waxy corn starch as affected by guar gum and xanthan gum. *Carbohydr. Polym.*, 2008, **71**, 9-17.
- [2] Fortuna T., Gałkowska D., Juszcak L.: Porównanie właściwości reologicznych wybranych preparatów skrobi modyfikowanej. *Acta Scientiarum Polonorum, Technol. Aliment.*, 2004, **3 (1)**, 21-32.
- [3] Fortuna T., Juszcak L.: Retrogradacja skrobi rozsegregowanych pod względem wielkości ziaren. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 1998, **342**, 31-39.
- [4] Fortuna T., Juszcak L.: Wybrane właściwości skrobi różnego pochodzenia. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 2000, **367**, 39-50.
- [5] Fortuna T., Juszcak L., Sobolewska J., Bury M.: Właściwości fizykochemiczne skrobi modyfikowanych firmy National Starch & Chemical. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 1999, **360**, 67-75.
- [6] Gibiński M., Kowalski S., Sady M., Krawontka J., Tomasik P., Sikora M.: Thickening of sweet and sour sauces with various polysaccharide combinations. *J. Food Eng.*, 2006, **75**, 407-414.
- [7] Golachowski A.: Stosowanie skrobi i jej przetworów w przemyśle spożywczym. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 1998, **328**, 117-124.
- [8] Härröd M.: Time-dependent flow behavior of starch pastes with food process applications. *J. Food Process Eng.*, 1989, **11**, 297-309.
- [9] Hung P.V., Morita N.: Physicochemical properties of hydroxypropylated and cross-linked starches from A-type and B-type wheat starch granules. *Carbohydr. Polym.*, 2005, **59 (2)**, 239-246.
- [10] Jacobson M.R., Obanni M., Bemiller J.N.: Retrogradation of starches from different botanical sources. *Cereal Chem.*, 1997, **74**, 511-518.
- [11] Kaur L., Singh N., Singh J.: Factors influencing the properties of hydroxypropylated potato starches. *Carbohydr. Polym.*, 2004, **55**, 211-223.
- [12] Khondkar D., Tester R.F., Hudson N., Karkalas J., Morrow J.: Rheological behaviour of uncross-linked and cross-linked gelatinised waxy maize starch with pectin gels. *Food Hydrocolloids*, 2007, **21 (8)**, 1296-1301.
- [13] Leszczyński W.: Zastosowanie skrobi modyfikowanych w przemyśle spożywczym (cz. I). *Przegl. Piek. Cuk.*, 2006, **5**, 54-57.
- [14] Leszczyński W.: Skrobie chemicznie modyfikowane. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2006, **6**, 6-8.
- [15] Liu H., Ramsden L., Corke H.: Physical properties and enzymatic digestibility of hydroxypropylated ae, wx, and normal maize starch. *Carbohydr. Polym.*, 1999, **40**, 175-182.
- [16] Nguyen Q.D., Jensen C.T.B., Kristensen P.G.: Experimental and modelling studies of the flow properties of maize and waxy maize starch pastes. *Chem. Eng. J.*, 1998, **70**, 165-171.
- [17] Pal J., Singhal R.S., Kulkarni P.R.: Physicochemical properties of hydroxypropyl derivative from corn and amaranth starch. *Carbohydr. Polym.*, 2002, **48**, 49-53.

- [18] Parker R., Ring S.G.: Aspects of the physical chemistry of starch. *J. Cereal Sci.*, 2001, **34**, 1-17.
- [19] Reddy I, Seib P.A.: Modified waxy wheat starch compared to modified waxy corn starch. *J. Cereal Sci.*, 2000, **31**, 25-39.
- [20] Richter M., Augustat S., Schierbaum F. *Ausgewählte Methoden der Stärkechemie*. VEB Fachbuchverlag Leipzig, 1968, pp. 110-112.
- [21] Sajilata M.G., Singhal R.S.: Specialty starches for snack foods. *Carbohydr. Polym.*, 2005, **10**, 131-151.
- [22] Schube V., Kaliszan E., Ratusz K.: Skrobie modyfikowane we wsadach owocowych, majonezach, dresingach. *Przem. Spoż.*, 2003, **3**, 22-26.
- [23] Shon K-J., Yoo B.: Effect of acetylation on rheological properties of rice starch. *Starch*, 2006, **58**, 177-185.
- [24] Sikora M, Juszczak L., Sady M, Krawontka J.: Use of starch/xanthan gum combinations as thickeners of cocoa syrups. *Food*, 2003, **47**, 106-113.
- [25] Sikora M., Kowalski S.: Interakcje skrobi różnego pochodzenia botanicznego z hydrokoloidami polisacharydowymi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **1**, 40-55.
- [26] Singh J., Kaur L., McCarthy O.J.: Factors influencing the physicochemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-a review. *Food Hydrocolloids*, 2007, **21 (1)**, 1-22.
- [27] Sodhi N.S., Singh N.: Characteristics of acetylated starches prepared using starches separated from different rice cultivars. *J. Food Eng.*, 2005, **70 (1)**, 117-127.
- [28] Sitkiewicz I., Dnoch S.: Właściwości reologiczne oraz retrogradacja wybranych skrobi modyfikowanych z kukurydzy woskowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1 (46)**, 143-151.
- [29] Tattiyakul J., Rao M.A.: Rheological behavior of cross-linked waxy maize starch dispersions during and after heating. *Carbohydr. Polym.*, 2000, **43**, 215-222.
- [30] Walkowski A., Lewandowicz G.: Skrobie modyfikowane właściwości technologiczne i zakres stosowania. *Przem. Spoż.*, 2004, **5**, 49-51.
- [31] Walkowski A., Olesienkiewicz A.: Kryteria doboru skrobi modyfikowanych w przetwórstwie żywności. *Przem. Spoż.*, 2005, **8**, 54-57.
- [32] Wurzburg O.B.: *Modified starches: properties and uses*. Boca Raton, Florida, CRC Press Inc., 1986.

PROFILE OF MODIFIED WAXY MAIZE STARCH SYSTEMS

S u m m a r y

The objective of this paper was to evaluate some selected physicochemical properties of modified waxy maize starch investigated individually and, also, in mixtures.

The investigations comprised three preparations of waxy maize starch and their mixtures in 1:1 ratio, namely Clearam, Pregeflo, and C*Tex. The physicochemical properties of the starches and their mixtures were investigated. The swelling power and solubility in water at 20, 60 and 80 °C, as well as the retrogradation degree, and syneresis were determined. Additionally, the pasting profile of 7 % starch - water dispersions was analysed. The rheological properties of 5 % starch pastes were investigated in a rotational rheometer with co-axial cylinders applied as a measuring element. The flow curves of the starch pastes were plotted and described by Herschel-Bulkley and Ostwald de Waele models. The area of thixotropy hysteresis loop and the reconstruction degree of structure of the starch pastes investigated were also calculated.

Based on the investigations accomplished, it was concluded that the starches studied differed in their physicochemical properties. The highest swelling power exhibited the Clearam starch, whereas C*Tex - the lowest. The Pregeflo preparation was characterized by the highest solubility in water, whereas the

Clearam starch showed the lowest solubility level. Among all the tested mixtures, Clearam and C*Tex had the poorest solubility in water. All the starch preparations and their systems achieved their maximum swelling power and solubility in water only at a temperature of 80 °C. The gels analysed showed a very good stability during the storage at 6 °C. There were no retrogradation phenomena nor syneresis symptoms during the storage period under investigation. Significant differences in the profile of pasting of the preparations analysed were found. The Pregeflo starch pasted already at a temperature of 25 °C. The Clearam preparation exhibited both the low pasting temperature and the low peak viscosity temperature. The Clearam starch had a maximum viscosity value that was twice as high as the viscosity of other preparations. All the starches were characterized by a very good resistance to heating. After cooling, they achieved a viscosity value equalling the peak viscosity value or higher. The pastes of starches investigated were non-Newtonian and shear thinning fluids, and they exhibited yield stress and thixotropy phenomena. Interactions between Clearam and C*Tex, as well as between Clearam and Pregeflo were found. Those interactions manifested themselves in the fact that a structure of a higher shear resistance was formed. The reconstruction degree of all the starch pastes investigated ranged from 70.1 %, as for the Pregeflo preparation, to 96.2 %, as for the C*Tex starch.

Key words: waxy maize starch, chemically modified starch, physicochemical properties ☒

SPROSTOWANIE

Na skutek błędu popełnionego w redakcji, w sposób niezamierzony została zmieniona kolejność autorów artykułu opublikowanego w czasopiśmie *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 4 (59), 103-110. Prawidłowa kolejność autorów artykułu pt. „Zastosowanie mikronizowanych preparatów wysokobłonnikowych w wyrobach ciastkarskich“ powinna być następująca: **Danuta Górecka, Jacek Aniola, Elżbieta Piotrowska, Katarzyna Walczak**.

Przepraszamy P.T. Autorów za zaistniałą sytuację.

AGATA WOJCIECHOWICZ, ZYGMUNT GIL, MAŁGORZATA KAPELKO,
TOMASZ ZIĘBA

WPLYW DODATKU SKROBI OPORNEJ NA WŁAŚCIWOŚCI CIASTA I JAKOŚĆ PIECZYWA PSZENNEGO

Streszczenie

Badania miały na celu ocenę wpływu udziału, w cieście i pieczywie, retrogradowanej skrobi acetylowanej (skrobi odpornej RS4) na cechy jakościowe ciasta i pieczywa pszenne. W doświadczeniu zastosowano udział skrobi odpornej w ilości od 0 do 40 %. W celu zbilansowania ubytku glutenu, przez zamianę części mąki skrobią oporną, dodano gluten witalny w ilości 1,5 % przy 10 i 20 % udziale skrobi odpornej oraz 3 % przy 30 i 40 % udziale skrobi retrogradowanej acetylowanej w mieszankach. W badaniach oznaczono wyróżniki jakości i cechy amylograficzne mąki wzbogaconej skrobią oporną, właściwości farinograficzne ciasta oraz wykonano wypiek chleba i oceniono jego jakość.

Badania wykazały, że udział skrobi odpornej do 10 % nie obniżał znacząco jakości pieczywa. Stwierdzono, że wzrastający udział skrobi odpornej powodował obniżenie wartości cech jakościowych mąki, temperatury początkowej kleikowania oraz objętości chleba. Temperatura końcowa i czas kleikowania wzrastały wraz ze zwiększającą się ilością skrobi modyfikowanej do poziomu 30 %, a w próbach z 40 % udziałem skrobi odpornej uzyskały wartości najniższe. Rosnący udział RS4 wpłynął korzystnie na wodochłonność mąki, czas rozwoju ciasta, liczbę jakości oraz nadpiek chleba. Dodatek glutenu witalnego wpłynął na podwyższenie zawartości białka ogółem, wskaźnika sedimentacyjnego, wydajności glutenu, wodochłonności mąki oraz objętości chleba.

Słowa kluczowe: skrobina oporna, gluten witalny, mąka pszenna, jakość pieczywa

Wprowadzenie

Na przestrzeni ostatnich lat obserwuje się zmiany w sposobie odżywiania ludzi, będące skutkiem upowszechnienia osiągnięć postępu technologicznego, informatyzacji, robotyzacji, zmian zwyczajów żywieniowych, a także trybu życia [4, 5]. Zmiany cywilizacyjne spowodowały wzrost spożycia żywności wysoko przetworzonej, czego skutkiem było zmniejszenie w diecie ilości błonnika pokarmowego, niezbędnego do

prawidłowego funkcjonowania organizmu [2, 15]. W ostatnich latach skrobia odporna na hydrolityczne oddziaływanie enzymów układu trawiennego człowieka wzbudza zainteresowanie zarówno fizjologów, żywieniowców, jak i technologów. Skrobią oporną („resistant starch” - RS) nazywa się sumę skrobi i produktów jej rozpadu, które nie są wchłaniane w jelicie cienkim zdrowego człowieka [3]. Wyróżnia się różne formy skrobi opornej. Skrobią oporną typu 1 (RS 1) stanowi skrobia zawarta w komórkach roślinnych o nieuszkodzonych ścianach komórkowych, np. w ziarnie zbóż nie całkiem zmielonym. Skrobia oporna typu 2 (RS 2) to skrobia surowych (nieskleikowanych) gałeczek niektórych gatunków roślin, np. ziemniaka lub banana, a typu 3 (RS 3) to skrobia zretrogradowana. Skrobią oporną typu 4 (RS 4) stanowi natomiast skrobia zmodyfikowana chemicznie lub fizycznie [7, 11]. Skrobia oporna wykazuje działanie prozdrowotne w związku z czym traktowana jest jako składnik błonnika pokarmowego [8, 18]. Pieczywo i przetwory zbożowe mają duży udział w dziennym pożywieniu człowieka, stąd mogą one spełniać dużą rolę w diecie człowieka chorego, wspomagając leczenie, jak i zdrowego, spełniając rolę zapobiegawczą (profilaktyczną) [16, 17].

Celem badań była ocena wpływu udziału, w cieście i pieczywie, skrobi retrogradowanej acetylowanej (skrobi opornej RS4) na właściwości ciasta i jakość pieczywa pszenne.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiła mąka typu 750, do której dodawano retrogradowaną skrobią acetylowaną (skrobią oporną RS4), otrzymaną w Katedrze Technologii Rolnej i Przechowalnictwa Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Preparaty skrobi wytwarzano zgodnie ze zgłoszeniem patentowym nr P-382126 [27]. Skrobią ziemniaczaną poddawano retrogradacji, a następnie acetylacji. Proces acetylacji prowadzono analogicznie do sposobu stosowanego w polskich krochmalniach [14]. Otrzymany preparat skrobi opornej rozdrabniano i przesiewano przez sito o wielkości oczek 265 μm .

Udział skrobi opornej w uzyskanych próbach wynosił 0, 10, 20, 30 i 40 %. Ocenę wpływu udziału skrobi na cechy jakościowe ciasta i pieczywa prowadzono w próbach z dodatkiem i bez dodatku glutenu witalnego. W celu zbilansowania ubytku glutenu, przez zamianę części mąki skrobią oporną, dodawano gluten witalny (Cargil Wrocław) w ilości 1,5 % przy 10 i 20 % udziale skrobi opornej oraz 3 % przy 30 i 40 % udziale skrobi retrogradowanej acetylowanej w mieszankach. Próbę kontrolną stanowiła mąka pszenna bez dodatku skrobi opornej i glutenu witalnego.

Na badanych próbach wykonano oznaczenia:

- zawartości białka ogółem metodą Kjeldahla [19], stosując współczynnik przeliczeniowy $N \times 5,7$,
- ilości i jakości glutenu [20],

- liczby opadania metodą Hagberga-Pertena [21],
- wskaźnika sedymentacyjnego testem Zeleny'ego [22],
- właściwości reologicznych ciasta za pomocą farinografu Brabendera [23],
- właściwości amylograficznych mąki [24].

Wypiek pieczywa prowadzono metodą opracowaną w Zakładzie Technologii Zbóż Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu według następującej receptury: mąka pszenna 250 g, drożdże 7,5 g, sól 3,8 g, woda do uzyskania konsystencji 300 FU. Ciasto sporządzano metodą jednofazową. Czas mieszania wynosił 3 min. Następnie około 300 g ciasta nakładano do form i poddawano fermentacji w temperaturze 30 – 35 °C przez 1 h. Po godzinnej fermentacji ciasto poddawano przegniataniu i ponownie wstawiano do komory fermentacyjnej. Po 30 min ciasto ponownie przegniatano i odstawiano do fermentacji końcowej. Wypiek chleba w piecu laboratoryjnym trwał 30 min w temperaturze około 240°C. Pieczywo oceniano na podstawie nadpieku chleba, objętości chleba ze 100 g mąki w aparacie SA-Wy, porowatości miększu według skali Dallmana.

W celu porównania średnich wartości cech jakościowych mąki pszennej z udziałem skrobi odpornej, zarówno w próbach bez, jak i z dodatkiem glutenu witalnego, przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji przy poziomie istotności $\alpha \leq 0,05$ (test Duncana). Analiza statystyczna wyników została przeprowadzona z wykorzystaniem pakietu Statistica 8.0.

Wyniki i dyskusja

Zdaniem Eerlinga i wsp. [6], dodatek składników o sztucznie podwyższonej zawartości skrobi odpornej, w procesie wypieku pieczywa, nie obniża jakości otrzymanych produktów, a powoduje obniżenie wartości kalorycznej wyrobów [12].

Zastosowane w doświadczeniu wzbogacenie mąki pszennej skrobią oporną spowodowało zmianę cech jakościowych mieszanek (tab.1). Wzrastający udział skrobi retrogradowanej acetylowanej powodował stopniowe zmniejszenie zawartości białka ogółem z 13,8 %, w próbie kontrolnej, do 8,5 % w próbie z 40 % udziałem skrobi odpornej bez dodatku glutenu witalnego oraz do 10,2 % w próbie z 40 % udziałem RS4 i 3 % dodatkiem glutenu. Podobną zależność zauważyli inni autorzy [1]. W praktyce piekarskiej uważa się, że mąka chlebowa powinna zawierać powyżej 25 % glutenu mokrego. Wydajność glutenu malała wraz ze wzrostem udziału skrobi odpornej w próbach. Największą wydajnością glutenu charakteryzowała się próba kontrolna (38,0 %), natomiast najmniejszą próba z 40 % udziałem RS4 bez dodatku glutenu witalnego (16,1 %). Jakość glutenu można określać na podstawie jego rozplywalności. Gluten mocny tylko w niewielkim stopniu rozplywa się podczas termostatowania w temp. 30 °C. Największą rozplywalnością glutenu cechowała się próba kontrolna oraz z 10 % udziałem skrobi odpornej bez dodatku glutenu (3,2 mm). W próbach bez dodatku glute-

nu wartości tej cechy wahały się od 1,5 do 3,2 mm. W próbach z domieszką glutenu wartości tej cechy malały stopniowo wraz ze wzrostem udziału RS4 od 2,5 mm (10 %) do 1,5 mm (30 - 40 %). O wartości wypiekowej mąki decyduje nie tylko ilość, lecz także jakość glutenu, którą można określić za pomocą wskaźnika sedymentacyjnego. Charakteryzuje on gluten pod względem jakościowo-ilościowym. Mąka o wysokiej zawartości glutenu dobrej jakości odznacza się wysokim wskaźnikiem sedymentacyjnym. Wartość wskaźnika sedymentacyjnego, w próbach bez domieszki glutenu, stopniowo ulegała obniżeniu wraz ze wzrostem udziału skrobi odpornej w mieszankach. W próbach ze zbilansowaną ilością glutenu witalnego omawiana cecha uzyskiwała wartość wyższą w porównaniu z próbami, do których nie dodano glutenu. Próby z 30 i 40 % udziałem skrobi odpornej cechowały się największymi wskaźnikami sedymentacyjnymi (69,5 ml). W ocenie jakości mąki ważna jest także aktywność enzymów amylolitycznych. Aktywność α -amylazy można określać pośrednio na podstawie liczby

Tabela 1

Średnie wartości cech jakościowych mąki pszennej w zależności od udziału skrobi odpornej.
Mean values of wheat flour quality properties depending on the content level of resistant starch.

Udział skrobi odpornej Content level of resistant starch [%]	Dodatek glutenu witalnego Addition of vital gluten [%]	Białko ogółem Total protein [%]	Wydajność glutenu Wet gluten yield [%]	Rozpływalność glutenu Deliquescence of wet gluten [mm]	Wskaźnik sedymentacyjny Sedimentation value [ml]	Liczba opadania Falling number [s]
0	0	13,8 a	38,0 a	3,2 a	48,0 a	324 a
10	0	12,4 b	32,6 b	3,2 a	43,5 b	292 c
20	0	11,0 c	27,3 c	1,5 b	43,0 b	307 b
30	0	9,9 d	22,2 d	1,8 ab	40,0 c	282 c
40	0	8,5 e	16,1 e	2,0 ab	41,0 c	293 c
0	0	13,8 a	38,0 a	3,2 a	48,0 c	324 a
10	1,5	13,2 b	35,3 b	2,5 ab	66,0 b	305 b
20	1,5	12,0 c	28,7 c	2,0 ab	65,0 b	292 c
30	3,0	11,6 d	27,0 c	1,5 b	69,5 a	272 d
40	3,0	10,2 e	23,8 d	1,5 b	69,5 a	269 d

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c, d, e – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha \leq 0,05$ / mean values in the columns, denoted by different letters, differ statistically significant at $\alpha \leq 0.05$;

opadania. Przy dużej aktywności tego enzymu kleiki są szybko upłynniane, a liczba opadania jest niska. Największą wartość liczby opadania uzyskano w próbie kontrolnej (324 s). Rosnący udział preparatu skrobi opornej w próbach z dodatkiem glutenu spowodował stopniowe zmniejszenie wartości omawianej cechy do 269 s. W próbach bez dodatku glutenu wartości liczby opadania były niższe niż w próbie kontrolnej i zawierały się w przedziale od 282 do 307 s. W badaniach prowadzonych przez Mielcarz [15] zastosowanie dodatku różnych rodzajów błonnika do mąki w ilości od 5 do 15 % spowodowało obniżenie liczby opadania w porównaniu z mąką bez dodatku błonnika.

Tabela 2

Cechy amylograficzne mąki pszennej z udziałem skrobi opornej.
Amylographic properties of wheat flour enriched with resistant starch.

Udział skrobi opornej Content level of resistant starch [%]	Dodatek glutenu witalnego Addition of vital gluten [%]	Temperatura początkowa kleikowania Initial temperature of gelatinization [°C]	Temperatura końcowa kleikowania Final temperature of gelatinization [°C]	Czas kleikowania Gelatinization time [min]	Maksymalna lepkość kleików mącznych Maximum viscosity of gelatinized doughs [AU]
0	0	60,0	82,2	34,8	590
10	0	57,0	83,4	35,6	500
20	0	55,5	84,0	36,0	420
30	0	55,0	84,3	36,2	400
40	0	53,1	64,5	23,0	580
10	1,5	57,9	82,5	35,0	470
20	1,5	56,4	83,7	25,8	390
30	3,0	55,5	84,0	36,0	390
40	3,0	52,8	65,4	23,6	500

W tab. 2. przedstawiono wartości cech amylograficznych mąki pszennej z udziałem skrobi opornej. Wraz ze wzrostem ilości skrobi opornej w próbach temperatura początkowa kleikowania ulegała obniżeniu, w przypadku próby kontrolnej z 60 do 53,1 °C, a w próbach z maksymalnym udziałem skrobi opornej, bez i z dodatkiem glutenu witalnego do 52,8 °C. Charakterystyczne dla skrobi acetylowanych obniżenie temperatury początkowej kleikowania potwierdzają badania innych autorów [26, 28]. Takiej zależności należało się spodziewać ze względu na osłabienie struktury ziaren skrobi wywołane obecnością octanowych grup podstawnikowych w łańcuchach skrobiowych [9, 10, 13]. Temperatura końcowa i czas kleikowania wzrastały w miarę

zwiększania się udziału skrobi modyfikowanej do poziomu 30 %, odpowiednio do średnio 84,0 °C i 36,0 min. W próbach z 40 % udziałem RS4 oceniane cechy uzyskały wartości najniższe, odpowiednio 64,5 °C i 23,0 min, bez dodatku glutenu witalnego, oraz 65,4 °C i 23,6 min, w próbach z uzupełnioną ilością glutenu. Odnośnie maksymalnej lepkości kleików mącznych największe wartości uzyskano w próbie kontrolnej (590 AU) oraz z 40 % udziałem skrobi modyfikowanej bez dodatku glutenu (580 AU). Pozostałe próby uzyskały maksymalną lepkość w przedziale od 390 do 500 AU.

Tabela 3

Cechy farinograficzne mąki z udziałem skrobi odpornej.
Farinographic properties of wheat flour enriched with resistant starch.

Udział skrobi odpornej Content level of resistant starch [%]	Dodatek glutenu witalnego Addition of vital gluten [%]	Wodochłonność mąki Water absorption of flour [%]	Czas rozwoju ciasta Development time of dough [min]	Stażność ciasta Dough stability [min]	Rozmiękczenie ciasta Softening of dough [FU]	Liczba jakości Quality number [mm]
0	0	62,4	7,2	9,8	65	134
10	0	72,0	5,9	9,7	75	137
20	0	80,0	10,9	11,2	100	149
30	0	86,0	15,0	4,2	90	183
40	0	90,4	20	5,6	55	284
10	1,5	71,8	6,8	11,7	80	125
20	1,5	82,0	11,5	6,5	100	159
30	3,0	88,0	14,9	5,5	95	188
40	3,0	93,6	21,3	6,0	60	278

Skrobia acetylowana o niskim stopniu podstawienia stosowana w przemyśle spożywczym charakteryzuje się zwiększoną rozpuszczalnością w wodzie i wodochłonnością [9, 28]. Rosnący udział preparatu skrobi retrogradowanej acetylowanej korzystnie wpłynął na wodochłonność mąki (tab. 3), powodując jej znaczny wzrost z 62,4 % (próba kontrolna) do 90,4 i 93,6 % w próbach z maksymalnym udziałem skrobi odpornej, odpowiednio bez i z dodatkiem glutenu. W miarę stosowania większej ilości skrobi odpornej w mieszankach wydłużał się czas rozwoju ciasta oraz wzrastała liczba jakości (tab. 3). W przypadku czasu rozwoju ciasta wzrost ten nastąpił w przedziale 20 – 40 % udziału RS4, odpowiednio od 10,9 do 20,0 min (próby bez dodatku glutenu) i od 11,5 do 21,3 min (próby ze zbilansowaną ilością glutenu). Największą liczbą jakości charakteryzowały się próby z 40 % udziałem skrobi modyfikowanej zarówno bez, jak i z dodatkiem glutenu, odpowiednio 284 i 278 mm. Stałość ciasta wahała się w przedzia-

le 4,2 - 11,7 min (tab. 3). Największą wartość tej cechy uzyskano w próbach z 20 % udziałem skrobi odpornej bez dodatku glutenu (11,2 min) oraz z 10 % udziałem skrobi z domieszką glutenu (11,7 min). Rozmiękczenie ciasta mieściło się w przedziale od 55 do 100 FU, przy czym najwyższą wartość tej cechy uzyskały próby z 20 % udziałem RS4 (100 FU), a najniższą próby z maksymalną ilością skrobi odpornej w mieszankach, odpowiednio 55 i 60 FU (tab. 3).

Wraz ze wzrostem udziału skrobi retrogradowanej acetylowanej w próbach nastąpiło zmniejszenie objętości chleba z 550 cm³ w próbie kontrolnej, do 370 cm³ (40 % udział skrobi bez glutenu) oraz do 378 cm³ (40 % udział skrobi z dodatkiem glutenu). Należy zwrócić uwagę, że przy 10 % udziale skrobi odpornej spadek objętości chleba był niewielki. Spadek objętości chleba świadczy o obniżeniu jakości pieczywa, co może spowodować zmniejszenie atrakcyjności konsumenckiej. W miarę zwiększania ilości skrobi odpornej nastąpił także znaczny wzrost nadpieku chleba z 48,6 % (próba kontrolna) do 80,3 i 93,3 % w próbach z maksymalnym udziałem skrobi odpornej (tab. 4). W badaniach Wepnera i wsp. [25] 10 % udział w cieście skrobi ziemniaczanej estryfikowanej kwasem cytrynowym nie spowodował obniżenia objętości chleba, w porównaniu z chlebem bez dodatku skrobi odpornej. Ocena porowatości miękiszu według 8-punktowej skali Dallmana zawierała się w przedziale 5 - 6 punktów (tab. 4). Mięksiz chlebów wypieczonych z 40 % udziałem skrobi odpornej odznaczał się lepszą porowatością w porównaniu z pozostałymi chlebami.

T a b e l a 4

Cechy jakościowe pieczywa pszennego z udziałem skrobi odpornej.
Quality properties of bread enriched with resistant starch.

Udział skrobi odpornej Content of resistant starch [%]	Dodatek glutenu witalnego Addition of vital gluten [%]	Objętość chleba Bread volume [cm ³ /100g mąki/flour]	Nadpiek chleba Overbake [%]	Porowatość miękiszu wg skali Dallmana Porosity of the crumb acc. to Dallman scale
0	0	550	48,6	5
10	0	536	58,0	5
20	0	442	70,1	5
30	0	424	72,5	5
40	0	370	80,3	6
10	1,5	516	63,1	5
20	1,5	468	69,4	5
30	3,0	454	80,5	5
40	3,0	378	93,3	6

Dodatek glutenu witalnego wpłynął pozytywnie na zawartość białka ogółem, wskaźnik sedymentacyjny Zeleny'ego, wydajność glutenu, wodochłonność mąki, objętość chleba od 20 % udziału skrobi odpornej i nadpiek chleba.

Wnioski

1. Wzrastający udział skrobi odpornej w próbach powodował wzrost temperatury końcowej i czasu kleikowania (do 30 % udziału), wodochłonności mąki, czasu rozwoju ciasta, liczby jakości oraz nadpieku chleba przy jednoczesnym zmniejszeniu wskaźników jakości mąki, temperatury początkowej kleikowania oraz objętości chleba.
2. Dodatek glutenu witalnego przy jednoczesnym udziale skrobi odpornej wpłynął na poprawę cech jakościowych ciasta i pieczywa takich, jak: zawartość białka ogółem, wskaźnik sedymentacyjny Zeleny'ego, wydajność glutenu, wodochłonność mąki oraz objętość chleba.
3. Chleby wypieczone z 10 % udziałem skrobi odpornej, zarówno z dodatkiem, jak i bez dodatku glutenu witalnego, wykazywały cechy jakościowe zbliżone do chleba kontrolnego (bez dodatków).

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28-29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Aparicio-Saguilán A., Sáyago-Ayerdi S.G., Vargas-Torres A., Tovar J., Ascencio-Otero T.E., Bello-Pérez L.A.: Slowly digestible cookies prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch. *J. Food Compos. Anal.* 2007, **20** (3/4), 175-181.
- [2] Bartnikowska E.: Włókno pokarmowe w żywieniu człowieka. Część I. *Przem. Spoż.*, 1997, **05**, 43-48.
- [3] Champ M.: Definition, analysis, physical and chemical characterization and intake of RS. EURESTA Working Group I. Proceedings of the concluding plenary meeting of EURESTA. Eds. Asp N.-G., Amelsvoort J.M.M., Hautvast J.G.A.J., Wageningen, The Netherlands 1994.
- [4] Diowksz A.: Pieczywo hipoalergiczne - poszukiwanie nowych rozwiązań dla szybko rosnącego rynku produktów dietetycznych. *Przeł. Piek.*, 2006, **08**, 2-4.
- [5] Dziugan P., Dziedziczak K., Ambroziak W.: Błonnik w pieczywie. *Cuk. Piek.*, 2006, **05**, 60-62.
- [6] Eerlingen R.C., Van Haesdonck I.P., De Paepe G., Delcour J.A.: Enzyme-resistant starch. III. The quality of straight-dough bread containing varying levels of enzyme-resistant starch. *Cereal Chem.*, 1994, **71**, 165-170.
- [7] Englyst H.N., Cummings. J.H.: Digestion of polysaccharides of potato in the small intestine of man. *Am. J. Clin.Nutr.*, 1987, **45**, 423-431.
- [8] Englyst H.N., Hudson G.J.: Starch and health. Starch structure and functionality (eds. P.J. Frazier, P. Richmond, A.M. Donald). The Royal Society of Chemistry, Cambridge 1997, pp. 9-21.

- [9] Golachowski A.: Stosowanie skrobi i jej przetworów w przemyśle spożywczym. Zesz. Nauk. AR Wroc., Technol. Żyw., 1998, **12/ 328**, 117-124.
- [10] González Z., Pérez E.: Effect of acetylation on some properties of rice starch. *Stärke*, 2002, **54**, 148-154.
- [11] Haralampu S.G.: Resistant starch-a review of the physical properties and biological impact of RS₃. *Carbohydr. Polymers*, 2000, **41**, 285-292.
- [12] Leszczyński W.: Skrobia oporna i jej znaczenie. *Przegl. Piek.*, 2004, **7**, 2-5.
- [13] Liu H., Ramsden L., Corke H.: Physical properties of cross-linked and acetylated normal and waxy rice starch. *Stärke*, 1999, **51**, 249-252.
- [14] Mężyński L.: Acetylacja skrobi. *Przem. Chem.*, 1972, **51/5**, 289-290.
- [15] Mielcarz M.: Żywniowe i technologiczne aspekty zastosowania błonników pokarmowych do produkcji wyrobów piekarskich i ciastkarskich. *Przegl. Piek.*, 2004, **8**, 7-9.
- [16] Mielcarz M.: Wartość odżywcza pieczywa i jego przeznaczenie dla konsumentów wymagających określonych diet (cz. I). *Przegl. Piek.*, 2004, **10**, 12-13.
- [17] Mielcarz M.: Wartość odżywcza pieczywa i jego przeznaczenie dla konsumentów wymagających określonych diet (cz.III). *Przegl. Piek.*, 2005, **6**, 2-3.
- [18] Ohr L.M.: Fortifying with fiber. *Nutraceuticals&Functional Foods*, 2004, **58 (2)**, 71-75.
- [19] PN-75/A-04018. Produkty rolno spożywcze. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [20] PN-77/A-74041. Oznaczanie ilości i jakości glutenu.
- [21] PN-ISO 3093:1996. Zboża. Oznaczanie liczby opadania.
- [22] PN-ISO 5529:1998. Oznaczanie wskaźnika sedymentacyjnego. Test Zeleny'ego.
- [23] PN-ISO 5530-1:1999. Fizyczne właściwości ciasta. Oznaczanie wodochłonności i właściwości reologicznych za pomocą farinografu.
- [24] PN-ISO 7973:2001. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie lepkości mąki. Metoda z zastosowaniem amylografu.
- [25] Wepner B., Berghofer E., Miesenberger E., Tiefenbacher K., Ng P.N.K.: Citrate starch-application as resistant starch in different food systems. *Starch/Stärke*, 1999, **10**, 354-361.
- [26] Zheng G.H., Sosulski F.W., Tyler R.T.: Wet-milling composition and functional properties of starch and protein isolated from buckwheat groats. *Food Res. Int.*, 1998, **30/ 7**, 493-502.
- [27] Zięba T.: Sposób otrzymywania skrobi o zmniejszonej podatności na działanie enzymów amyliolitycznych. *BUP*, 2007, **20 (881)**, 16.
- [28] Zięba T., Kapelko M., Gryszkin A.: Selected properties of potato starch subjected to multiple physical and chemical modifications. *Pol.J.Food Nutr. Sci.*, 2007, **57 (4C)**, 639-645.

EFFECT OF RESISTANT STARCH ADDITION ON THE DOUGH PROPERTIES AND WHEAT BREAD QUALITY

S u m m a r y

The objective of the investigations was to determine the effect of content level of retrograded, acetylated starch (RS4 resistant starch) in dough and bread on the quality properties of dough and wheat bread. In the experiment, the following content levels of resistant starch were applied: 0, 10, 20, 30 and 40 %. To balance the loss of wheat gluten resulting from replacing 10-40 % of the flour by resistant starch, 1.5% of vital wheat gluten was added to the mixtures with the content of resistant starch being 10 and 20%, and 3% to the mixtures with the content of the retrograded, acetylated starch being 30 and 40%. In the investi-

gations, the following was determined: quality characteristics and amylographic features of wheat flour enriched with resistant starch, and farinographic (rheological) properties of the dough. Next, bread was baked and its quality was evaluated.

The investigations proved that the content level of resistant starch of up to 10% did not significantly reduce the bread quality. It was found that the increasing content of resistant starch caused the values of quality parameters, initial temperature of gelatinization, and of bread volume to decrease. The final temperature and the gelatinization time increased along with the rising amount, up to 30%, of the resistant starch added, and in the samples containing 40% of resistant starch, those two parameters showed the lowest values. The increasing content of RS4 starch positively impacted the water absorption of flour, development time of dough, quality number, and overbake of bread. The vital gluten added had an effect of increasing the content of total protein, sedimentation value, wet gluten yield, water absorption of flour, and bread volume.

Key words: resistant starch, vital gluten, wheat flour, bread quality ☒

ANNA OSTASIEWICZ, ALICJA CEGLIŃSKA, SYLWIA SKOWRONEK

WPLYW WARUNKÓW PROWADZENIA ZAKWASU NA JAKOŚĆ PIECZYWA ŻYTNIEGO

Streszczenie

Celem pracy było porównanie jakości pieczywa żytniego uzyskanego z ciasta prowadzonego metodą trójfazową z wykorzystaniem różnych żurków: pochodzących z piekarń A i B, przygotowanego w laboratorium (próba kontrolna) oraz uzyskanego przy użyciu kultury starterowej. W pracy określono cechy fizykochemiczne mąki (wilgotność, kwasowość, zawartość białka, liczbę opadania i właściwości amyloliyczne) oraz kwasowość międzyproduktów w kolejnych fazach produkcji pieczywa. Otrzymane ciasto wypiekano w temperaturze 230 °C przez 35 min. Po 12 h obliczono wydajność, stratę piecową, zmierzono objętość i przeliczono ją na 100 g pieczywa oraz określono kwasowość. Przeprowadzono również ocenę organoleptyczną pieczywa.

Na podstawie oceny organoleptycznej oraz wartości wyróżników fizykochemicznych wykazano dobre właściwości wypiekowe użytej mąki. W poszczególnych fazach wytwarzania, w ciastach wystąpiły różnice kwasowości. Żurek pochodzący z piekarni A oraz przygotowany z niego kwas wykazywały wyższy stopień kwasowości niż żurek i kwas przygotowany metodą laboratoryjną. Natomiast ciasta przygotowane na żurkach pobieranych z obu piekarń i ciasta z kulturami starterowymi miały dwukrotnie wyższą kwasowość niż sporządzone metodą laboratoryjną.

Wydajność ciasta wytworzonego na żurku z piekarni B była największa. Natomiast największą wydajność pieczywa uzyskano z ciasta przygotowanego na bazie kultury starterowej. Poza tym dodanie kultury starterowej wpłynęło również na zwiększenie objętości 100 g pieczywa.

Na podstawie wyników stwierdzono, że zastosowanie kultur starterowych do fermentacji ciasta wpłynęło na lepszą jakość pieczywa. Poprawie uległy cechy smakowo-zapachowe, zwiększyła się objętość, a mięksiz uzyskał korzystniejszą strukturę.

Słowa kluczowe: pieczywo żytnie, kultura starterowa, metoda trójfazowa

Wprowadzenie

Proces technologiczny pieczywa żytniego jest bardzo pracochłonny i długi, co wynika ze specyficznych właściwości mąki żytniej. Tradycyjne ukwaszanie ciasta na drodze spontanicznej fermentacji mlekowo-etanolowej odbywa się pod wpływem ro-

dzimej mikroflory mąki. W ostatnich latach obserwuje się jednak tendencję upraszczania i skracania procesu prowadzenia ciasta poprzez wprowadzanie nowych praktyk do procesu technologicznego. Polegają one głównie na skróceniu czasu fermentacji ciasta, np. przez zastosowanie kultur starterowych. Kultury starterowe, o określonym składzie mikroflory, umożliwiają prawidłowy i powtarzalny przebieg fermentacji oraz poprawę jakości pieczywa. Stosowanie kultur starterowych w postaci czystej monokultury lub kultury mieszanej kilku szczepów bakterii fermentacji mlekowej, z drożdżami lub bez drożdży, ma na celu właściwe ukierunkowanie procesu fermentacji i ograniczenie działalności niezidentyfikowanej mikroflory pochodzącej z mąki, surowców pomocniczych i otoczenia [3, 15]. Ciasto prowadzone z udziałem bakterii fermentacji mlekowej i drożdży charakteryzuje się ponadto specyficznymi cechami sensorycznymi, dzięki gromadzeniu się związków będących produktami metabolizmu tych mikroorganizmów. Wykazuje ono także lepszą strawność, zachowanie składników bioaktywnych i większą dostępność makro- i mikroelementów [7, 9].

W porównaniu z tradycyjną metodą prowadzenia ciasta, technika stosowania kultur starterowych jest bardzo uproszczona, dzięki czemu można w krótkim czasie uzyskać powtarzalną i stabilną jakość ciasta żytniego oraz pieczywo o wyraźnym smaku i aromacie [3]. Dodatek wyselekcjonowanych kultur starterowych do produkcji pieczywa dostarcza wiele korzyści technologicznych, ekonomicznych i prozdrowotnych. Kultury starterowe zapewniają wysoką jakość pieczywa, przedłużają jego świeżość i opóźniają proces czerstwienia [1, 2, 5, 9]. Pieczywo produkowane z dodatkiem starterów fermentacji charakteryzuje się lepszym smakiem i zapachem, dzięki odpowiedniemu stosunkowi bakterii mlekowych i drożdży. Poza tym, produkty metabolizmu bakterii mlekowych w środowisku fermentacyjnym działają hamująco na rozwój bakterii patogennych i gnilnych, wpływając na czystość fermentacji [17] oraz obniżają ryzyko rozwoju w pieczywie mikroflory niepożądaną, głównie pleśni [18]. Stosowanie kultur starterowych wykazuje również działanie prozdrowotne, poprzez rozkład ewentualnych mikotoksyn pochodzących z zanieczyszczonej pleśniami mąki, redukcję kwasu fitynowego utrudniającego wchłanianie związków mineralnych oraz wspomaganie systemu immunologicznego człowieka [8].

Celem pracy było porównanie jakości pieczywa żytniego uzyskanego w wyniku prowadzenia ciasta metodą trójfazową z wykorzystaniem różnych żurków.

Material i metody badań

W doświadczeniu technologicznym ciasto wyprowadzano:

- z żurku przygotowanego z mąki żytniej typu 720 metodą laboratoryjną (próba kontrolna),
- z dwóch żurków pobieranych z piekarni A i B,
- przy użyciu kultury starterowej.

Kultura starterowa, zgodnie z deklaracją producenta, stanowiła wieloskładnikową kompozycję bakterii mlekowych skojarzoną z drożdżami. W 1 g zaczątku przygotowanym z udziałem tej kultury znajdowało się 2 - 4 mld bakterii mlekowych gatunku *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus brevis* oraz około 5 mln komórek drożdży gatunku *Saccharomyces cerevisiae*.

W ramach oceny cech fizykochemicznych mąki oznaczano: wilgotność metodą suszenia w temperaturze 130 °C przez 1 h, kwasowość miareczkową za pomocą miareczkowania roztworem 0,1 mol/dm³ wodorotlenku sodu kwasów zawartych w mące wobec 2 % alkoholowego roztworu fenoloftaleiny jako wskaźnika, zawartość białka ogółem metodą Kjeldahla [6] przy użyciu jednostki do mineralizacji firmy Foss Tecator, liczbę opadania w aparacie Hagberga-Pertena [11] i właściwości amyloliczne z zastosowaniem amylografu Brabendera [12].

W kolejnym etapie badań przygotowywano ciasta żytnie, oceniając kwasowość miareczkową międzyproduktów (żurku, kwasu i ciasta). W próbie kontrolnej przygotowywano żurek o wydajności 300 %, który poddawano fermentacji przez 24 h w temperaturze 30 °C. Z dojrzałego żurku wyprowadzano kwas o wydajności 200 % z dodatkiem 1 % drożdży w stosunku do całej ilości użytej mąki. Po 3-godzinnej fermentacji kwasu dodawano przewidziane w recepturze ilości mąki, wody i soli (1,5 %), otrzymując ciasto o wydajności 172 %. Kęsy ciasta o masie 350 g poddawano rozrostowi końcowemu i wypiekano w piecu o temp. 230 °C przez 35 min. Metoda ta była również stosowana do przygotowania ciasta prowadzonego na żurkach z piekarni A i B. Wydajność tych żurków wynosiła 375 i 400 %, natomiast wydajność otrzymanych ciast 175 i 176 %. Pieczywo z użyciem kultur starterowych przygotowywano wg metody zaproponowanej przez producenta tych kultur. Żurek o wydajności 250 % sporządzano z zaczątku piekarskiego i pozostawiano go do fermentacji dwuetapowej na około 36 h. Następnie przygotowywano kwas z żurku z dodatkiem drożdży. Po fermentacji kwasu i dodaniu pozostałej ilości mąki, wody, drożdży i soli otrzymano ciasto o wydajności 170 %. Uformowane kęsy ciasta o masie 350 g po rozroście końcowym wypiekano w piecu w temp 230 °C przez 35 min.

Pieczywo oceniano po 12 h od wypieku. Obliczano stratę piecową (upiek), wydajność oraz mierzono objętość w aparacie Sa-Wy, przeliczając ją na 100 g pieczywa, kwasowość miareczkową, a także przeprowadzano ocenę organoleptyczną [6]. Oceniano następujące cechy pieczywa: wygląd zewnętrzny, cechy skórki i miękiszu oraz zapach i smak.

Wszystkie oznaczenia przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie, korzystając z programu Statgraphics Plus 4.1, metodą jednoczynnikowej analizy wariancji. NIR (najmniejsze istotne różnice) wyznaczono testem Tukey'a.

Wyniki i dyskusja

Przeprowadzona analiza cech fizykochemicznych mąki żytniej typu 720 wykazała, że charakteryzuje się ona dobrymi właściwościami wypiekowymi. Wartości wybranych wyróżników jakości mąki żytniej typu 720 przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Wyróżniki jakości mąki żytniej typu 720 użytej do wypieku.
Quality characteristics of rye flour type 720 used to bake bread.

Badane parametry Parameters determined	Mąka żytnia typu 720 Rye flour type 720
Wilgotność [%] Moisture Content [%]	13,8
Kwasowość [° kwasowości] Acidity [acidity degrees]	5,2
Zawartość białka [%] Protein content [%]	8,5
Liczba opadania [s] Falling number [s]	173

Wilgotność, zawartość białka i kwasowość użytej mąki żytniej odpowiadała zaleceniom normy [10]. Wartość technologiczna mąki żytniej określana jest jednak dokładniej przez właściwości skrobi, zwłaszcza jej zdolność do kleikowania i podatność na działanie enzymów amylolitycznych. Aktywność amylolityczna mąki oznaczona liczbą opadania wyniosła 173 s, co wskazuje na średnią aktywność α -amylaz. Optymalna do wypieku pieczywa liczba opadania powinna się zawierać w przedziale 100 – 200 s [14]. Użyta do wypieku mąka wykazała wartość tego parametru mieszczącą się w powyższym zakresie. Oceny właściwości amylolitycznych mąki dokonano na podstawie otrzymanego amylogramu. Temperatura początkowa kleikowania użytej do wypieku mąki wynosiła tylko 46 °C. Natomiast lepkość skleikowanej zawiesiny skrobi (650 j.B.) i temperatura końcowa kleikowania (64,8 °C) były zbliżone do optymalnych. Za optymalne dla mąki żytniej uważa się parametry: lepkość w przedziale 400 – 600 j.B. i temperaturę końcową kleikowania na poziomie 63 – 68 °C [14].

Wykazano statystycznie istotne różnice kwasowości stosowanych żurków. Kwasowość żurku kształtowała się w przedziale 4,2 – 13,4° kwasowości. Najwyższą jej wartość wykazano w żurku pochodzącym z piekarni A, natomiast najniższą w żurku przygotowanym metodą laboratoryjną (próba kontrolna). W badaniach prowadzonych przez Śimśeka i wsp. [13] kwasowość żurków stosowanych do produkcji pieczywa wahała się w przedziale 7,6 – 19,3° kwasowości. Według Dziugana [4] pieczywo uży-

skane z żurków o kwasowości z przedziału 9 – 11° kwasowości uzyskało najwyższe noty w ocenie sensorycznej. Kwasowość przygotowanych kwasów i ciast także wykazywała istotne różnice w zależności od pochodzenia żurku (tab. 2).

Tabela 2

Kwasowość międzyproduktów (żurku, kwasu, ciasta) i pieczywa.
Acidity of inter-products (fermented rye flour, mature sourdough, dough) and bread.

Metoda prowadzenia zakwasu Method of developing fermented rye flour	Kwasowość [° kwasowości] Acidity [acidity degrees]			
	Żurek Leaven	Kwas Active sourdough starter	Ciasto Dough	Pieczywo Bread
Metoda laboratoryjna (próba kontrolna) Laboratory method (control sample)	4,2 a ± 0,07	3,5 a ± 0,0	3,4 a ± 0,42	4,4 a ± 0,0
Metoda z użyciem kultur starterowych Method using starter cultures	11,65 b ± 0,49	8,1 b ± 0,14	7,55 b ± 0,07	10,6 c ± 0,28
Metoda z użyciem żurku z piekarni A Method using leaven from A bakery	13,4 c ± 0,0	8,9 c ± 0,14	7,25 b ± 0,35	9,2 b ± 0,28
Metoda z użyciem żurku z piekarni B Method using leaven from B bakery	12,7 bc ± 0,14	9,25 c ± 0,07	6,75 b ± 0,07	9,1 b ± 0,14
NIR / HSD ($\alpha=0.05$)	1,06	0,43	1,14	0,86

Objaśnienia: / Explanatory notes:

± odchylenie standardowe / standard deviation

a, b, c, d – te same litery w kolumnie oznaczają brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi ($p \geq 0,95$) / the same letters in one column denote lack of statistically significant differences among the means ($p \geq 0.95$)

W przypadku fazy „kwas” kwasowość mieściła się w przedziale 3,5 – 9,25° kwasowości. Kwas sporządzony na żurku z piekarni B wykazał najwyższy poziom kwasowości. Istotnie różniła się kwasowości ciasta otrzymanego metodą laboratoryjną a pozostałymi metodami. Kwasowość ciasta z dodatkiem kultur starterowych była największa i ponad dwukrotnie większa niż ciasta sporządzonego metodą laboratoryjną. Dodatek kultur starterowych wpłynął również na zwiększenie kwasowości ciasta w badaniach prowadzonych przez Ambroziaka i wsp. [1]. Uzyskana przez nich kwasowość ciasta wynosiła średnio 7,3° kwasowości. W niniejszej pracy uzyskano zbliżone wartości kwasowości. Według Ambroziaka i wsp. [1] spowodowana dodatkiem starterów

wyższa kwasowość ciasta umożliwia uzyskanie lepszych jego właściwości fizycznych, a w efekcie zapewnia korzystniejszą strukturę miększu, wpływa na bardziej pożądane cechy smakowo-zapachowe oraz przedłuża świeżość pieczywa.

Wydajność przygotowanego do wypieku ciasta kształtowała się w przedziale 170 – 176 %. Ciasto o największej wydajności sporządzono z dodatkiem żurku z piekarni B, a najmniejszą wydajność wykazało ciasto wytworzone z użyciem kultur starterowych. Wydajność ciasta jest ważnym parametrem technologicznym, od którego zależy tempo namnażania się bakterii i drożdży oraz stosunek wytwarzanego w trakcie fermentacji kwasu mlekowego i octowego. Ciasta o wydajności mieszczącej się w zakresie 150 – 170 %, charakteryzują się gęstą konsystencją i stanowią dobre środowisko do rozwoju bakterii w przewadze nad drożdżami. W efekcie uzyskane pieczywo ma bardziej ostry smak i zapach spowodowany wyższą zawartością kwasu octowego. W ciastach luźnych, o wydajności 200 – 220 %, następuje intensywniejszy rozwój drożdży, a pieczywo wykazuje łagodniejszy smak i zapach kwasowy [16].

Kwasowość uzyskanego pieczywa przedstawiono w tab. 2. Mieściła się ona w przedziale od 4,4° kwasowości w przypadku pieczywa uzyskanego z żurku przygotowanego metodą laboratoryjną do 10,6° kwasowości pieczywa otrzymanego na bazie kultur starterowych. Zbliżone wyniki kwasowości pieczywa (3,6 – 9,2° kwasowości) uzyskał Plessas i wsp. [9]. Autorzy stwierdzili również, że pieczywo z dodatkiem kultur starterowych odznacza się wyższą kwasowością niż pieczywo otrzymane metodą tradycyjną.

Wydajność pieczywa (tab. 3) sporządzonego metodą z użyciem żurku z piekarni B oraz pieczywa z dodatkiem kultur starterowych była największa i nie różniła się istotnie. Najmniejszą wydajność wykazano w przypadku pieczywa przygotowanego metodą z użyciem żurku z piekarni A, które cechowało się również największą stratą piecową. Stosowanie kultur starterowych wpłynęło na wzrost objętości pieczywa w przeliczeniu na 100 g jego masy. Pieczywo to wykazywało poza tym najmniejszą stratę piecową. Najmniejszą objętość w przeliczeniu na 100 g wykazywało pieczywo wytworzone na żurku metodą laboratoryjną (tab. 3).

Zastosowanie metody trójfazowej wytwarzania ciasta pozwoliło uzyskać pieczywo o prawidłowym wyglądzie zewnętrznym i kształcie nadanym formą. We wszystkich przypadkach skórka była rumiana i błyszcząca, ściśle przylegająca do miększu i pozbawiona pęknięć. Miększ pieczywa otrzymanego na bazie kultury starterowej był najbardziej elastyczny i wykazywał równomierną porowatość. Pieczywo wytworzone na żurkach pobieranych z piekarni miało miększ z większą liczbą nieregularnych porów. Próba kontrolna, czyli pieczywo wyprowadzone z żurku sporządzonego w warunkach laboratorium charakteryzowało się miększem bardziej zwartym, z mniejszą zawartością porów, a także mniejszą elastycznością. Porównując smak i zapach uzyskanego pieczywa, najlepiej oceniono pieczywo na bazie kultur starterowych. Smak tego

rodzaju pieczywa był odpowiednio kwaśny, a zapach właściwy, łagodny kwasowy. W badaniach prowadzonych przez Plessasa i wsp. [9] zastosowanie kultur starterowych wywarło również pozytywny wpływ na cechy organoleptyczne pieczywa w porównaniu z pieczywem otrzymanym metodą tradycyjną.

Tabela 3

Ocena uzyskanego pieczywa żytniego.

Assessment of the rye bread produced.

Metoda prowadzenia zakwasu Method of developing fermented rye flour	Wydajność pieczywa Yield of bread [%]	Upiek Baking loss [%]	Objętość Volume [cm ³ /100 g]
Metoda laboratoryjna (próba kontrolna) Laboratory method (control sample)	142,9 ab	13,3 b	203,2 a
Metoda z użyciem kultur starterowych Method using starter cultures	143,7 b	10,0 a	268,8 c
Metoda z użyciem żurku z piekarni A Method using leaven from A bakery	139,8 a	14,4 b	223,2 b
Metoda z użyciem żurku z piekarni B Method using leaven from B bakery	143,9 b	12,5 b	218,1 ab
NIR / HSD ($\alpha=0,05$)	3,5	2,3	17,7

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c, d – te same litery w kolumnie oznaczają brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi ($p \geq 0,95$) / the same letters in one column denote the lack of statistically significant differences among the means ($p \geq 0,95$)

Wnioski

1. W porównaniu z metodą laboratoryjną zastosowanie kultur starterowych i żurków z piekarni A i B wpłynęło na wzrost kwasowości międzyproduktów w poszczególnych fazach ciasta oraz pieczywa żytniego.
2. W metodzie z użyciem kultur starterowych uzyskano największą objętość pieczywa (wzrost o 32,3 %) przy najmniejszym upieku. Nastąpiła także wyraźna poprawa cech smakowo-zapachowych, co wiązało się z uzyskaną kwasowością pieczywa.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Ambroziak Z., Staszewska E., Słowik E.: Nowe technologie wytwarzania chleba trwałego. *Przegl. Piek. Cukier.*, 1999, **2**, 14-16.
- [2] Corsetti A., Gobbetti M., Balestrieri F., Paoletti F., Russi L., Rossi J.: Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling. *J. Food Sci.*, 1998, **63**, 2, 347-51.
- [3] Diowksz A.: Zakwas piekarski jako złożony układ biologiczny. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2003, **9**, 16, 18-19.
- [4] Dziugan P.: Fermentacja zakwasów piekarskich. *Cukier. Piek.*, 2006, **5**, 40-42.
- [5] Gül H., Özcelik S., Sagdic O., Certel M.: Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. *Process Biochemistry.*, 2005, **40**, 691-697.
- [6] Jakubczyk T., Haber T.: Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Wyd. SGGW, Warszawa 1983.
- [7] Piasecka-Jóźwiak K., Chabłowska B., Słowik E., Rozmierska J., Stecka K.: Zastosowanie kultur starterowych (wyselekcjonowanych szczepów bakterii mlekowych) do poprawy jakości pieczywa mieszanego i żytniego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2006, **1 (46)**, Supl., 100-113.
- [8] Piesiewicz H.: Wzrost znaczenia czystych kultur starterowych. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2005, **4**, 14-17.
- [9] Plessas S., Fisher A., Koureta K., Psarianos C., Nigam P., Koutinas A.: *Application of Kluyveromyces marxianus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus and L. helveticus for sourdough bread making.* *Food Chem.*, 2008, **106**, 985-990.
- [10] PN-86/A-74032. Przetwory zbożowe. Mąka żytnia.
- [11] PN-ISO 3093/AK:1996. Zboża – oznaczanie liczby opadania.
- [12] PN-ISO 7973:2001. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe – oznaczanie lepkości mąki. Metoda z zastosowaniem amylografu.
- [13] Şimşek Ö., Con A., Tulumoglu Ş.: Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. *Food Control*, 2006, **17**, 263-270.
- [14] Słowik E.: Właściwości technologiczne i metody oceny żyta. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2005, **3**, 6-9.
- [15] Staszewska E., Janik M.: Zastosowanie kultur starterowych w piekarstwie. *Przegl. Piek. Cukier.*, 1999, **2**, 6-9.
- [16] Staszewska E., Piesiewicz H.: Kierowanie procesem fermentacji i kształtowanie smaku chleba. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2005, **12**, 2-5.
- [17] Włodarczyk M., Diowksz A.: Liofilizowana kultura starterowa do produkcji chleba. *Przegl. Piek. Cukier.*, 1998, **4**, 10.
- [18] Włodarczyk M., Diowksz A.: Piekarskie kultury starterowe – szansa zdrowotna i ekonomiczna. *Przegl. Piek. Cukier.*, 1998, **8**, 5-7.

INFLUENCE OF THE CONDITIONS OF SOURDOUGH PRODUCTION PROCESS ON THE RYE BREAD QUALITY

S u m m a r y


The objective of the study was to compare the quality of rye breads made of the dough developed using a three-phase method with various leavens, i.e. leavens from A and B bakeries, a leaven made in the laboratory (control sample), and a leaven made using a starter culture.

Under this study, the physical-chemical parameters of flour were determined (moisture content, acidity, protein content, falling number, and amylolytic properties), as well as the acidity of inter-products during each phase of the bread production. The dough made was baked at 230 °C for 35 min. Twelve (12) hours after the baking process accomplished, the yield and baking loss were calculated, the volume was measured and expressed in 100 g of bread, and the acidity was determined. Furthermore, the organoleptic evaluation of the breads was performed.

Based on the organoleptic evaluation and the values of physical-chemical characteristics, it was proved that the baking properties of the flour used were good. During the individual phases of the manufacturing process, differences in the acidity of dough occurred. The leaven from the A bakery and the active sourdough starter made thereof showed a higher acidity degree than the leaven and active sourdough starter developed under the laboratory method. On the other hand, the doughs prepared on the basis of leavens from the two bakeries, and the doughs with starter cultures had a doubled acidity level than the doughs made using the laboratory method.

The yield of bread doughs made using the leaven from the B bakery was the highest. The highest yield of bread was achieved in the case of dough made on the basis of starter culture. Moreover, the starter culture added caused the volume of 100 g of bread to increase.

Based on the study results, it was found that the application of starter cultures had an effect on the better quality of bread. The taste and flavour properties were improved, the bread volume increased, and the bread crumb showed a more approving texture.

Key words: rye bread, starter culture, three-phase method 

PRZEMYSŁAW KRAWCZYK, ALICJA CEGLIŃSKA, JULITA KARDIALIK

PORÓWNANIE WARTOŚCI TECHNOLOGICZNEJ ZIARNA ORKISZU Z PSZENICĄ ZWYCZAJNĄ

Streszczenie

W pracy porównano właściwości technologiczne ziarna orkiszu i pszenicy zwyczajnej. Materiał badawczy stanowiło ziarno orkiszu: niemieckiej odmiany Schwabenkorn i 3 rodów (STH 8, STH 11, STH 12) otrzymanych ze skrzyżowania pszenicy zwyczajnej z orkiszem oraz próbka handlowej pszenicy zwyczajnej, traktowana jako próba kontrolna. W ziarnie oznaczono: masę 1000 ziaren (MTZ), gęstość w stanie usypowym, szklistość, wilgotność, zawartość składników mineralnych w postaci popiołu, ilość i jakość glutenu oraz liczbę opadania. W mące oprócz analizy fizykochemicznej zbadano stopień uszkodzenia skrobi oraz właściwości farino- i alweograficzne. Próbny wypiek wykonano w elektrycznym piecu modułowym. Obliczono upiek i wydajność pieczywa oraz zmierzono jego objętość.

Stwierdzono, że ziarno rodów orkiszu zawiera więcej składników mineralnych w porównaniu z pszenicą zwyczajną. Mąka otrzymana z rodów orkiszu zawiera więcej glutenu, ale o niższej jakości. Badanie właściwości reologicznych wykazało krótszy czas stałości ciasta z orkiszu. Objętość uzyskanego pieczywa była skorelowana ze stopniem uszkodzenia skrobi.

Słowa kluczowe: orkisz, pszenica zwyczajna, wartość technologiczna, stopień uszkodzenia skrobi, jakość pieczywa

Wprowadzenie

Rozwój rolnictwa ekologicznego oraz poszukiwanie przez konsumentów żywności bogatej w składniki odżywcze stwarza ogromną szansę dla orkiszu jako zboża o wysokich walorach żywieniowych. Orkisz (*Triticum spelta*) jest podgatunkiem pszenicy zwyczajnej i należy do pszenic heksaploidalnych. Wyróżnia się cennymi właściwościami użytkowymi, takimi jak: zdolność wysokiego plonowania w niekorzystnych warunkach agrotechnicznych (uboga gleba, tereny podgórskie) oraz odporność na niską temperaturę i niektóre choroby. Z drugiej jednak strony orkisz wykazuje szereg cech typowych dla dzikich gatunków pszenicy: łamliwa osadka kłosowa (utrudniony

zbiór), ziarno ściśle otoczone plewkami (słaba wymłacalność) oraz podatność na wyleganie. Intensyfikacja produkcji zbóż przyczyniła się do zastąpienia orkiszu bardziej plennymi odmianami pszenicy zwyczajnej, ale o mniejszej zawartości niektórych składników odżywczych [4, 14, 15, 22].

Zainteresowanie orkiszem wynika także z możliwości wykorzystania go jako źródła genów odpowiedzialnych za wiele korzystnych cech, takich jak wysoka zawartość białka. Od kilku lat prowadzone są badania nad otrzymaniem odmian, które łączyłyby pozytywne cechy orkiszu i pszenicy zwyczajnej. Stąd pojawiła się konieczność gruntownego przebadania nowo powstałych rodów, aby te o najlepszej wartości technologicznej mogły być w przyszłości zarejestrowane jako odmiany [3, 11, 23].

Celem pracy było porównanie właściwości ziarna i mąki z orkiszu i pszenicy zwyczajnej oraz jakości uzyskanego pieczywa.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiło ziarno orkiszu niemieckiej odmiany Schwabenkorn i 3 rodów (STH 8, STH 11, STH 12) otrzymanych ze skrzyżowania pszenicy zwyczajnej z orkiszem oraz próbka handlowej pszenicy zwyczajnej. Próbki ziarna orkiszu pochodziły z Hodowli Roślin Strzelce ze zbiorów w 2007 roku.

W próbkach ziarna określano: masę 1000 ziaren (MTZ), gęstość w stanie usypowym, szklistość, wilgotność [12], zawartość związków mineralnych w postaci popiołu [18], ilość i jakość glutenu [16] oraz liczbę opadania [19]. Próbki ziarna przed przezieleniem w młynie Brabender Quadrumat Senior były dowilżane dwustopniowo w celu osiągnięcia wilgotności 13,5 %. W otrzymanych mąkach oznaczano: zawartość białka ogółem [8], ilość i jakość glutenu [16], wskaźnik sedymentacji [17], liczbę opadania [19] oraz stopnia uszkodzenia skrobi, stosując aparat Rapid F.T. firmy Chopin [7]. Do zbadania cech reologicznych ciasta wykorzystano alweograf firmy Chopin [20] i fari-nograf firmy Brabender [21].

Stosując metodę jednofazową, przygotowywano ciasto o wydajności 160 %, dodając 3 % drożdży i 1,5 % soli w odniesieniu do masy mąki. Fermentację ciasta prowadzono w temp. 28 °C przez 90 min, z przebicciem po 60 min. Następnie ciasto dzielono na kęsy o masie 250 g i wkładano do foremek. Po osiągnięciu przez ciasto dojrzałości piecowej (ok. 50 min) prowadzono wypiek w modułowym piecu piekarskim firmy Sveba Dahlen w temp. 235 °C przez 30 min. Po wyjęciu z pieca pieczywo ważono i pozostawiano do wystygnięcia na 24 h. Po tym czasie mierzono objętość pieczywa, obliczono także upiek i wydajność.

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

Dorodność ziarna, czyli stopień jego wypełnienia substancjami zapasowymi jest charakteryzowana przez MTZ [12]. Wartość tej cechy w ziarnie badanych zbóż zawierała się w przedziale 38,7 – 52,7 g (tab. 1). W takim przedziale mieściły się też MTZ próbek orkiszu badanych przez Sulewską i wsp. [22]. Natomiast Waga i wsp. [23] oraz Capouchova [5] uzyskali większe MTZ orkiszu, wynoszące 52 – 54 g. Wszystkie badane rody orkiszu charakteryzowały się istotnie mniejszą MTZ w porównaniu z odmianą Schwabekorn. Natomiast jeden spośród badanych rodów (STH 11) wykazywał większą MTZ niż pszenica zwyczajna.

Tabela 1

Charakterystyka cech fizykochemicznych ziarna orkiszu i pszenicy zwyczajnej.
Profile of physicochemical characteristics of spelt and common wheat grains.

Cecha Characteristic	Pszenica zwyczajna Common wheat	Pszenica orkisz / Spelt wheat				NIR HSD
		STH 8	STH 11	STH 12	Schwabekorn	
Masa 1000 ziarn Weight of 1000 grains [g]	39,3 ^{ab}	38,7 ^a	43,9 ^c	39,7 ^b	52,7 ^d	0,8
Gęstość w stanie usypowym Powder density, [kg/hl]	76,5 ^d	78,5 ^e	75,0 ^b	75,6 ^c	72,3 ^a	0,2
Szklistość ziarna Glassiness of grain [%]	54,3 ^{bc}	45,7 ^b	59,0 ^c	89,7 ^d	23,0 ^a	10,9
Wilgotność Moisture content [%]	8,3 ^a	10,7 ^d	9,6 ^b	9,8 ^c	11,0 ^e	0,1
Zawartość popiołu ogółem, Total ash content [% d.m.]	1,86 ^a	1,96 ^{ab}	2,03 ^{ab}	2,19 ^b	2,16 ^b	0,23
Gluten mokry Wet gluten [%]	32,3 ^a	32,0 ^a	36,7 ^b	41,2 ^c	42,9 ^c	2,9
Indeks glutenu Gluten index	46 ^d	11 ^a	30 ^c	23 ^b	31 ^c	6
Liczba opadania Falling number [s]	301 ^c	272 ^{ab}	266 ^{ab}	287 ^{bc}	259 ^a	24

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a - e – wartości średnie w tym samym wierszu oznaczone tą samą literą w indeksie nie różnią się statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$) / mean values in the same row denoted by the same letter in superscript are not statistically significantly different ($\alpha = 0.05$).

NIR – najmniejsza istotna różnica / the least significant difference.

Ziarno badanych rodów orkiszu wykazywało większą gęstość w stanie usypowym niż z odmiany Schwabekorn. Pod względem tej cechy rody orkiszu były bardziej zbliżone do pszenicy zwyczajnej.

Szklistość ziarna pozwala wstępnie wnioskować o jego wartości technologicznej [12]. Biorąc pod uwagę tę cechę ziarna najkorzystniejsze właściwości wykazywał ród orkiszu STH 12 (89,7 %). Szklistość ziarna tego rodu była istotnie większa zarówno od ziarna odmiany orkiszu Schwabekorn, jak i pszenicy zwyczajnej.

Zawartość związków mineralnych, w postaci popiołu, w ziarnie nie wykazywała istotnych różnic pomiędzy badanymi rodami a odmianą i zawierała się ona w przedziale 1,96 – 2,19 %. Ród STH 12 oraz odmiana Schwabekorn wykazywały istotnie większą, w porównaniu z pszenicą zwyczajną, zawartość popiołu w ziarnie. Wartości ponad 2 % zawartości składników mineralnych w ziarnie orkiszu otrzymali także: Moudry i wsp. [13], Loje i wsp. [9], Marconi i wsp. [10].

Największa ilość glutenu występowała w ziarnie orkiszu rodu STH 12 i była zbliżona do ilości glutenu wymytego z ziarna odmiany Schwabekorn. Istotnie mniejszą ilość glutenu otrzymano z rodu orkiszu STH 8 i nieróżniącą się od ilości uzyskanej z pszenicy zwyczajnej. Capouchova [5] oraz Marconi i wsp. [10] otrzymali z orkiszu około 40 % glutenu. Najwyższą jakością glutenu wyróżniała się pszenica zwyczajna (indeks glutenu 46). Wszystkie rody orkiszu i odmiana Schwabekorn wykazywały niższą jakość glutenu.

Z wyjątkiem rodu STH 12 pozostałe rody i odmiana orkiszu wykazywały wyższą aktywność amylolityczną w porównaniu z pszenicą zwyczajną.

Z ziarna orkiszu uzyskano mniejsze wyciągi mąki niż z pszenicy zwyczajnej (tab. 2). Wyciąg mąki z ziarna orkiszu zawierał się w przedziale 73,7 – 75,4 %. W zbliżonym przedziale mieściły się wyciągi mąki z orkiszu otrzymane przez Abdel-Aal i wsp. [1].

W przedstawionych badaniach ilość wymytego z mąki glutenu była skorelowana z zawartością w niej białka. Z mąki orkiszowej, o największej zawartości białka (STH 12 i Schwabekorn), uzyskano najwięcej glutenu. W badanych mąkach z orkiszu ilość wymytego glutenu była istotnie większa niż w przypadku mąki z pszenicy zwyczajnej. Achremowicz i wsp. [2] uzyskali z odmian orkiszu zawartość białka mieszczącą się w przedziale 11,9 – 13,4 %, natomiast glutenu mokrego 34 - 38 %. Na większe ilości glutenu mokrego w orkiszu wskazują badania Capouchovej [5].

Istotnie większe wartości wskaźnika sedymentacji uzyskano w mące z pszenicy zwyczajnej niż w mące z orkiszu, wskazuje to na lepszą wartość wypiekową mąki z pszenicy zwyczajnej. Potwierdzeniem tej zależności są także większe wartości indeksu glutenu oznaczonego w mące z pszenicy zwyczajnej. Marconi i wsp. [10] oznaczyli w orkiszu wskaźnik sedymentacji powyżej 42 cm³.

Tabela 2

Charakterystyka cech fizykochemicznych mąk z orkiszu i pszenicy zwyczajnej.
Profile of the physicochemical characteristics of spelt and common wheat flours.

Cecha Characteristic	Pszenica zwyczajna Common wheat	Pszenica orkisz / Spelt wheat				NIR HSD
		STH 8	STH 11	STH 12	Schwabenkorn	
Wyciąg mąki Flour extract [%]	76,9	73,7	74,9	75,4	73,8	n.o. n.d.
Zawartość białka ogółem Total protein content [% d.m.]	13,1 ^a	13,1 ^a	15,0 ^b	16,4 ^c	16,4 ^c	0,3
Gluten mokry Wet gluten [%]	31,4 ^a	35,0 ^b	39,3 ^c	44,5 ^d	45,9 ^d	2,6
Indeks glutenu Gluten index	95 ^c	46 ^a	61 ^b	58 ^b	44 ^a	6
Wskaźnik sedymentacji Sedimentation value [cm ³]	44 ^c	30 ^a	39 ^b	40 ^b	38 ^b	2
Liczba opadania Falling number [s]	296 ^{bc}	288 ^{ab}	331 ^d	313 ^{cd}	270 ^a	23
Stopień uszkodzenia skrobi Damage degree of starch, [UCD]	19,3 ^c	16,3 ^b	17,5 ^b	17,7 ^b	13,9 ^a	1,3
Indeks jakości skrobi Starch quality index	101 ^a	100 ^a	105 ^a	113 ^b	99 ^a	8

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

n.o. – nie oznaczano / not determined

Liczba opadania jest wyrażeniem aktywności enzymów amylolitycznych zawartych w mące, czyli ich zdolność rozkładania skrobi do cukrów prostych, które mogą brać czynny udział w procesie fermentacji ciasta. Mąka przeznaczona do wypieku pieczywa powinna charakteryzować się średnią aktywnością amylolityczną, najlepiej w zakresie 200 – 280 s [6]. Taką aktywnością enzymów amylolitycznych wyróżniały się mąki z orkiszu rodu STH 8 i odmiany Schwabenkorn. Pozostałe rody orkiszu miały niższą aktywność amylolityczną, na co wskazują liczby opadania powyżej 300 s. Achremowicz i wsp. [12] otrzymali liczby opadania z mąki odmian orkiszu w przedziale 288 – 343 s.

Stopień uszkodzenia skrobi, tak mechaniczny, jak i enzymatyczny, jest uważany za jeden z ważniejszych kryteriów oceny jakości mąki do wypieku pieczywa. Wpływa on bowiem na wodochłonność mąki, fermentację ciasta oraz strukturę miększu pieczywa [7]. Spośród badanych mąk mniejszym uszkodzeniem skrobi charakteryzowały się mąki z orkiszu, przy czym skrobia odmiany Schwabenkorn wykazywała istotnie najmniejszy stopień uszkodzenia.

Tabela 3

Charakterystyka cech reologicznych i wypiekowych mąk z orkiszu i pszenicy zwyczajnej.
Profile of rheological and baking characteristics of spelt and common wheat flours.

Cecha Characteristic	Pszenica zwyczajna Common wheat	Pszenica orkisz / Spelt wheat			
		STH 8	STH 11	STH 12	Schwabenkorn
Właściwości farinograficzne / Farinographic properties					
Wodochłonność mąki Water absorbability of flour [%]	60,1	57,9	61,8	62,5	59,7
Czas rozwoju ciasta Time of dough development [min]	6,3	3,7	4,7	5	3,2
Czas stałości ciasta Dough stability time [min]	7,2	4,4	2,7	4,6	2
Rozmiękczenie ciasta [j. Br] Dough softening [BU]	10	40	34	17	42
Liczba jakości Quality number	200	90	93	173	69
Właściwości alveograficzne / Alveographic properties					
Praca odkształcenia Deformation work, W[10E-4 J]	229	85	175	219	97
Rozciągliwość ciasta, L Dough extensibility, L [mm]	71	111	142	154	129
P/L	1,23	0,3	0,35	0,36	0,26
Właściwości wypiekowe / Baking properties					
Wydajność pieczywa Baking yield [%]	132 ^a	135 ^b	135 ^b	134 ^b	132 ^a
Upiek Baking loss [%]	11,4 ^d	9,5 ^{ab}	9,3 ^a	10,6 ^{bc}	11,9 ^d
Objętość pieczywa Bread Volume [cm ³ / 100g]	315 ^d	266 ^a	279 ^{bc}	287 ^c	270 ^{ab}

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

Z analizy farinograficznej wynika, że wodochłonność badanych mąk zawierała się w przedziale 57,9 – 62,5 % (tab. 3). Wodochłonność mąki nie rosła proporcjonalnie wraz ze stopniem uszkodzenia skrobi. Krótszym czasem rozwoju i stałości ciasta charakteryzowały się mąki z orkiszu. Liczba jakości potwierdza mniejszą wartość wypiekową mąki z orkiszu. Najbardziej zbliżoną jakością do pszenicy zwyczajnej charakteryzowała się mąka z rodzaju orkiszu STH 12. Potwierdza to także parametr analizy alwe-

ograficznej „W”. Ciasta otrzymane z mąki orkiszu wykazywały większą rozciągliwość niż z pszenicy zwyczajnej (dwukrotnie większa wartość L).

Pieczywo z pszenicy zwyczajnej oraz z ziarna odmiany Schwabenkorn charakteryzowało się mniejszą wydajnością oraz wyższym upiekaniem w porównaniu z pieczywem z rodów orkiszu. Objętość pieczywa wykazywała podobną tendencję, jak stopień uszkodzenia skrobi, tzn. większą objętość wykazywało pieczywo z mąki o większym stopniu uszkodzenia skrobi.

Wnioski

1. Ziarno badanych rodów orkiszu wyróżniało się od pszenicy zwyczajnej większą zawartością składników mineralnych (więcej popiołu ogółem) oraz niższą jakością glutenu (mniejsze wartości indeksu glutenu).
2. Rody orkiszu w porównaniu z pszenicą zwyczajną charakteryzowały się słabszymi właściwościami przemiałowymi, o czym świadczą mniejsze wyciągi mąki.
3. Mąka z rodów orkiszu wyróżniała się większą ilością wymywanego glutenu, lecz o niższej jego jakości (mniejsze wartości indeksu glutenu)
4. Właściwości reologiczne ciasta z rodów orkiszu były słabsze (krótsza stałość oraz większe rozmięczenie i rozciągliwość ciasta) w porównaniu z ciastem z pszenicy zwyczajnej.
5. Z rodów orkiszu uzyskano mniejszą objętość pieczywa niż z pszenicy zwyczajnej. Przyczyną tego mogły być słabsze właściwości glutenu oraz mniejszy stopień uszkodzenia skrobi.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28-29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Abdel-Aal E.-S. M., Hucl P., Sosulski F. W., Bhirud P. R.: Kernel, milling and backing properties of spring-type spelt and einkorn wheats. *J Cereal Sci.*, 1997, **26**, 363-370.
- [2] Achremowicz B., Kulpa D., Mazurkiewicz J.: Technologiczna ocena ziarna pszenic orkiszowych. *Zesz. Nauk. AR Kraków*, 1999, **360**, 11-17.
- [3] Bertin P., Gregoire D., Massart S., de Froidmont D.: Genetic diversity among European cultivated spelt revealed by microsatellites. *Theor. Appl. Genet.*, 2001, **102**, 148-156.
- [4] Burgos St., Stamp P., Schmid J.E.: Agronomic and physiological study of cold and flooding tolerance of spelt (*Triticum spelta* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Agronomy & Crop Sci.*, 2001, **187**, 195-202.
- [5] Capouchová I.: Technological quality of spelt (*Triticum spelta* L.) from ecological growing system. *Sci. Agric. Bohem.*, 2001, **32**, 307-322.
- [6] Gąsiorowski H.: Pszenica – chemia i technologia. Praca zbiorowa. PWRiL, Poznań 2004, s.118-121, s.367-370.

- [7] Jurga R.: Wartość wypiekowa mąki pszennej oceniana za pomocą stopnia uszkodzenia skrobi. *Przeg. Zboż. Młyn.*, 1998, **11**, 4-5.
- [8] Klepacka M.: Analiza żywności. Oznaczanie zawartości białka metodą Kjeldahla. Praca zbiorowa. Wyd. SGGW-AR, Warszawa 2003, s.75-77.
- [9] Loje H., Moller B., Laustsen A.M., Hansen A.. Chemical composition, functional properties and sensory profiling of einkorn (*Triticum monococcum L.*). *J. Cereal Sci.*, 2002, **37**, 231-240.
- [10] Marconi E., Carcea M., Schiavone M., Cubadda R.: Spelt (*Triticum spelta L.*) pasta quality: Combined effect of flour properties and drying conditions. *Cereal Chem.*, 2002, **79**, 634-639.
- [11] Messner M.M., Keller M., Zanetti S., Keller B.: Genetic linkage map of wheat x spelt cross. *Theor. Appl. Genet.*, 1999, **98**, 1163-1170.
- [12] Mitek M., Słowiński M.: Wybrane zagadnienia z technologii żywności. *Technologia zbóż*. Wyd. SGGW, Warszawa 2006, s.210-270.
- [13] Moudry J., Dvoracek V.: Chemical composition of grain of different spelt varieties. *Rostlinna Vyroba*, 1999, **12**, 533-538.
- [14] Onoshi I., Hongo A., Sasakuma T., Kawahara T., Kato K., Miura H.: Variation and segregation for rachis fragility in spelt wheat, *Triticum spelta L.* *Gen. Res. Corp Evo.*, 2006, **53**, 985-992.
- [15] Pałys E., Kuraskiewicz R.: Wpływ terminów siewu na wybrane cechy i plon ziarna orkiszu (*Triticum aestivum ssp. Spelta*). *Biuletyn IHAR*, 2003, **228**, 71-80.
- [16] PN-93/A-74042/03 Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie glutenu mokrego za pomocą urządzenia mechanicznego. Mąka pszenna.
- [17] PN-93/A-74013 Pszenica. Oznaczenie wskaźnika sedymentacji. Test Zeleny'ego.
- [18] PN-ISO 2171: Ziarno zbóż i przetworzy zbożowe. Oznaczanie popiołu całkowitego.
- [19] PN-ISO 3093:1996/AZ1:2000 Zboża – oznaczanie liczby opadania w aparacie Falling Number 1400.
- [20] PN-ISO 5530-4:2003 Mąka pszenna. Fizyczne właściwości ciasta – oznaczanie właściwości reologicznych za pomocą alweografu w aparacie Chopin.
- [21] PN-ISO 5530-1:1999 Mąka pszenna. Fizyczne właściwości ciasta – oznaczanie wodochłonności i właściwości reologicznych za pomocą farinografu.
- [22] Sulewska H.: Wpływ wybranych zabiegów agrotechnicznych na plonowanie i skład chemiczny ziarna formy ozimej orkiszu pszennego (*Triticum aestivum ssp. spelta*). *Pamięt. Puł.*, 2004, **135**, 286-293.
- [23] Waga J., Węgrzyn S., Boros D., Cygankiewicz A.: Wykorzystanie orkiszu (*Triticum aestivum ssp. spelta*) do poprawy właściwości odżywczych pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum ssp. vulgare*). *Biuletyn IHAR*, 2002, **221**, 3-16.


COMPARING THE TECHNOLOGICAL VALUE OF SPELT GRAINS TO COMMON WHEAT GRAINS

Summary

In this paper, some technological properties of spelt and common wheat grains were compared. The research materials consisted of the spelt grain of 'Schwabenkorn' German cultivar, of three strains (STH 8, STH 11, and STH 12) obtained by crossing common wheat and spelt, and of a commercial sample of common wheat assumed to be a control sample. In the grain, the following was determined: weight of 1000 grains (TGM), powder density, glassiness, moisture content, content of mineral components in the form of ash, quantity and quality of gluten, and falling number. Besides physicochemical properties of the

flour, the starch damage degree and rheological & baking properties (farino- and alveographic properties) were analysed. The control baking was performed in an electric modular oven. The baking loss and the baking yield were calculated; the bread volume was measured.

It was found that the spelt grain contained more mineral components compared to the common wheat. The flour obtained from spelt grain contained more gluten, but the quality of this gluten was lower. The analysis of rheological properties proved a shorter stability time of spelt dough. The bread volume was correlated with the damage degree of starch.

Key words: spelt, common wheat, technological value, damage degree of starch, bread quality 

KAROLINA CHRISTA, MARIA SORAL-ŚMIETANA

**WPLYW PROCESU PRAŻENIA NA DOSTĘPNOŚĆ
ENZYMATYCZNĄ BIAŁEK ZIARNIAKÓW GRYKI ZWYCZAJNEJ
(*FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH)**

Streszczenie

Białka stanowią podstawowy składnik budulcowy wszystkich tkanek ustroju człowieka i wielu czynnych biologicznie związków, jak enzymy, hormony, przeciwciała. Ziarniaki gryki są źródłem wysokiej jakości białka o dobrze zbilansowanym składzie aminokwasowym. Zawartość białek w ziarniakach gryki kształtuje się w przedziale 8,5 - 19 % s.m.

Celem badań było określenie wpływu procesu prażenia (temp. 60 °C, 30 min, wilgotność 14,5 %) na zakres enzymatycznego trawienia białek *in vitro*. Białka wyodrębniono z obłuszczonych ziarniaków gryki przed i po prażeniu. Analiza strawności preparatów białek gryki prowadzona w środowisku symulującym fizjologiczne warunki trawienia białek w dwunastnicy wykazała, że zastosowany proces prażenia wpłynął na poprawę strawności badanych białek gryki: 82,7 % - przed prażeniem i 85,5 % - po prażeniu. Jednak ilość wyodrębnionych białek w preparacie z ziarniaków po procesie prażenia uległa znacznemu zmniejszeniu. Analizując obrazy rozdziału elektroforetycznego białek ziarniaków przed i po procesie prażenia, stwierdzono znaczący udział frakcji o masie cząsteczkowej $22 \cdot 10^3$ Da oraz frakcji w zakresie $55 \cdot 10^3$ - $32 \cdot 10^3$ Da, lecz wskutek procesu prażenia odnotowano znaczną degradację frakcji o masie 55-103 Da.

Słowa kluczowe: białka gryki, prażenie, strawność, elektroforeza SDS - PAGE

Wprowadzenie

Białka są składnikami pokarmowymi, niezbędnymi do prawidłowego rozwoju i zdrowia organizmu. Jakość białka jest determinowana m.in. przez stopień jego enzymatycznego rozkładu podczas procesów trawienia (strawność). Nawet najbardziej wartościowe białko nie zostanie wykorzystane przez organizm, jeżeli nie ulegnie całkowitemu strawieniu, a uwolnione aminokwasy nie zostaną wchłonięte w jelicie cienkim. Strawność białek zależy nie tylko od ich pochodzenia, ale także od składu chemicznego żywności, tj. zawartości błonnika pokarmowego, obecności inhibitorów enzymów

Mgr K. Christa, prof. dr hab. M. Soral-Śmietana Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk, ul. J. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

trawiennych, stopnia granulacji produktu, rodzaju obróbki stosowanej w procesach technologicznych [3, 8]. Na strawność białek ma też wpływ stan organizmu konsumenta, jego wiek, stan uzębienia, sprawność układu pokarmowego. Jednak strawność to nie jedyny wskaźnik stanowiący o wartości odżywczej białek. Poza podatnością białka na hydrolizę określa się również jego przyswajalność. Obniżenie przyswajalności białek może być powodowane m.in. tworzeniem się kompleksów białek z kwasami fitynowymi [19].

Zawartość białka w ziarniakach gryki kształtuje się w przedziale 8,5 - 19 % s.m. Biorąc pod uwagę ilość białka w ziarniakach gryki, należy podkreślić stabilność gatunkową, na którą wskazuje porównanie wyników aktualnych danych trzech polskich odmian gryki z wynikami handlowych ziarniaków gryki polskiej i brazylijskiej analizowanych do 1982 r. [14, 15]. Cenną właściwością białek gryki jest zbilansowany skład aminokwasowy i zawartość egzogennej lizyny ok. 6 g/16 g N, która jest pierwszym aminokwasem ograniczającym białek zbóż [20].

Celem badań było określenie wpływu procesu prażenia na białka ziarniaków gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum* Moench) w warunkach modelowych oraz określenie *in vitro* dostępności enzymatycznej wyodrębnionych białek.

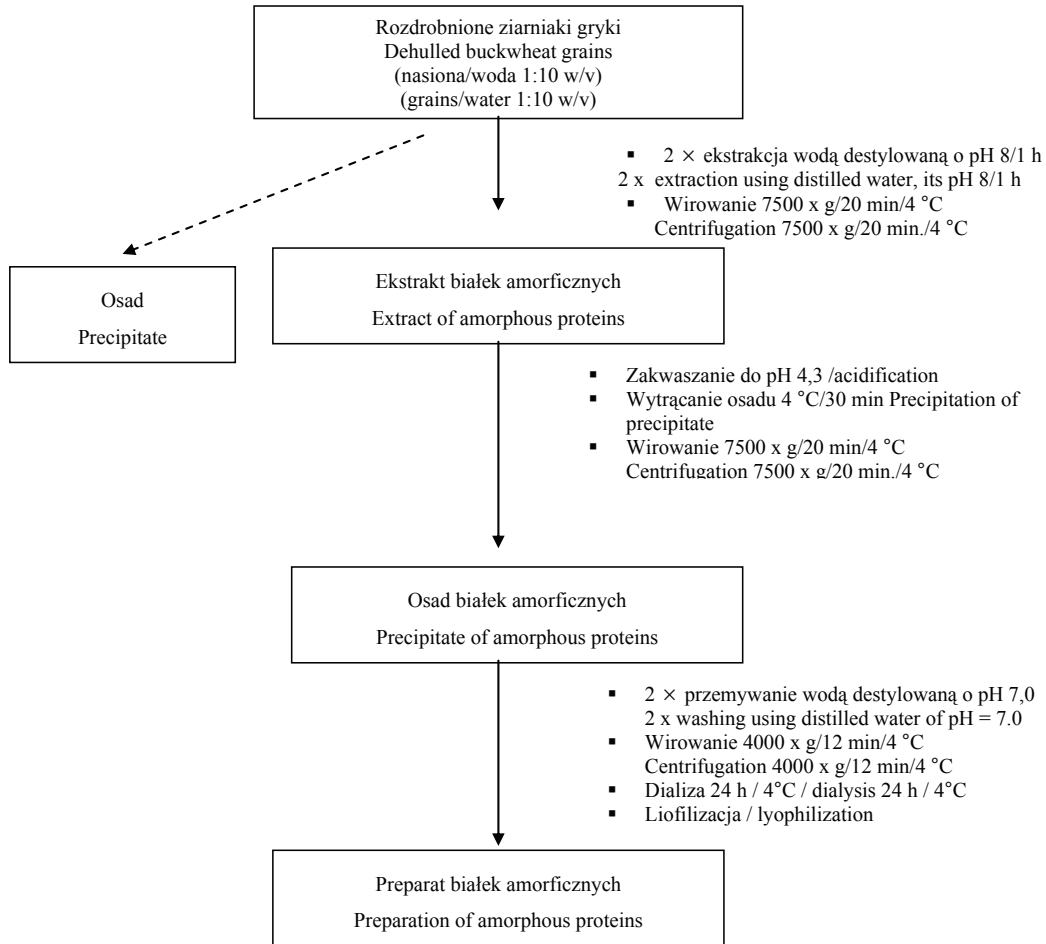
Material i metody badań

Materiałem badań były preparaty białkowe izolowane z obłuszczonych (GO) oraz obłuszczonych i prażonych (GP) ziarniaków gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum* Moench), krajowej odmiany Kora, pochodzącej ze zbiorów Stacji Hodowli Roślin w Palikijach z 2005 r. Proces prażenia prowadzono w modelowych badaniach laboratoryjnych. Procesowi poddano obłuszczone mechanicznie ziarniaki gryki o wilgotności 14,5 %, prowadząc prażenie w temp. 160 °C przez 30 min w komorze badań cieplnych KBC 65 W.

Izolacja białek

Proces izolacji białek z ziarniaków gryki prowadzono w środowisku alkalicznym, wytrącając je z ekstraktu w punkcie najmniejszej rozpuszczalności, stosując metodę Kayashita i wsp. [9] (rys.1).

Skład chemiczny badanego materiału określano, stosując standardowe metody analityczne i oznaczano: zawartość skrobi ogółem z wcześniejszą ekstrakcją sacharydów w 70 % metanolu [1], zawartość związków mineralnych w postaci popiołu całkowitego [2] oraz zawartość białka ogółem metodą Kjeldahla [2].



Rys. 1. Wyodrębnianie preparatów białkowych z obłuszczonych ziarniaków gryki.

Fig. 1. Isolation of protein preparations from dehulled buckwheat grains.

Źródło: Source: [9].

Rozdział elektroforetyczny SDS-PAGE

Rozdziały elektroforetyczne prowadzono w 12,5 % żelu poliakrylamidowym (akrylamid: bis-akrylamid w proporcji 30: 0,8 [%]) wg metody Laemmli [11]. Do określenia mas cząsteczkowych używano następujących wzorców: $66 \cdot 10^3$ Da - albumina; $45 \cdot 10^3$ Da - owoalbumina; $36 \cdot 10^3$ Da - dehydrogenaza 3-fosforogliceroaldehydu; $29 \cdot 10^3$ Da - anhidraza węglowa; $26,6 \cdot 10^3$ Da - izomeraza trifosforanowa;

$24 \cdot 10^3$ Da - trypsynogen; $20,1 \cdot 10^3$ Da - inhibitor trypsyny; $16,9 \cdot 10^3$ Da - mioglobina; $14,2 \cdot 10^3$ Da - α -laktoalbumina; $6,5 \cdot 10^3$ Da - aprotynina; $3,49 \cdot 10^3$ Da - insulina; $1,42 \cdot 10^3$ Da - bakteriocyna. Rozdziały SDS-PAGE prowadzono przy stałym natężeniu 20 mA przez 1,5 h. Żele po elektroforezie barwiono roztworem barwiącym z Coomassie Brilliant Blue R-250 (CBB).

Analiza densytometryczna

Uzyskane elektroforegramy preparatów białek gryki poddawano analizie densytometrycznej wykonywanej przy użyciu programu komputerowego TotalLab. Na podstawie uzyskanych wykresów, odpowiadających gęstości optycznej analizowanych preparatów białkowych, obliczano masy cząsteczkowe separowanych frakcji białkowych oraz ich udział procentowy.

Strawność in vitro

Strawność *in vitro* oznaczano metodą wieloenzymatyczną Hsu i wsp. [6]. Stosowano następujące enzymy: trypsynę 16,600 jednostek/mg białka (SIGMA T-0303), chymotrypsynę 76 jednostek/mg białka (SIGMA C-4129) oraz peptydazę 0,102 jednostek/g białka (SIGMA P-7500). Roztwór preparatów białek (50 ml; 6,25 mg białka/ml) umieszczano w łaźni wodnej o temp. 37 °C i mieszając doprowadzono do pH 8. Dodawano 5 ml roztworu mieszaniny trzech enzymów hydrolizujących (pH 8). Obniżenie pH obserwowano w ciągu 10-minutowej proteolizy preparatów białkowych, a strawność *in vitro* [%] obliczano po 10 min doświadczenia wg równania:

$$y = 201,464 - 18,103A$$

gdzie:

y – strawność *in vitro*,

A – pH próbki po 10 min.

Wszystkie oznaczenia wykonano co najmniej w trzech powtórzeniach, przyjmując za miarę zmienności odchylenie standardowe. Wyniki opracowano za pomocą pakietu Statistica for Windows 1997. Odchylenia standardowe wyznaczono z wyników dwóch niezależnych prób. Istotność różnic wartości średnich szacowano testem t-Studenta ($\alpha \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Skład chemiczny preparatów białkowych

Skład chemiczny preparatów białek wyodrębnionych z naturalnych, obłuszczonego ziarniaków gryki oraz obłuszczonych ziarniaków poddanych procesowi prażenia

Tabela 1

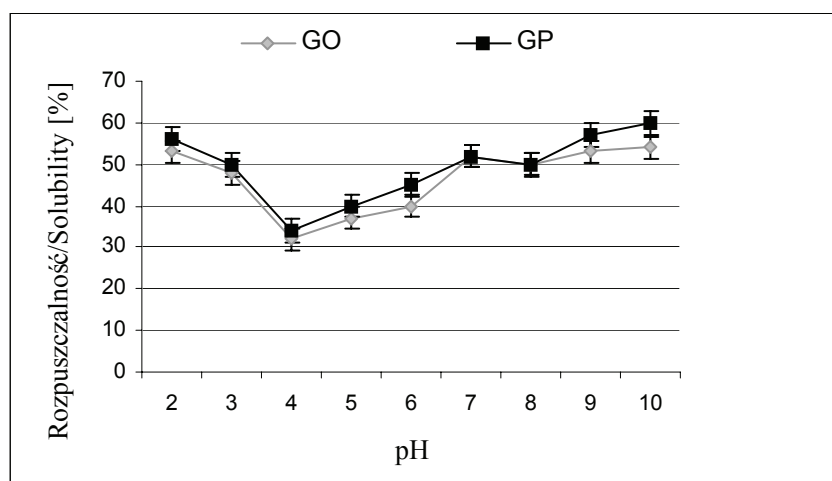
Skład chemiczny preparatów białek gryki.

Chemical composition of preparations of buckwheat proteins.

Preparaty białek gryki Preparations of buckwheat proteins	Zawartość popiołu Ash content [% s.m./ %d.m.]	Zawartość białka ogółem Content of total proteins [% s.m./ %d.m.]	Zawartość skrobi ogółem Content of total starch [% s.m./ %d.m.]
GO	0,22 ^a ± 0,03	83,38 ^a ± 2,07	16,29 ^a ± 3,83
GP	0,23 ^a ± 0,01	49,13 ^b ± 1,68	39,60 ^b ± 1,92

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a ,b,... - wartości średnie w kolumnie oznaczone w indeksie tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,5$) / mean values in the column and denoted by the same letter in superscript do not statistically significantly differ ($p > 0.5$).



Rys. 2. Rozpuszczalność preparatów białek gryki.

Fig. 2. Solubility of preparations of buckwheat proteins.

przedstawiono w tab. 1. Do izolacji zastosowano metodę wytrącania w punkcie najmniejszej rozpuszczalności: GO - 32 %, GP - 34 % (rys. 2), co odpowiada wartości $\text{pH} = 4,3$. Preparaty białkowe z natywnych obłuszczonych ziarniaków cechowały się znaczną koncentracją białka ok. 83 % s.m. Stężenie to świadczy o wysokiej wydajności zastosowanej metody izolacji i pozwala zaliczyć uzyskany preparat do grupy koncentratów białkowych. Wyniki izolacji uzyskane w tych badaniach są porównywalne z niektórymi wynikami z piśmiennictwa, które wskazują, że gryczane koncentraty

białkowe zawierają powyżej 80 % białka [17, 18]. Jednakże Tomotake i wsp. [19] oraz Zheng i wsp. [22] uzyskali preparaty białek gryczanych o stężeniu czystego składnika ok. 65 %. Stwierdzono, że zastosowany proces termiczny miał istotny wpływ na zawartość białka ogółem w tych preparatach. Uzyskane z prażonych ziarniaków gryki preparaty białek zawierały ok. 49 % białka ogółem oraz charakteryzowały się istotnie większą zawartością skrobi ogółem – ok. 40 %. Zatem prażenie wywołało zmiany denaturacyjne w strukturze matrycy białkowej ziarniaków i ograniczenie rozpuszczalności białek lub powstanie związków kompleksowych, co utrudniło izolację białek. Wiązało się to również z możliwym indukowaniem kompleksowania biopolimerów, białek oraz skrobi bądź też białek z innymi składnikami o mniejszej cząsteczce niż skrobia, wywołane chemiczno-biochemicznymi przemianami prowokowanymi przez czynniki fizyczne podczas obróbki technologicznej. Zawartość związków mineralnych w postaci popiołu była zbliżona w obu preparatach.

Strawność in vitro wyodrębnionych białek gryki

Trawienie białek zaczyna się w żołądku, gdzie komórki gruczołowe wydzielają nieczynny enzym pepsynogen. Komórki okładzinowe wydzielają kwas solny, w obecności którego pepsynogen przekształca się w postać czynną - pepsynę. W jelicie cienkim działają trypsyna i chymotrypsyna, które rozkładają cząsteczki polipeptydów do tripeptydów i dipeptydów. Te z kolei rozkładane są przez peptydazy ściany jelita cienkiego do aminokwasów.

Dane literaturowe często wskazują na relatywnie niską strawność białek gryki, tłumacząc to obecnością inhibitorów trypsyny, błonnika i tanin [8, 9, 19]. Jednak uzyskane w niniejszym doświadczeniu wyniki nie potwierdzają tego faktu. Strawność preparatów białek wyodrębnionych z ziarniaków gryki (GO) przed obróbką termiczną była wysoka i wynosiła ok. 83 %. Podobne wyniki przedstawił Tang [17], uzyskując strawność preparatów białek gryki na poziomie 79,6 %, przewyższającą strawność preparatów białek soi (75,2 %). Zastosowany w badaniach proces prażenia obłuszczonych ziarniaków gryki zwiększył strawność preparatów białkowych do ok. 85 % (tab. 2). Dowodzi to, że temperatura 160°C przy wilgotności ziarniaków gryki 14,5 % powoduje częściowe rozfałdowanie łańcucha polipeptydowego i udostępnienie wiązań podatnych na działanie trypsyny. Cechą szczególną ziarniaków gryki jest znacząca zawartość związków fenolowych [16] łączących się specyficznym sposobem z białkami, które mogą zmniejszać ich dostępność enzymatyczną. Należą do nich m.in.: kwasy fenolowe, skondensowane taniny, fitosterole [7]. Poprawa strawności może być zatem spowodowana częściową redukcją flawonoidów, tanin, kwasów fenolowych pod wpływem prażenia oraz termiczną dezaktywacją inhibitora trypsyny. Wpływ proteolizy w przeprowadzonym doświadczeniu zaznaczył się już w ciągu pierwszych 15 s działania mieszaniny enzymów hydrolizujących i zaobserwowano wyraźną

zmianę wartości pH medium w kierunku obojętnego (rys. 3). Preparaty białek gryki po prażeniu charakteryzowały się wyższą strawnością, osiągając po 10 min proteolizy wartość 85,5 % (tab. 2). Warto jednak zaznaczyć, że na skutek procesu cieplnego nastąpiły wyraźne oddziaływania typu białka - polisacharydy, w wyniku których ilość wyodrębnionego białka w preparacie uległa znacznemu zmniejszeniu, podwoiła się natomiast ilość skrobi w porównaniu z preparatem białkowym przed obróbką (tab. 1.). Należy zatem podkreślić, że wprowadzie efekt hydrolityczny i dostępność enzymatyczna były lepsze, lecz substratu białkowego było istotnie mniej.

Tabela 2

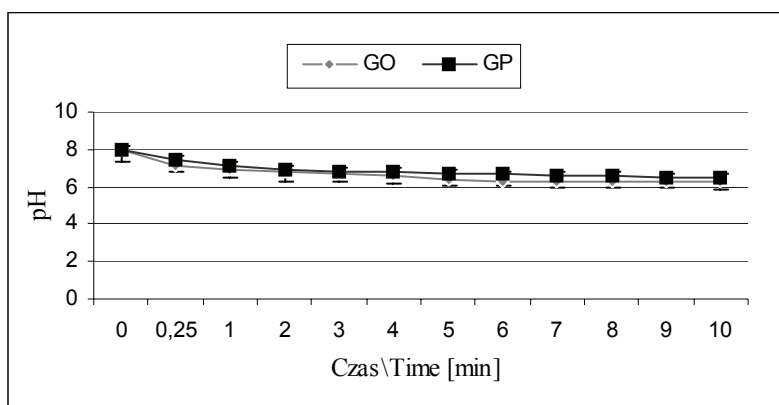
Strawność *in vitro* preparatów białek gryki.

In vitro digestibility of preparations of buckwheat proteins.

Preparaty białek gryki Preparations of buckwheat proteins	Strawność <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> digestibility [%]
GO	82,69 ^a ± 0,18
GP	85,49 ^b ± 0,62

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, ... - wartości oznaczone w indeksie inną literą różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,5$) / mean values denoted by a different letter in superscript differ statistically significantly ($p > 0.5$).

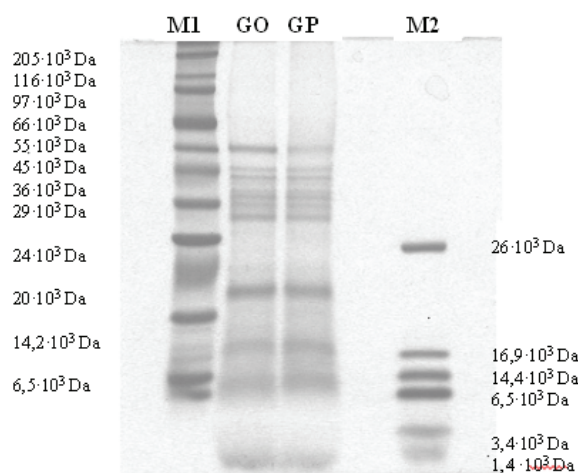


Rys. 3. Zmiany pH preparatów białek gryki podczas 10-minutowej proteolizy *in vitro*.

Fig. 3. Changes in pH of preparations of buckwheat proteins during the *in vitro* proteolysis lasting for 10 minutes.

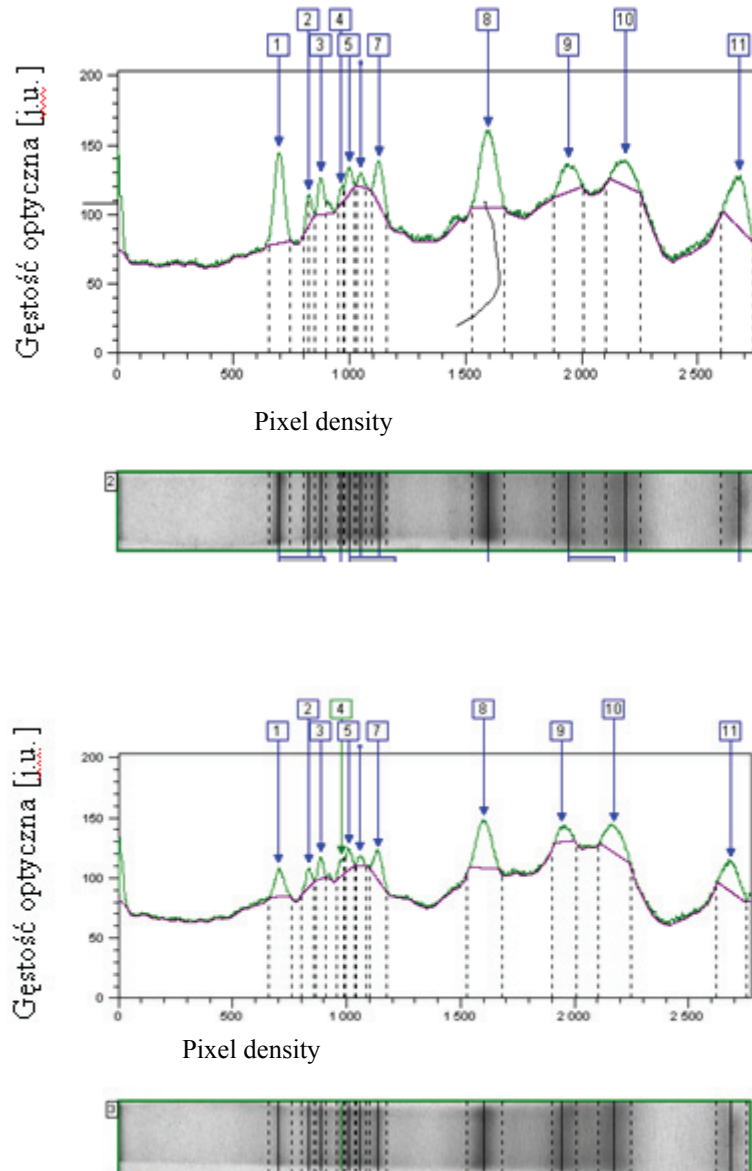
Rozdział elektroforetyczny SDS-PAGE preparatów białek gryki

Analizując wykresy gęstości optycznej białek ziarniaków przed i po procesie prażenia (rys. 4), stwierdzono znaczący udział frakcji o masie cząsteczkowej $22 \cdot 10^3$ Da, $17 \cdot 10^3$ Da oraz frakcji w zakresie $55 \cdot 10^3$ - $32 \cdot 10^3$ Da (rys. 5). Główną frakcją białkową w ziarniakach gryki są rozpuszczalne w wodzie i roztworze chlorku sodowego globuliny, które stanowią blisko połowę wszystkich występujących w ziarniaku białek [3]. Składają się one z kilku podjednostek białkowych, których masa molekularna waha się w granicach od $66 \cdot 10^3$ do $16 \cdot 10^3$ Da [10, 4]. Jest to widoczne jako wynik doświadczenia wykonanego w tych badaniach i przedstawionego na obrazie SDS-PAGE (rys. 4). Na elektroforegramie preparatów białkowych (GO) oraz (GP) zaobserwowano również obecność niewielkich ilości białek o masie 12 i $0,7 \cdot 10^3$ Da. Coraz częściej sygnalizuje się występowanie alergii lub jej symptomów na białka gryki u osób często i w dużych ilościach spożywających żywność zawierającą grykę. Analizowanie alergicznych białek gryki poprzez obserwację wzrostu stężenia immunoglobulin z grupy E (IgE immunoblotting) pokazało, że za występowanie reakcji alergicznych odpowiedzialne są leguminopodobne białka niskocząsteczkowe o masie od $14 \cdot 10^3$ do $67 \cdot 10^3$ Da [5, 13, 21]. Do białek najsilniej wiążących przeciwciała zalicza się białka o masach cząsteczkowych: (55, 24, 22, 36, 17) $\cdot 10^3$ Da [12]. Wskutek zastosowanego modelowego procesu prażenia białko o masie cząsteczkowej $55 \cdot 10^3$ Da uległo znacznej degradacji, natomiast pozostałe podjednostki białkowe nie zmieniły się. Nie odnotowano także zmian polegających na ich fragmentacji (rys. 4).



Rys. 4. Elektroforetyczny rozdział białek wyodrębnionych z ziarniaków gryki przed i po prażeniu (GO, GP), M1, M2-markery.

Fig. 4. SDS-PAGE electrophoresis of proteins isolated from buckwheat grains prior to and after the roasting process (GO,GP); M1, M2-markers.



Rys. 5. Wykresy gęstości optycznej preparatu białkowego z obłuszczonych ziarniaków gryki przed i po prażeniu.

Fig. 5. Diagrams of optical density of protein preparation from dehulled buckwheat grains prior to and after roasting.

Wnioski

1. Badane ziarniaki gryki stanowią bogate źródło białek. Zastosowany proces prażenia wpływa znacząco na zmianę ich zawartości w wyodrębnionym preparacie.
2. Rozdziały białek na żelu SDS-PAGE dowodzą, że proces prażenia spowodował degradację jedynie białka o masie $55 \cdot 10^3$ Da.
3. Zastosowany proces prażenia pozytywnie wpłynął na strawność preparatów białkowych *in vitro*. Jednak parametry procesu prażenia w tym doświadczeniu powodują takie zmiany w strukturze białka, które sprzyjają tworzeniu kompleksów białko-skrobia, ale ułatwiają dostęp enzymów proteolitycznych.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] AOAC. 1975. Official Methods of Analysis. 12th ed., Washington, USA.
- [2] AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed., Arlington, Virginia.
- [3] Aubrecht E., Biacs P.A.: Characterization of buckwheat grain proteins and its products. *Acta Aliment.*, 2001, **30** (1), 71-80.
- [4] Choi S.M., Ma C.Y.: *Extraction, purification and characterization of globulin from common buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) seeds*. *Food Res. Int.*, 2006, **39**, 974-981.
- [5] Handoyo T., Maeda T., Urisu A., Adachi T., Morita M.: Hypoallergenic buckwheat flour preparation by *Rhizopus oligosporus* and its application to soba noodle. *Food Res. Int.*, 2006, **39**, 598-605.
- [6] Hsu H.W., Vavak D.L., Saterlee L.D., Miller G.A.: A Multi-enzyme technique for estimating protein digestibility. *J. Food Sci.*, 1977, **42**, 1269-1273.
- [7] Hung P.M., Morita N.: Distribution of phenolic compounds in the graded flours milled from whole buckwheat grains and their antioxidant capacities. *Food Chem.*, 2008, **109**, 325-331.
- [8] Kato N., Kayashita J., Tomotake H.: Nutritional and physiological functions of buckwheat protein. *Recent Res. Devel. Nutrition*, 2001, **4**, 113-119.
- [9] Kayashita J., Shimaoka I., Nakajoh M.: Hypocholesterolemic effect of buckwheat protein extract in rats fed cholesterol enriched diet. *Nutr. Res.*, 1995, **15**, 691-698.
- [10] Krkošková B., Mrázová Z.: Prophylactic components of buckwheat. *Food Res. Int.*, 2005, **38**, 56.
- [11] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T. 4. *Nature*, 1970, **227**, 680-685.
- [12] Ličen M., Kreft I.: Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) low molecular weight seed proteins are restricted to the embryo and not detectable in the endosperm. *Plant Physiol. Biochem.*, 2005, **43**, 862-856.
- [13] Morita N., Maeda T., Sai R., Miyake K., Yoshioka H., Urisu A., Adachi T.: Studies on distribution of protein and allergen in graded flours prepared from whole buckwheat grains. *Food Res. Int.*, 2006, **39**, 782-790.
- [14] Soral-Šmietana M.: Białka ziarna gryki. *Postępy Nauk Rolniczych*, 1984, **3**, 35-46.
- [15] Stempińska K., Soral-Šmietana M.: Składniki chemiczne i ocena fizykochemiczna ziarniaków gryki – porównanie trzech polskich odmian. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47), 348-357.


- [16] Stempińska K., Soral-Śmietana M., Zieliński H., Michalska A.: Wpływ obróbki termicznej na właściwości fizykochemiczne i przeciwutleniające ziarniaków gryki. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5 (54)**, 64-74.
- [17] Tang C.H.: Thermal properties of buckwheat proteins as related to their lipid contents. *Food Res. Int.*, 2007, **40**, 381-387
- [18] Tang C.H.: Functional properties and in vitro digestibility of buckwheat protein products: Influence on processing. *J. Food Eng.*, 2007, **82**, 568-576.
- [19] Tomotake H., Shimaoka I., Kayashita J., Nakajoh M., Kato N.: Physicochemical and functional properties of buckwheat protein product. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50 (7)**, 2125-2129.
- [20] Tomotake H., Yamamoto N., Yanaka N., Ohinata H., Yamazaki R., Kayashita J., Kato N.: High protein 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.
- [21] Yoshioka H., Ohmoto T., Urisu A., Mine Y., Adachi T.: Expression and epitope analysis of the major allergenic protein Fag e 1 from buckwheat. *J. Plant Physiol.*, 2004, **161 (7)**, 761-767.
- [22] Zheng G.H., Sosulski F.W., Tyler R.T.: Wet-milling, composition and functional properties of starch and protein isolated from buckwheat groats. *Food. Res. Int.*, 1998, **30 (7)**, 493-502.

EFFECT OF ROASTING PROCESS ON THE ENZYMATIC DIGESTIBILITY OF PROTEINS IN GRAINS OF BUCKWHEAT (*FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH)

S u m m a r y

Proteins constitute a fundamental building element of all tissues in the human body and of many biologically active compounds, such as enzymes, hormones, and antibodies. Buckwheat grains are a source of the high quality proteins the amino acidic composition of which is well balanced. The content of proteins in buckwheat grains ranges from 8.5 to 19 % d.m.

The objective of the investigations was to determine the effect of roasting process (temperature: 160 °C, 30 min, moisture: 14.5 %) on the range of in vitro enzymatic digestibility of proteins. The proteins were isolated from dehulled grains of buckwheat prior to and after roasting. The analysis of the digestibility of buckwheat protein preparations conducted in an environment simulating physiological conditions of digesting proteins in duodenum proved that the roasting process applied had an effect of improving the digestibility of the examined proteins of buckwheat: 82.7 % - prior to roasting and 85.5 % - after roasting. However, the amount of isolated proteins considerably decreased in the preparation made of grains after the roasting process. While analysing the SDS-PAGE images of proteins in grains prior to and after the roasting process, it was found that they contained essential amounts of two fractions: the one having a molecular mass of $22 \cdot 10^3$ Da and the second of a molecular mass between $55 \cdot 10^3$ and $32 \cdot 10^3$ Da. However, as the result of the roasting process, the considerable degradation was reported of the fraction having a molecular mass of $55 \cdot 10^3$ Da.

Key words: buckwheat proteins, roasting, digestibility, SDS-PAGE electrophoresis 

KRZYSZTOF DZIEDZIC, DANUTA GÓRECKA, AGNIESZKA DROŻDŻYŃSKA,
KATARZYNA CZACZYK

WPLYW PROCESU OTRZYMYWANIA KASZY GRYCZANEJ PRAŻONEJ NA ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH SKŁADNIKÓW ODŻYWCZYCH

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu zabiegów technologicznych stosowanych podczas produkcji kaszy gryczanej na zawartość białka, tłuszczu i sacharydów oraz kwasów uronowych w ziarniakach gryki i kaszy gryczanej prażonej. Proces technologiczny obejmował następujące etapy: czyszczenie, prażenie (temp. 130 °C w ciągu 1 h, 15-minutowe nasycanie parą wodną), leżakowanie (24 h), sortowanie 1., obłuskiwanie, sortowanie kaszy, oddzielanie łuski, sortowanie 2., paczkowanie, dystrybucja. Badane próby stanowiły: ziarniaki gryki, ziarniaki gryki po prażeniu, kasza gryczana cała oraz kasza gryczana łamana. Analizowano zawartość: białka ogółem, tłuszczu ogółem oraz sacharydów, tj. sacharozy, glukozy, galaktozy z fruktozą, arabinozy, a także zawartość kwasu glukuronowego i galakturonowego. Zawartość białka określono metodą Kjeldahla, przy użyciu zestawu urządzeń Kjeltec firmy Tecator, a zawartość tłuszczu oznaczono w aparacie typu Soxtec HT6 firmy Tecator. Sacharydy i kwasy uronowe oznaczono metodą chromatografii cieczowej (HPLC).

Otrzymane wyniki wskazują, że stosowany proces technologiczny ma wpływ na zmianę zawartości wybranych substancji odżywczych. Zawartość białka w ziarniakach gryki, ziarniakach gryki po prażeniu oraz w kaszy gryczanej całej była wyższa niż w kaszy łamanej. Ogólna zawartość tłuszczu w ziarniakach gryki przed prażeniem, ziarniakach gryki po prażeniu oraz kaszy gryczanej pozostała na tym samym poziomie, natomiast w kaszy gryczanej łamanej uległa zmniejszeniu. Zaobserwowano wzrost zawartości sacharozy oraz zmniejszenie poziomu glukozy, galaktozy z fruktozą i arabinozy w ziarniakach po prażeniu, kaszy łamanej oraz kaszy całej, w stosunku do ziarniaków gryki przed prażeniem. Proces technologiczny nie wpłynął na zawartość kwasów uronowych.

Słowa kluczowe: ziarniaki gryki, kasza gryczana, proces technologiczny, białka, tłuszcze, sacharydy, kwasy uronowe

Mgr inż. K. Dziedzic, dr hab. inż. D. Górecka, Katedra Technologii Żywności Człowieka, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, mgr inż. A. Drożdżyńska, dr hab. inż. K. Czaczyk, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań

Wprowadzenie

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie kaszą gryczaną. Po okresie ograniczonej uprawy gryki doceniono jej prozdrowotne właściwości [12, 15, 18]. Najczęściej uprawianymi gatunkami gryki są: gryka zwyczajna (*F. esculentum*) oraz tatarka (*F. tartaricum*) [12, 21]. Gryka stanowi surowiec do produkcji kaszy gryczanej, mączki i makaronu [18]. Jest ona cennym źródłem wielu związków biologicznie aktywnych oraz substancji odżywczych [10]. Zawiera między innymi: białka o dobrze zbilansowanym składzie aminokwasowym, polisacharydy, polifenole oraz składniki mineralne [7, 8, 13, 18].

Białka zawarte w gryce odznaczają się wysoką wartością biologiczną. Są one bogate w egzogenne aminokwasy – lizynę i metioninę [7, 15]. Główną frakcją białkową stanowią: albuminy oraz globuliny [21]. Zawierają znikomą ilość prolamin oraz nie zawierają α -gliadyny, dlatego też gryka wykorzystywana jest w dietach bezglutenowych [10, 13, 17, 20]. Zbilansowany skład aminokwasów, zwłaszcza Lys/Arg oraz Met/Arg oznacza, że gryka ma właściwości obniżające poziom cholesterolu we krwi [12]. Liczne doświadczenia dowodzą, że białkowe ekstrakty z gryki mogą zostać wykorzystane jako dodatki do żywności o działaniu prozdrowotnym w profilaktyce takich schorzeń, jak: nadciśnienie, otyłość, zaparcia oraz choroby nowotworowe [3, 4, 13, 21]. Gryka zawiera leguminopodobne białka o masie cząsteczkowej $15 \cdot 10^3$ - $29 \cdot 10^3$ Da wywołujące reakcje alergiczne. Obserwuje się wówczas w osoczu krwi wzrost stężenia immunoglobulin z grupy E. W celu wyeliminowania białek alergicznych z gryki prowadzi się ukierunkowane modyfikacje enzymatyczne [13, 15].

Podstawowym polisacharydem gryki jest skrobia. Jej zawartość waha się w zależności od odmiany i warunków uprawy, od ok. 59 do 70 %. Skrobia gryczana jest niskoenergetyczna, co jest związane z wysokim udziałem skrobi opornej (33 - 38 %) [2]. Ze względu na istotną rolę błonnika pokarmowego w racjonalnym żywieniu oraz profilaktyce niektórych chorób ważne jest zwiększenie spożycia tego składnika [5]. Może on wiązać składniki mineralne oraz białka, przez co ograniczona zostaje ich strawność [17]. Nierozpuszczalna frakcja błonnika pokarmowego pobudza perystaltykę jelit, wykazuje zdolność wiązania wody oraz kwasów żółciowych [6]. Różne zawartości całkowitego włókna pokarmowego w kaszy gryczanej pochodzącej z różnych źródeł, wynikają prawdopodobnie z wielkości ziarna, warunków klimatycznych, w których prowadzono uprawę, różnorodności stosowanych zabiegów agrotechnicznych. Mniejsze ziarniaki mają mniejsze liścienie, zatem stosunkowo więcej okrywy nasiennej, wynikiem czego jest większy udział włókna pokarmowego [12].

Gryka jest rośliną o wysokiej zawartości substancji fenolowych, takich jak: 3-flawonole, rutyna, katechina, kwasy fenolowe [7, 19]. Rutyna jest glikozydem flawonolowym syntetyzowanym w roślinach wyższych jako substancja ochraniająca tkanki roślinne przed promieniowaniem UV [19]. Jej grupa fenolowa połączona jest

z grupą hydrofilową cukru, czyniąc ją bardziej rozpuszczalną, a zarazem zmniejszając w sposób nieznaczny jej aktywność biologiczną. Rutyna w organizmie człowieka zapobiega nadmiernej przepuszczalności naczyń krwionośnych, redukuje ryzyko występowania miażdżycy, nadciśnienia oraz charakteryzuje się wysoką aktywnością przeciwutleniającą [1, 8, 10, 17, 19]. Zawartość rutyny w gryce jest zróżnicowana i zależy od sposobu uprawy oraz gatunku i części rośliny, z której ją pozyskano [1, 8, 10]. Obróbka cieplna produktów spożywczych w znacznym stopniu zmniejsza aktywność przeciwutleniającą rutyny i flawonoli [22].

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu zabiegów technologicznych stosowanych podczas produkcji kaszy gryczanej na zawartość wybranych składników odżywczych tj. białek, tłuszczów, sacharydów oraz składników nieodżywczych o funkcji fizjologicznej, tj. kwasów uronowych, w ziarniakach gryki.

Materiały i metody badań

Materiałem do badań były: ziarniaki gryki przed prażeniem (GS), ziarniaki gryki po prażeniu (GP), kasza gryczana cała (KC) oraz kasza gryczana łamana (KŁ). Próby otrzymano z „Podlaskich Zakładów Zbożowych” w Białymstoku. Technologia produkcji kaszy gryczanej obejmuje następujące etapy: oczyszczanie ziarniaków gryki, prażenie, leżakowanie, sortowanie 1., obłuskiwanie, sortowanie kaszy, oddzielenie łuski, sortowanie 2., paczkowanie, dystrybucja. Do sortowania ziarniaków gryki stosowano sortownice płaskie. Proces prażenia prowadzono w ciągu 1 h, w temp. 130 °C i przy ciśnieniu 5-5,5 bara. W ciągu pierwszych 15 min procesu stosowano nasycanie ziarniaków parą wodną. W trakcie procesu prażenia wilgotność ziarniaków gryki wzrosła z 12 do 15 %. Kolejnym etapem było leżakowanie ziarniaków gryki w temperaturze pokojowej przez 24 h. W tym czasie odnotowano zmniejszenie wilgotności „ziarna” z 15 do 12 %. Obłuskiwanie przeprowadzano na obłuskiwaczach walcowych. Ponownie zastosowano proces sortowania w celu rozdzielenia ziarniaków na kaszę gryczaną całą oraz kaszę gryczaną łamaną.

W produktach otrzymanych z różnych etapów procesu technologicznego oznaczano zawartość: białka ogółem klasyczną metodą Kjeldahla [11], tłuszczu ogółem [16] oraz kwasów uronowych (glukuronowego i galakturonowego) i sacharydów: glukozy, arabinozy oraz galaktozy z fruktozą, metodą chromatografii cieczowej (HPLC).

Zawartość białka ogółem oznaczano za pomocą zestawu urządzeń Kjeltec (Tecator), a zawartość tłuszczu ogółem oznaczano z wykorzystaniem aparatu firmy Soxtec HT6 (Tecator). Monosacharydy (glukozę, galaktozę z fruktozą, arabinozę) i disacharydy (sacharozę) oraz kwasy uronowe (glukuronowy i galakturonowy) oznaczano techniką chromatografii cieczowej (HPLC) w chromatografii cieczowej Merck-Hitachi (zestaw: automatyczny podajnik prób Merck-Hitachi L-7100 z detektorem RI (Merck-Hitachi L-7490) oraz detektorem DAD (Diode Array Detector Merck-Hitachi L-7455)

pracujących w układzie szeregowym. Do oznaczeń użyto kolumny Aminex HPX-87H 300x7,8 mm (Bio-Rad). Jako eluent stosowano 0,005 M H₂SO₄, przy przepływie 0,6 ml/min, izokratycznie. Oznaczenia prowadzono w temp. 30 °C. Próby nanoszono na szczyt kolumny w ilości 30 µl. Identyfikacji ilościowej i jakościowej dokonywano metodą standardu zewnętrznego z wykorzystaniem powierzchni pików (pomiar i integracja z zastosowaniem programu Chromatography Data Station Software, Merck-Hitachi).

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej przy zastosowaniu programu Statistica 6,0. Do wyznaczenia istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi posłużono się jednoczynnikową analizą wariancji przy zastosowaniu testu Tukey'a.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że proces technologiczny kaszy gryczanej wpłynął w istotny sposób na ogólną zawartość białka w badanych próbach (tab. 1). Zawartość białka w kaszy gryczanej przed prażeniem kształtowała się na poziomie 11,17 % s.m., natomiast w gryce po prażeniu i w kaszy całej na poziomie odpowiednio 12,52 % s.m. oraz 11,79 % s.m. Różnica ta prawdopodobnie wynika z wymycia substancji rozpuszczalnych w wodzie w trakcie procesu prażenia, a następnie usunięcia ich wraz z wodą podczas leżakowania półproduktu. W konsekwencji doprowadziło to do zwiększenia ilości białka w przeliczeniu na suchą masę próby. W kaszy łamanej zawartość białek ogółem kształtowała się na poziomie 8,44 % s.m. Tak duże zmniejszenie zawartości białka w porównaniu z kaszą całą wiąże się z procesem obłuskiwania, podczas którego dochodzi do łamania części ziarniaków, a następnie usunięcia części liścieni wraz z zarodkiem bądź warstwą aleuronową, w których zlokalizowane są albuminy i globuliny [12, 13, 21]. Proces oddzielenia łuski przeprowadzony został na wialniach kaskadowych. Nie wykazano istotnych różnic zawartości białka w ziarniakach gryki po prażeniu oraz w kaszy gryczanej całej.

Zawartość tłuszczu wahała się od 1,71 % s.m. próby w kaszy łamanej do 2,57 % s.m. próby w kaszy gryczanej całej (tab. 1). Nie stwierdzono istotnych różnic zawartości tłuszczu ogółem w ziarniakach gryki przed prażeniem, w ziarniakach gryki po prażeniu oraz w kaszy całej. Jediną próbą, która różniła się w sposób statystycznie istotny od pozostałych była kasza łamana. Zmniejszenie zawartości tłuszczu w kaszy łamanej o ponad 34 % w stosunku do kaszy całej wynika najprawdopodobniej ze strat związanych z usunięciem części zarodka podczas procesu obłuskiwania. Według Krkoskovej i Mrazovej [12] w zarodku zmagazynowane są nasycone oraz nienasycone kwasy tłuszczowe.

Tabela 1

Zawartość białka ogółem i tłuszczu ogółem w ziarniakach gryki i w kaszy gryczanej [% s.m.].
Content of total protein and total lipids in the grains of buckwheat and buckwheat groats [% d.m.].

Próba Sample	Zawartość białka ogółem Content of protein	Zawartość tłuszczu ogółem Content of lipids
GS	11,17 ^b	2,29 ^b
GP	12,52 ^c	2,42 ^b
GŁ	8,44 ^a	1,71 ^a
GK	11,79 ^{b,c}	2,57 ^b

Objaśnienia: / Explanatory notes:

GS- ziarniak gryki przed procesem prażenia / buckwheat grains prior to roasting,

GP- ziarniak gryki po procesie prażenia / buckwheat grains after roasting,

GŁ- kasza gryczana łamana / broken buckwheat groats,

GK- kasza gryczana cała / whole buckwheat groats,

a-c - wartości liczbowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny przy poziomie $p < 0,05$ / the numerical values denoted by different letters differ statistically significantly at $p < 0.05$.

Przeprowadzone badania nie wykazały istotnego wpływu procesu technologicznego na zawartość kwasów uronowych, tj. glukuronowego oraz galakturonowego (tab. 2). Zawartość kwasu glukuronowego wynosiła 0,297 g/100 g produktu, natomiast kwasu galakturonowego 0,048 g/100 g produktu. Stały poziom kwasów uronowych, a także zmniejszenie zawartości arabinozy wskazują, że podczas procesu prażenia nie dochodzi do rozkładu hemiceluloz zawartych w produkcie końcowym [9].

Tabela 2

Zawartość kwasu glukuronowego i galakturonowego w ziarniakach gryki i w kaszy gryczanej [g/100 g próby].
Content of glucuronic and galacturonic acids in the grains of buckwheat and buckwheat groats [g/100 g of sample].

Próba Sample	Zawartość kwasu glukuronowego Contents of glucuronic acid	Zawartość kwasu galakturonowego Contents of galacturonic acid
GS	0,30 ^a	0,048 ^a
GP	0,29 ^a	0,033 ^a
GŁ	0,30 ^a	0,034 ^a
GK	0,34 ^a	0,043 ^a

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

a - wartości liczbowe oznaczone tymi samymi literami nie różnią się w sposób statystycznie istotny przy poziomie $p < 0,05$ / the numerical values denoted by the same letters do not differ statistically significantly at $p < 0.05$.

Określono również zawartość sacharozy, glukozy, galaktozy z fruktozą oraz arabinozy. Przeprowadzone badania wykazały wzrost zawartości sacharozy w ziarniakach gryki prażonej, kaszy łamanej i kaszy całej w stosunku do ziarniaków gryki przed prażeniem (tab. 3). Prawdopodobnie wpływ na to miały warunki prowadzonego procesu tj. temp. 130 °C, ciśnienie ok. 5 barów, które doprowadziły do kondensacji cząsteczek glukozy z fruktozą, czym można tłumaczyć ubytek zawartości fruktozy w próbach. We wszystkich badanych próbach stwierdzono zmniejszenie zawartości galaktozy z fruktozą, glukozy oraz arabinozy w odniesieniu do ziarniaków gryki przed prażeniem. Zmniejszenie zawartości fruktozy w próbach można także tłumaczyć procesem karmelizacji zachodzącym w temp. ok. 110 °C. Wykluczyć należy karmelizację glukozy i sacharozy, gdyż proces ten zachodzi w przedziałach temp. rozpoczynających się od ok. 160 °C [14]. Podczas procesu prażenia prawdopodobnie doszło także do rozpuszczenia oraz wymycia wraz z wodą znacznych ilości glukozy oraz fruktozy. Zawartość glukozy w ziarniakach po prażeniu zmniejszyła się o 80,4 % w porównaniu z ziarniakami przed prażeniem. Przed procesem prażenia ziarniaki gryki zawierały 0,067 g arabinozy w przeliczeniu na 100 g produktu. Po procesie prażenia zawartość arabinozy istotnie zmniejszyła się o 28,36 %. Ubytek ten można tłumaczyć prawdopodobnym uczestnictwem tego sacharydu w reakcjach Maillarda, które zachodzą pomiędzy cukrami redukującymi a aminokwasami pod wpływem wysokiej temperatury [4]. Zawartość arabinozy w kaszy łamanej i kaszy całej była mniejsza w porównaniu z ziarniakami gryki przed prażeniem, odpowiednio o 88,06 i 97,01 %. Różnice te można wytłumaczyć usunięciem łuski, w której prawdopodobnie, obok pektyn, występują duże ilości tego monosacharydu [12].

Tabela 3

Zawartość sacharozy, glukozy, galaktozy z fruktozą oraz arabinozy w ziarniakach gryki i w kaszy gryczanej [g/100 g próby].

Content of saccharose, glucose, galactose with fructose, and arabinose in the grains of buckwheat and buckwheat groats [g/100 g of sample].

Próba Sample	Sacharoza Saccharose	Glukoza Glucose	Galaktoza+ Fruktoza Galactose+ Fructose	Arabinoza Arabinose
GS	0,496 ^a	0,806 ^b	0,354 ^c	0,067 ^c
GP	1,026 ^c	0,158 ^a	0,194 ^b	0,048 ^b
GL	0,892 ^{bc}	0,126 ^a	0,147 ^a	0,008 ^a
GK	1,207 ^d	0,154 ^a	0,184 ^{ab}	0,002 ^a

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

a, b, c, d - wartości liczbowe oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny przy poziomie $p < 0,05$ / the numerical values denoted by different letters differ statistically significantly at $p < 0.05$.

Wnioski

1. Proces technologiczny w istotny sposób wpłynął na zmniejszenie zawartości białka w kaszy łamanej w porównaniu z kaszą całą oraz ziarniakami gryki po prażeniu i przed prażeniem.
2. Nie stwierdzono istotnych różnic zawartości tłuszczu w ziarniakach gryki i kaszy całej. Procesy obłuskiwania i prażenia nie miały istotnego wpływu na zawartość tłuszczu w kaszy całej. Jedynie proces łamania stosowany podczas obłuskiwania wpłynął na zmniejszenie zawartości tłuszczu.
3. Proces prażenia ziarniaków gryki spowodował zmniejszenie zawartości glukozy, galaktozy z fruktozą oraz arabinozy, a zwiększenie poziomu sacharozy. Proces technologiczny stosowany w produkcji kaszy gryczanej nie wpłynął istotnie na zawartość kwasów uronowych.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Benguo L., Yongyi Z.: Extraction of flavonoids from flavonoid-rich parts in tartary buckwheat and identification of the main flavonoids. *J. Food Eng.*, 2007, **78**, 584-587.
- [2] Christa K., Soral-Śmietana M.: Gryka - cenny surowiec w produkcji żywności funkcjonalnej. *Przem. Spoż.*, 2007, **12**, 36-37.
- [3] Chuan-He T.: Thermal properties of buckwheat proteins as related to their lipid contents. *Food Res. Int.*, 2007, **40**, 381-387.
- [4] Garcia-Banos J. L., Castillo M. D., Sanz M. L., Olano A., Corzo N.: Maillard reaction during storage of powder enteral formulas. *Food Chem.*, 2005, **89**, 555-560.
- [5] Górecka D., Korczak J., Balcerowski E., Decyk K.: Sorption of bile acids and cholesterol by dietary fiber of carrots, cabbage, and apples. *Electr. J. Pol. Agric. Univ., Food Sci. Technol.*, 2002, **5**, 1-7.
- [6] Górecka D., Korczak J., Konieczny P., Hęś M., Flaczyk E.: Adsorption of bile acids by cereal products. *Cereal Foods World*, 2005, **50** (4), 176-178.
- [7] Holasova M., Fiedlerova V., Smrcinova H., Orsak M., Lachman J., Vareinova S.: Buckwheat—the source of antioxidant activity in functional foods. *Food Res. Int.*, 2002, **35**, 207-211
- [8] Jiang P., Burczynski F., Campbell C., Pierce G., Austria J. A., Briggs C. J.: Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species *Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum*, and *F. homotropicum* and their protective effects against lipid peroxidation. *Food Res. Int.*, 2007, **40**, 356-364.
- [9] Kin Z.: Hemicelulozy. *Chemia i wykorzystanie*. W: Wybrane reakcje chemiczne węglowodanów pod red. H. Skrobaczej i J. Chróściel. PWRiL, Warszawa 1980, s. 187-204.
- [10] Kreft I., Fabjan N., Yasumoto K.: Rutin content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) food materials and products. *Food Chem.*, 2006, **98**, 508-512.
- [11] Krelowska-Kułas M.: Badanie jakości produktów spożywczych. PWE, Warszawa 1993, s. 34-36.
- [12] Krkoskova B., Mrazova Z.: Prophylactic components of buckwheat. *Food Res. Int.*, 2005, **38**, 561-568.
- [13] Licen M., Kreft I.: Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) low molecular weight seed proteins are restricted to the embryo and are not detectable in the endosperm. *Plant Phys. and Biochem.*, 2005,

- 43, 862-865.
- [14] Miller Dennis D.: Food Chemistry - A laboratory Manual. New York 1998, s. 40-43.
- [15] Morita N., Maeda T., Sai R., Miyake K., Yoshioka H., Urisu A., Adachi T.: Studies on distribution of protein and allergen in graded flours prepared from whole buckwheat grains. Food Res. Int., 2006, 39, 782-790.
- [16] Rutkowski A., Batura J.: Podstawowa analiza tłuszczów jadalnych. PWN, Warszawa 1981, s. 194-195.
- [17] Sensay I., Rosen R. T., Chi-Tang H., Karwe M. V.: Effect of processing on buckwheat phenolics and antioxidant activity. Food Chem., 2006, 99, 388-393.
- [18] Sun-Lim K., Sung-Kook K., Cheol-Ho P.: Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable. Food Res. Int., 2004, 37, 319-327.
- [19] Ting S., Chi-Tang H.: Antioxidant activities of buckwheat extracts. Food Chem., 2005, 90, 743-749.
- [20] Wronkowska M., Soral-Śmietana M.: Buckwheat flour – a valuable component of gluten – free formulations. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2008, 1, 59-63.
- [21] Xiaona G., Huiyuan Y.: Fractionation and characterization of tartary buckwheat flour proteins. Food Chem., 2006, 98, 90-94.
- [22] Zielińska D., Szawara-Nowak D., Michalska A.: Antioxidant capacity of thermally-treated buckwheat. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2007, 4, 465-470.

INFLUENCE OF THE PRODUCTION PROCESS OF ROASTED BUCKWHEAT GROATS ON THE NUTRIENTS CONTAINED IN THEM

Summary

The objective of the study accomplished was to determine the influence of technological treatment procedures applied to manufacturing buckwheat groats on the content of protein, lipid, saccharides, and uronic acids in the grains of buckwheat and of roasted buckwheat groats. The technological process comprised the following phases: cleaning, roasting (130 °C during 1 h and saturation with water vapour during 15 min.), seasoning (24 h), sorting out I, dehulling, sorting groats out, removing hulls, sorting out II: packing, distribution. The samples investigated were: grains of buckwheat, grains of roasted buckwheat, whole buckwheat groats, and broken buckwheat groats. The scope of the analysis performed included: total protein, total lipid, saccharides: saccharose, glucose, galactose with fructose, arabinose., and the content of glucuronic and galacturonic acids. The content of protein was determined using a Kjeldahl method and a Kjeltex set of devices manufactured by the 'Tecator' Co. in Kielce (Poland); the content of lipid was determined using a Soxhlet HT6 apparatus manufactured by the 'Tecator' Co. The saccharides and uronic acids were determined using a liquid chromatography (HPLC).

The results obtained suggest that the technological process applied impacts the change in the content of the selected nutrients. The content of protein in the caryopses/grains/grains of buckwheat, in the grains of roasted buckwheat groats, and in the whole buckwheat groats was higher than in the broken groats. The content of total lipid in the grains of buckwheat prior to and after roasting, and in the buckwheat groats remained at the same level, however, it decreased in the broken buckwheat groats. It was found that the content of saccharose increased, but the levels of glucose, galactose with fructose, and arabinose decreased in the grains of buckwheat after roasting, in the broken buckwheat groats, and in the whole buckwheat groats if compared with the buckwheat grains prior to roasting. The technological process did not impact the content of uronic acids.

Key words: buckwheat grains and groats, technological process, proteins, lipids, saccharides, uronic acids



KINGA STUPER, JULIUSZ PERKOWSKI

ZAWARTOŚĆ ERGOSTEROLU W ZBOŻOWYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

Streszczenie

Zawartość biomasy grzybowej wpływa w istotny sposób na ocenę jakości produktów spożywczych. W pracy przedstawiono zawartość biomarkera biomasy grzybowej (ergosterolu-ERG) w ziarnie zbóż, produktach śniadaniowych zawierających otręby oraz płatki zakupione w sieci sklepów detalicznych na terenie miasta Poznania w roku 2008, jak również w mąkach, a także w produktach po przemiale laboratoryjnym. Największą średnią zawartość ERG stwierdzono w otrębach owsianych - wynosiła ona 30,71 mg/kg, natomiast najmniejszą spośród analizowanych otrąb oznaczono w otrębach pszennych - 9,98 mg/kg. Spośród płatków najwięcej ERG stwierdzono w płatkach owsianych - 8,04 mg/kg, a najmniej w pszennych - 0,97 mg/kg. Produkty zawierające dodatki w postaci suszu owocowego zawierały większą ilość ERG niż analogiczne produkty bez dodatków. Przebadano również mąki żytnie, jęczmienne, owsiane oraz pszenne. Porównano zawartość ERG w mąkach w stosunku do otrąb stwierdzając, że zawartość tego metabolitu jest porównywalna we wszystkich zbożach i jest mniejsza w mące średnio o około 97 %. Zawartość tego metabolitu w otrębach była większa w stosunku do ziarna niepoddanego obróbce i wynosiła około 50 %. Obok ww. produktów przemiału badano również zawartość ERG w ziarnie pobranym także w 2008 r. z silosów zbożowych. Najwięcej ERG stwierdzono w ziarnie owsa, najmniej w ziarnie pszenicy odpowiednio 16,11 mg/kg i 4,13 mg/kg.

Słowa kluczowe: ergosterol, otręby, płatki, HPLC

Wprowadzenie

Produkty zbożowe są podstawą piramidy żywieniowej człowieka i zaleca się, aby stanowiły składnik każdego posiłku. Jednym z produktów powstałych w wyniku przemiału zbóż drobnziarnistych są otręby. Powstają one z zewnętrznych warstw ziarniaków jako produkt uboczny podczas przemiału mąki [1, 2]. Zawierają ok. 16 % białka, 4 % tłuszczu, 16 % węglowodanów, naturalny błonnik, witaminy z grupy A, E oraz składniki mineralne.

Obecność błonnika wpływa na prawidłową przemianę materii, wspomaga procesy trawienne oraz perystaltykę jelit. Otręby absorbują z organizmu substancje szkodliwe, zapobiegają chorobom nowotworowym jelita grubego oraz przeciwdziałają rakowi sutka. Dzięki powyższym zaletom są propagowane jako jeden z niezbędnych składników zbilansowanej diety. Stanowią dodatek do pieczywa, także cukierniczego, płatków, musli itp. Używane są też jako swoisty „wypełniacz” dla osób stosujących diety niskokaloryczne – w dużej części są nieprzyswajalne przez organizm, a powodują uczucie sytości.

Grzyby mikroskopowe rozpoczynają zasiedlanie ziarniaków od zewnętrznej ich warstwy [3], dlatego należy się spodziewać, że podczas przemiału zbóż produkty zawierające złuszczone otoczkę ziarniaka (np.: otręby, mąka graham) będą charakteryzowały się większą zawartością biomasy grzybowej, niż powstałe z wewnętrznych warstw ziarniaka (np.: mąka typu 350, mąka tortowa). Obecność biomasy grzybowej jest nierozdzielnie związana z występowaniem drugorzędowych metabolitów grzybowych, takich jak m.in. mikotoksyny. Wpływają one niekorzystnie na organizm człowieka, powodując m.in. mikotoksykozy [5]. Z uwagi na to, że na rynku występuje cały szereg produktów, których głównym składnikiem są otręby, postanowiono sprawdzić ich jakość pod względem zawartości mikroflory grzybowej. Nieliczne, prowadzone w Niemczech oraz we Francji, badania zawartości biomasy grzybowej w otrębach wskazały na podwyższoną zawartość mikroflory grzybowej w badanych próbach [1, 3, 4]. Skłoniło to do podjęcia badań, które miałyby zobrazować zawartość mikroflory grzybowej w krajowych produktach, często spożywanych przez konsumentów jako żywność funkcjonalna. W tym celu wykorzystano jedną z najważniejszych metod oznaczania zawartości bioflory grzybowej, czyli chemiczną analizę jednego ze swoistych metabolitów grzybowych, jakim jest ergosterol (ERG). Nie stwierdza się jego obecności w materiale roślinnym, w związku z czym jest dobrym markerem obecności grzybów mikroskopowych w materiale tego pochodzenia. Zastosowanie tej metody jest tym bardziej słuszne, że zawartość ERG jest w istotny sposób skorelowana z zawartością mikotoksyn w produkcie, co przedstawiono we wcześniej prowadzonych badaniach [2, 3, 7, 8].

Celem przedstawionych badań było określenie obecności grzybów mikroskopowych mierzonych zawartością ergosterolu w produktach spożywczych. Podjęto również próbę zróżnicowania produktów przerobu różnych rodzajów zbóż w zależności od tej cechy.

Materiał i metody badań

Przebadano 18 prób otrąb, 14 prób otrąb z dodatkami, 20 prób płatków oraz 15 prób płatków z dodatkami (musli) zakupionych w 2008 roku w sieci sklepów detalicznych na terenie miasta Poznania. W przypadku prób z dodatkami, dodatki stanowiły

suszone owoce oraz orzechy. Badano również próby mąk komercyjnych zakupionych w sieci sklepów detalicznych na terenie miasta Poznania w analogicznym okresie: owsianych typu 650 (n = 12), jęczmiennych typu 650 (n = 12), pszennych typu 650 (n = 20) oraz żytnich typu 1850 (n = 12). Przebadano także 58 prób ziarna (o masie 5000 g każda) pochodzących z 4 zbóż (żyto, owies, jęczmień, pszenica) pobranych w 2008 roku z silosów na terenie 6 województw Polski (Wielkopolskie, Lubuskie, Lubelskie, Dolnośląskie, Śląskie, Opolskie). Dodatkowo przeprowadzono także przebieg laboratoryjny przy użyciu młyna laboratoryjnego (Brabender, Duisburg, model 380) prób o masie 2000 g o znanej zawartości ERG wynoszącej 14,24 mg/kg. W wyniku przebiegu uzyskano m.in. mąkę typu 650, mąkę typu 1850 oraz otręby grube.

W przeprowadzonych badaniach stosowano zmodyfikowaną metodę oznaczania ERG opisaną szczegółowo w pracy Perkowskiego i wsp. [6], polegającą na uwolnieniu tego metabolitu z badanego materiału biologicznego za pomocą saponifikacji wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym z jednoczesną ekstrakcją. Analizę ERG prowadzono za pomocą HPLC z detektorem absorpcyjnym. Pomiar stężenia ERG następował przy długości fali $\lambda = 282$ nm przy użyciu wzorca zewnętrznego. Identyfikacja związku odbywała się na podstawie porównania czasu retencji badanego pliku z czasem retencji standardu oraz poprzez dodanie do badanej próbki określonej ilości standardu i powtórna analizę. Odzysk ERG wynosił 97 %, natomiast poziom wykrywalności 0,02 mg/kg.

Wyniki i dyskusja

Wyniki badań zawartości ergosterolu pozwoliły stwierdzić, że w produktach przemiału (mąkach) zawartość ERG była mała, niższa niż postulowana przez badaczy europejskich [9] wartość graniczna poniżej 3 mg/kg, stanowiąca bezpieczny poziom w żywności. Zawartość ERG w niebadanych dotychczas w Polsce produktach śniadaniowych była wyższa. Więcej ERG stwierdzono w produktach zawierających dodatki niż w samych płatkach i otrębach (tab. 1). Wynika to prawdopodobnie z różnej zawartości wilgoci oraz odmiennego procesu technologicznego. Stwierdzono, że płatki miały mniejszą zawartość ERG niż otręby [5, 10]. Dodatkowo płatki i otręby z dodatkami są bardziej narażone na skażenie mikrobiologiczne z uwagi na to, że aktywność wody suszu owocowego jest wyższa niż części zbożowej, co sprzyja rozwojowi grzybów mikroskopowych. Ogólnie produkty pszenne zawierały mniej ERG we wszystkich badanych grupach, natomiast produkty owsiane najwięcej. Podobną relację obserwowali Maupetit i wsp. [1], którzy stwierdzili, że zakres stężenia ERG w otrębach pszennych wynosił od 4,8 do 44 mg/kg, natomiast w płatkach wahał się od 0,12 do 10 mg/kg.

Tabela 1

Zawartość ERG w produktach śniadaniowych z uwzględnieniem rodzaju zboża.
Cereal kind-referred content of ERG in breakfast foodstuffs.

Rodzaj zboża Kind of cereal	Zawartość ERG [mg/kg] / Content of ERG [mg/kg]			
	Płatki Flakes	Płatki z dodatkami Flakes with additives	Otręby Bran	Otręby z dodatkami Bran with additives
Żyto / Rye	5,12	4,69	21,08	25,94
Owies / Oat	8,04	10,27	30,71	35,31
Jęczmień / Barley	1,18	7,34	17,42	15,78
Pszenica / Wheat	0,97	3,08	9,98	15,77

Tabela 2

Średnia zawartość ERG w ziarnie, otrębach spożywczych i w mąkach typu 650 z uwzględnieniem rodzaju zboża.

Cereal kind-referred mean content of ERG in grain, food bran, and in flours of the 650 type.

Rodzaj zboża Type of cereal	Zawartość ERG / Content of EGR [mg/kg]		
	Ziarno / Grain	Otręby / Bran	Mąka / Flour
Żyto / Rye	12,09	21,08	0,70
Owies / Oat	16,11	30,71	0,98
Jęczmień / Barley	9,21	17,42	0,58
Pszenica / Wheat	4,13	9,98	0,34

Porównawczo analizie zawartości ERG poddano również zakupione w sieci sklepów detalicznych na terenie miasta Poznania w analogicznym okresie mąki żytnie, owsiane, jęczmienne oraz pszenne. Średnio, najmniej ERG było w mąkach pszennych i wynosiło 0,34 mg/kg, natomiast najwięcej w mąkach owsianych - 0,98 mg/kg (tab. 2). Dodatkowo przebadano także mąki żytnie o wyższym typie wyciągu (typu 1850) stwierdzając, że zawartość ergosterolu w mące tego typu wynosiła 2,73 mg/kg i była znacznie większa w stosunku do uprzednio przebadanej mąki typu 650. Wysoko wyciągowe mąki w swoim składzie zawierają zewnętrzne warstwy ziarniaków, w których istnieje większe prawdopodobieństwo stwierdzenia obecności grzybów mikroskopowych. Potwierdziły to obliczone krotności zawartości ilości ERG w mąkach w stosunku do otrąb (tab. 3). W przypadku produktów owsianych, jęczmiennych, pszennych oraz żytnich uzyskane wyniki były niemal identyczne. Natomiast w produktach żytnich (typu 1850) krotność ta była istotnie wyższa i wyniosła 0,13, co wynikało z różnicy w stopniu przemiału ziarna. Uzyskane wyniki zostały potwierdzone w procesie techno-

logicznym przemiału żyta, w wyniku którego uzyskano mąki typu 650, a współczynnik krotności wyniósł 0,03, tak jak innych zbóż. W celu sprawdzenia wykonano doświadczalny przemiał laboratoryjny ziarna żyta, które zawierało 14,24 mg/kg ERG. Po przemiale oznaczono zawartość ERG, którego w uzyskanej mące typu 650 było 0,85 mg/kg, a w otrębach 27,56 mg/kg. W tym przypadku wyznaczona krotność zawartości ERG w mąkach w stosunku do otrąb wyniosła 0,03, podobnie jak w innych przytoczonych w tekście obserwacjach.

T a b e l a 3

Wyznaczone współczynniki krotności zawartości ERG w ziarnie, mąkach (typu 650) oraz otrębach, jak również w produktach przemiału laboratoryjnego.

The determined coefficients of multiplication of the ERG content in grain, flours (type 650), and in bran, as well as in the products milled in laboratory.

Rodzaj zboża Type of cereal	Krotność zawartości ERG Multiplication of the ERG content			
	Mąka/Otręby Flour/Bran	Otręby/Mąka Bran/Flour	Ziarno/Otręby Grain/Bran	Ziarno/Mąka Grain/Flour
Żyto* / Rye*	0,03	32,42	0,52	16,75
Żyto / Rye	0,03	33,46	0,57	17,27
Owies / Oat	0,03	31,34	0,52	16,44
Jęczmień / Barley	0,03	30,03	0,53	15,88
Pszenica / Wheat	0,03	29,35	0,52	15,21

* Wyniki uzyskane z przemiału laboratoryjnego / Results obtained from the milling process performed in the laboratory

Wnioski

1. Stwierdzono, że zawartość mikroflory grzybowej mierzonej ilością ERG zależy od rodzaju ziarna.
2. Największą zawartość ERG stwierdzono w ziarnie owsa i produktach jego przemiału, mniejsze kolejno w ziarnie żyta i produktach jego przemiału, ziarnie jęczmienia i produktach jego przemiału, a najmniej było go w ziarnie pszenicy i produktach jej przemiału.
3. Stwierdzono, że zawartość mikroflory grzybowej zależy od użytego procesu technologicznego.
4. Zawartość biomasy grzybowej w produktach mniej przetworzonych, takich jak otręby, w stosunku do produktów wysoko przetworzonych, takich jak mąki, jest wielokrotnie wyższa i wynosi ponad 95 %, natomiast w stosunku do ziarna niepoddanego obróbce wynosi około 50 %.

5. Wśród badanych produktów największą zawartość ergosterolu stwierdzono w otrębach oraz płatkach, a najmniejszą w mąkach.
6. Określono również krotności zawartości ergosterolu produktów przemiału wszystkich zbóż w kombinacji: ziarna, mąki oraz otrąb. W przypadku wysokich zbóż były one istotnie porównywalne.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura


- [1] Maupetit P., Gatel F., Cahagnier B., Botorel G., Charlier M., Collet B., Dauvillier P., Laffiteau J., Roux G.: Quantitative estimation of fungal infestation of feedstuffs by determining ergosterol content. 44th Annual Meeting of EAAP Aarhus, Denmark 1993, pp. 16-19.
- [2] Miedaner T., Perkowski J.: Correlations among *Fusarium culmorum* head blight resistance, fungal colonization and mycotoxin contents in winter rye. *Plant Breed.*, 1996, **115**, 347-351.
- [3] Müller H.M., Metzger K.U., Modi R., Reimann J.J.: Ergosterin und fusarientoxine in weizenkleie und weizen. *J. Anim. Physiol. a Anim. Nutr.*, 1994, **7**, 48-55.
- [4] Müller H.M., Schwadorf K.: Ergosterol and fungal count in cereal by-products. *J. Anim. Physiol. a Anim. Nutr.*, 1990, **64**, 215-219.
- [5] Perkowski J.: Tworzenie mikotoksyn w zbożach przez grzyby rodzaju *Fusarium*. *Post. Nauk Rol.*, 1993, **242**, 67-82.
- [6] Perkowski J., Buśko M., Stuper K., Kostecki M., Matysiak A., Szwajkowska-Michalek L.: Concentration of ergosterol in small – grained naturally contaminated and inoculated cereals. *Biologia*, 2008, **63/4**, 542 -547.
- [7] Perkowski J., Wiwart M., Buśko M., Laskowska M., Berthiller F., Kandler W., Krska R.: *Fusarium* toxins and total fungal biomass indicators in naturally contaminated wheat samples from north-eastern Poland in. *Food Add & Contamin.*, 2003, **24**, 11, 1292 – 1298.
- [8] Saxena, J., Munimbazi, C., and Bullerman, L. B. Relationship of mould count, ergosterol and ochratoxin A production. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **71**, 29-34
- [9] Schnürer J., Jonsson A.: Ergosterol levels and mould colony forming units in Swedish grain of food and feed grade. *Acta Agric. Scan., Sect. B, Soil and Plant Sci.*, 1992, **42**, 240-245.
- [10] Szwajkowska L., Buśko M., Kostecki M., Perkowski J.: Zawartość ergosterolu w mąkach spożywczych. *Biuletyn Naukowy UWM*. 2003, **22**, 101-105.

CONTENT OF ERGOSTEROL IN FOOD PRODUCTS OF CEREALS

Summary

The content of fungal biomass essentially impacts the quality assessment of food products. In this paper, the content of ergosterol (ERG) was presented, i.e. of a fungal biomass bio-indicator in cereal grain, in breakfast foodstuffs containing bran and flakes that were purchased in shops of a retail network in Poznań in 2008, as well as in flours and in the products milled in a laboratory. The highest mean content of ERG was found in oat bran: 30.71 mg/kg, whilst the lowest ERG content, among all the bran types analysed,

was reported in wheat bran: 9.98 mg/kg. Among all the corn flakes tested, the oat flakes were reported to contain the highest amount of ERG: 8.04 mg/kg, and the wheat flakes - the lowest: 0.97 mg/kg. The products containing additives in form of dehydrated fruits had a higher amount of ERG than the analogous products without additives. The rye, barley, oat, and wheat flours were also investigated. The content of ERG in the flours and in the bran tested was compared; it was found that the content of this metabolite was comparable in all the cereal types, and, as for the flours, it was lower by about 97 %. The content of this metabolite in the bran tested was higher if compared with the non-processed grain, and the ERG concentration was higher by about 50 %. In addition to the above mentioned milled products, the content of ERG was also analyzed in the grain gathered in 2008 and stored in cereal storage silos. Here, the highest ERG concentration was found in the oat grain: 16.11 mg/kg, and the lowest in the wheat grain: 4.13 mg/kg.

Key words: ergosterole, bran, flakes, HPLC 

AGNIESZKA ZEMBOLD-GUŁA, JÓZEF BŁAŻEWICZ, KATARZYNA
WOJEWÓDZKA

ZWIĄZKI BIAŁKOWE W BRZECZKACH PIWNYCH WYTWARZANYCH Z DODATKIEM NIEOPLEWIONEGO ZIARNA JĘCZMIENIA

Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu 10 - 40 % substytucji słodu niesłodowanym ziarnem nieoplewionego jęczmienia paszowego odmiany Rastik oraz dodatku preparatu enzymatycznego Ceremix 2XL na zawartość wybranych związków białkowych w brzeczkiach piwnych.

Materiał doświadczalny stanowił sód jęczmienny typu pilzneńskiego oraz ziarno jęczmienia nagiego odmiany Rastik. Surowiec niesłodowany w ilości 10, 20, 30 i 40 % zasypu kleikowano w temp. 90 °C przez 10 min, stosując proporcję surowca do wody 1 : 5. Proces przeprowadzono w różnych wariantach: kleikowanie surowca niesłodowanego bez dodatku, a także z 5 lub 10 % udziałem słodu. Uplynnioną masę łączono ze słodem w temp. 45 °C i poddawano zacieranemu laboratoryjnemu (kongresowemu). W wariantach, w których kleikowanie przebiegało bez dodatku słodu, zacieranie przeprowadzono dwoma sposobami: bez użycia lub z zastosowaniem preparatu enzymatycznego Ceremix 2XL, w dawce 1,8 kg/t ziarna. Próbę porównawczą stanowiła brzeczka uzyskana z samego słodu. Ziarno, sól oraz brzeczki laboratoryjne poddano ocenie. Oznaczono zawartość białka, w słodzie i ziarnie jęczmienia oraz azotu ogółem w brzeczkiach, metodą Kjeldahla, a także zawartość azotu α -aminokwasowego metodą ninhydrynową. Obliczono również liczbę Kolbacha. Oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Stwierdzono, że zastępowanie 10 - 40 % słodu niesłodowanym ziarnem jęczmienia nagiego odmiany Rastik (niezależnie od sposobu kleikowania surowca) powoduje niedobory związków azotowych ogółem i azotu α -aminokwasowego w brzeczkiach. Najefektywniejszym sposobem zapewnienia wystarczającej ilości produktów hydrolizy enzymatycznej białek w brzeczkiach było użycie preparatu enzymatycznego Ceremix 2XL podczas zacierania słodu z niesłodowanym ziarnem, skleikowanym bez dodatku słodu.

Słowa kluczowe: ziarno jęczmienia nagiego, surowiec niesłodowany, sól, brzeczka, związki białkowe, preparat enzymatyczny

Wprowadzenie

Substytucja słodu surowcami niesłodowanymi jest w piwowarstwie polskim i światowym często praktykowana, głównie w celu obniżenie kosztów pozyskiwania brzeczek piwnych [1, 12]. Wykorzystanie w warunkach browaru surowców niesłodowanych wiąże się z koniecznością kleikowania zawartej w nich skrobi. Jest to najczęściej dodatkowy zabieg technologiczny, który w znaczący sposób wpływa na efektywność wykorzystania surowców niesłodowanych w trakcie produkcji brzeczek. Wśród zbożowych surowców niesłodowanych ziarno jęczmienia jest w naszym kraju coraz częściej wykorzystywane, z uwagi na swoją cenę. W porównaniu z niesłodowanym ziarnem jęczmienia, syropy skrobiowe [11], a nawet produkty przemiału ziarna kukurydzy [7, 8, 9, 14] są dla niektórych browarów zbyt drogim zamiennikiem słodu. Nawet najlepiej przygotowane substytuty słodu typu syrop skrobiowy lub grys kukurydziany generują dodatkowe koszty związane ze standaryzacją brzeczek, najczęściej wynikającą z niedoboru produktów hydrolizy enzymatycznej białek.

Niskocząsteczkowe związki białkowe, takie jak aminokwasy i dwu- oraz trójpeptydy są niezbędne do prawidłowego rozwoju drożdży [10]. Stanowią dla nich główne źródło azotu. Technologia otrzymywania piwa w tankach cylindryczno-stożkowych traktuje progowe zawartości azotu α -aminokwasowego jako jeden z ważniejszych wyróżników opisujących przydatność technologiczną brzeczek [10]. Niesłodowane ziarno jęczmienia zawiera co prawda trudne do zhydrolizowania białka, ale stanowi źródło niskocząsteczkowych składników azotowych o składzie nieodbiegającym od tych zawartych w słodzie, co jest niewątpliwą zaletą wykorzystania go jako substytutu słodu [4, 5, 6, 13].

Celem badań było określenie wpływu 10 – 40 % substytucji słodu typu pilzneńskiego niesłodowanym ziarnem jęczmienia nagiego oraz wpływu użycia preparatu enzymatycznego Ceremix 2XL lub słodu jako naturalnego preparatu enzymatycznego na zawartość wybranych związków białkowych w brzeczkach piwnych.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowił sład jęczmienny typu pilzneńskiego oraz ziarno jęczmienia nagiego odmiany Rastik. Surowiec niesłodowany w ilości 10, 20, 30 i 40 % poddawano wstępnemu przygotowaniu w celu przekształcenia skrobi w formę podatną na działanie enzymów słodu. Rozdrobnione ziarno jęczmienia łączono z wodą w stosunku 1 : 5 i utrzymywano w temp. 90 °C przez 10 min. Kleikowanie prowadzono w trzech wariantach. Stosowano kleikowanie surowca niesłodowanego bez dodatku, a także z 5 lub 10 % udziałem słodu, traktowanego jako naturalny preparat enzymatyczny ułatwiający rozplawianie kleikowanej mieszaniny. W ten sposób upłynnioną masę łączono ze sładem w temp. 45 °C i poddawano zacieraniu kongresowemu. Wa-

rianty, w których kleikowano surowiec niesłodowany bez dodatku słodu zacierano bez użycia lub z zastosowaniem preparatu enzymatycznego Ceremix 2XL, w dawce 1,8 kg/t ziarna. W pracy określano zawartość białka w słodzie i w ziarnie jęczmienia oraz zawartość azotu ogółem w brzezcach metodą Kjeldahla. W brzezcach oznaczano ponadto zawartość azotu α -aminokwasowego metodą ninhydrynową. Obliczano także liczbę Kolbacha. Oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Ocenę brzezców laboratoryjnych (kongresowych) otrzymanych z samego słodu oraz ze słodu z dodatkiem surowca niesłodowanego przeprowadzono zgodnie z wymaganiami analityki EBC [3].

Wyniki i dyskusja

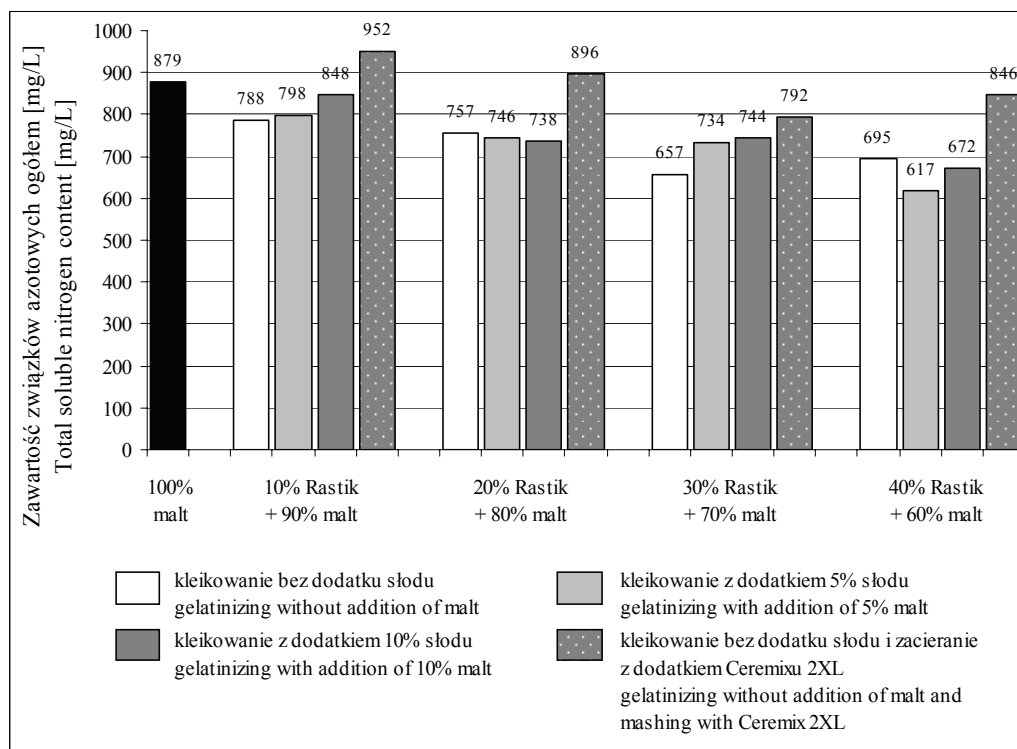
Według Kunzego [10] sól typu pilzneńskiego powinien zawierać do 10,8 % białka, dostarczać minimum 650 mg związków azotowych i od 200 do 300 mg azotu α -aminokwasowego w litrze brzezki oraz charakteryzować się liczbą Kolbacha wynoszącą co najmniej 35 %. W doświadczeniu użyty został sól o parametrach mieszczących się w tych wymaganiach. Sól jasny typu pilzneńskiego zawierał 10 %, a jęczmień nagi 13 % białka w suchej masie.

Na podstawie zawartości związków azotowych ogółem w brzezcach otrzymanych z 10, 20, 30 i 40 % udziałem niesłodowanego ziarna jęczmienia odmiany Rastik (rys. 1) można stwierdzić, że wszystkie warianty kleikowania ziarna w dawkach 10-30 % pozwoliły na pozyskanie brzezki o odpowiedniej zawartości rozpuszczalnych produktów hydrolizy enzymatycznej białek. Kleikowanie niesłodowanego surowca bez dodatku słodu w największym stopniu ograniczało zawartość związków azotowych w brzezcach od 788 do 657 mg N/L brzezki. W najmniejszym stopniu zmniejszało ilość tych składników zacieranie słodu i surowca niesłodowanego w obecności preparatu Ceremix 2XL oraz kleikowanie ziarna z 10 % dodatkiem słodu. Udział 40 % niesłodowanego jęczmienia w zacierze nie spowodował ponadnormatywnego obniżenia zawartości związków azotowych.

Najbardziej efektywnym sposobem zapewnienia odpowiedniej ilości związków azotowych w brzezce było zatem użycie preparatu Ceremix 2XL, zalecanego przez producenta (firmę Novozymes), jako odpowiednio skomponowanego zestawu enzymów, głównie amylolitycznych, ale i proteolitycznych, odpowiednich przy przerobieniu surowców niesłodowanych [2, 12].

Zawartość azotu α -aminokwasowego w brzezcach piwnych jest podstawowym wyróżnikiem jakości brzezki piwnej, a szczególnie otrzymywanej z użyciem surowców niesłodowanych. W oczywisty sposób surowce te zmniejszają ilość aminokwasów w brzezce. Według różnych autorów łatwiej jest uzupełnić niedobory α -aminokwasów niż uzyskać wystarczającą ich ilość w brzezcach otrzymywanych z udziałem substytutów słodu [2]. Wyniki tych badań wskazują jednoznacznie (rys. 2),

że zastąpienie słołu 10 i 20 % dawką niesłodowanego ziarna zmniejsza zawartość azotu α -aminokwasowego do poziomu nieco ponad 200 mg/l. Udział 30 % ziarna zapewnia jeszcze wystarczającą ilość aminokwasów, gdyż przekracza wartość 150 mg/l, co wg niektórych autorów jest najniższym dopuszczalnym poziomem zawartości azotu α -aminokwasowego. Substytucja 40 % słołu niesłodowanym ziarnem jęczmienia jedynie przy użyciu preparatu Ceremix 2XL pozwala na zachowanie wystarczającej ilości tych związków w brzeczce.



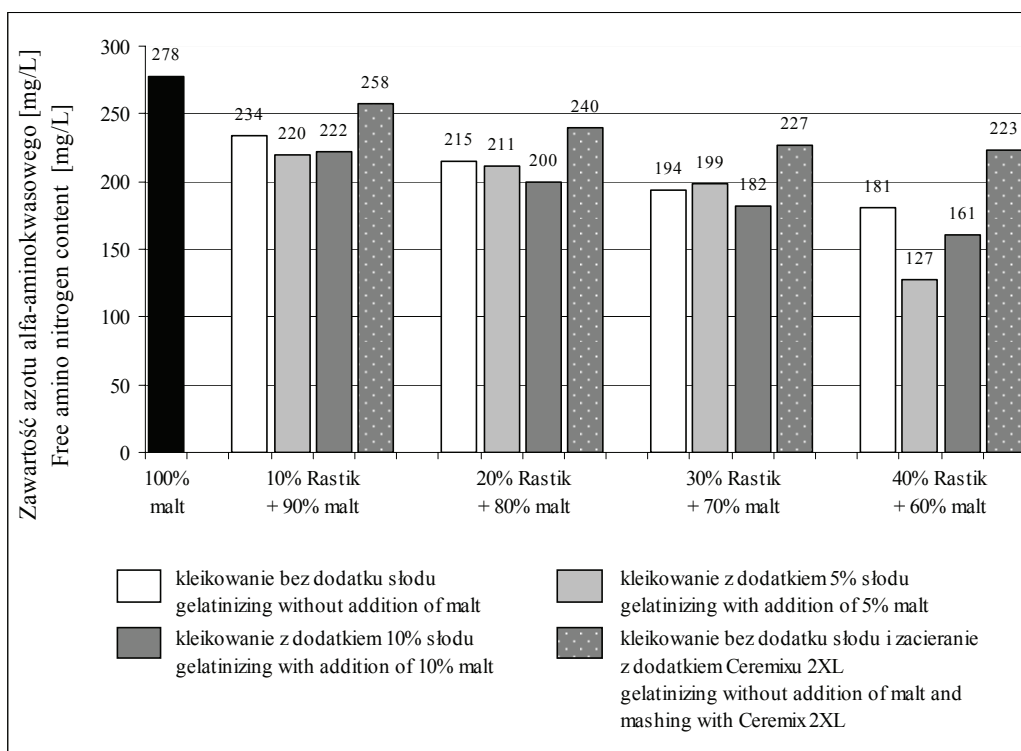
Rys. 1. Zawartość związków azotowych ogółem w brzeczках laboratoryjnych w zależności od składu zacieru oraz sposobu przygotowania surowców.

Fig. 1. Content of total soluble nitrogen compounds in worts depending on the composition of mash and the way of pre-treating the raw materials.

Liczba Kolbacha jest wskaźnikiem jakości słołu informującym o procentowym udziale białek słołu, które w różnym stopniu zhydrolizowane przenikają do brzeczki piwnej. Liczba ta jest używana przez niektórych autorów do oceny efektów zacierania słołów z surowcami niesłodowanymi [7, 8, 9, 13].

Zacierając sółd w kompozycji z ziarnem jęczmienia można zakładać, że związki białkowe wyekstrahowane do brzeczki ze słołu i niesłodowanego ziarna będą charak-

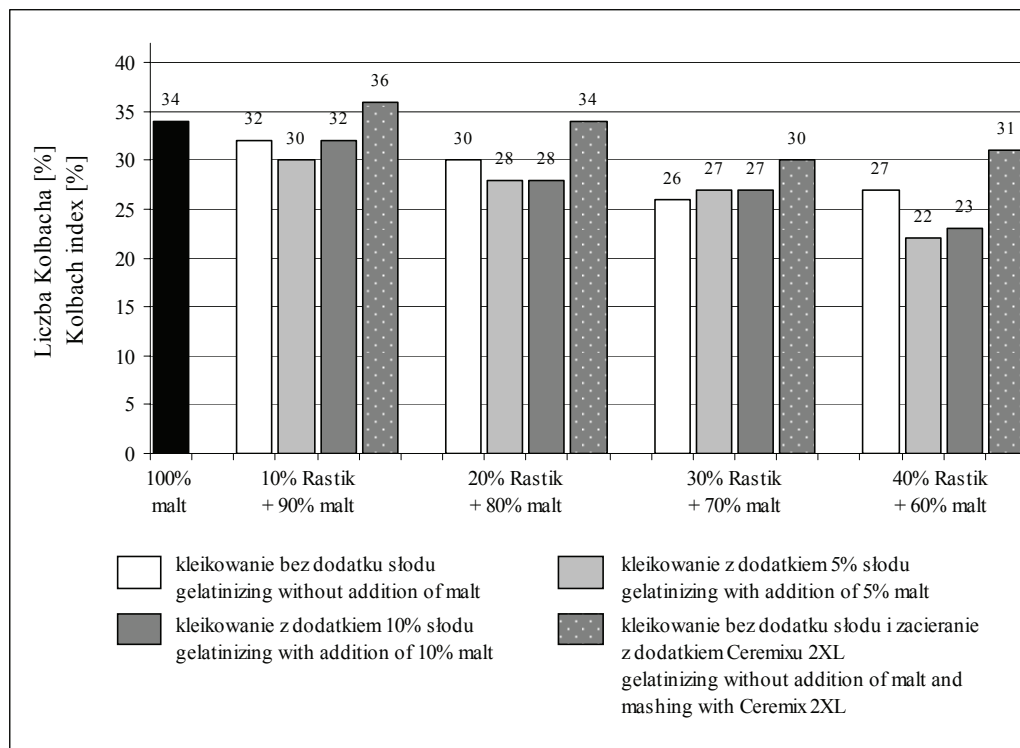
teryzowały się podobnym profilem aminokwasowym, różnicę natomiast będzie tylko stopień hydrolizy. W dostępnej literaturze brakuje danych na temat udziału produktów hydrolizy białek pochodzących ze słodu i jego różnych zamienników w brzeczkiach piwnych [1]. Tradycyjna ocena jakości brzeczki sprowadza się tylko do oznaczenia ilości produktów hydrolizy białek, a nie ich przydatności w odżywianiu drożdży piwowarskich [10].



Rys. 2. Zawartość azotu α -aminokwasowego w brzeczkiach laboratoryjnych w zależności od składu zacieru oraz sposobu przygotowania surowców.

Fig. 2. Content of α -amino acid nitrogen in worts depending on the composition of mash and the way of pre-treating the raw materials.

Słód użyty w doświadczeniu charakteryzował się małą liczbą Kolbacha, która we wszystkich wariantach kleikowania surowca była mniejsza niż w samym słodzie (rys. 3). Zastosowanie preparatu Ceremix 2XL pozwoliło na utrzymanie jej na poziomie tylko od 30 do 36 %, co jest rezultatem mało zadowalającym.



Rys. 3. Wartość liczby Kolbacha w zależności od składu zacieru oraz sposobu przygotowania surowców.

Fig. 3. Value of Kolbach index depending on the composition of mash and the way of pre-treating the raw materials.

Wnioski

1. Użycie 5 lub 10 % dodatku słołu pilzneńskiego w formie naturalnego preparatu enzymatycznego w czasie kleikowania niesłodowanego ziarna jęczmienia nagiego nie przyczynia się do znaczącego zwiększenia zawartości związków azotowych ogółem oraz azotu α -aminokwasowego w brzeczkiach piwnych.
2. Zacieranie skleikowanego ziarna jęczmienia nagiego odmiany Rastik w obecności preparatu enzymatycznego Ceremix 2XL pozwala na utrzymanie zawartości związków azotowych i azotu α -aminokwasowego na poziomie porównywalnym z ich zawartością w brzeczce z samego słołu.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Agu C. R.: A comparison of maize, sorghum and barley as brewing adjuncts. *J. Inst. Brew.*, 2002, **108**, 19-22.
- [2] Albin P.A., Briggs D.E., Wadeson A.: Microbial enzymes and their effects on extract recoveries from unmalted adjuncts. *J. Inst. Brew.*, 1987, **93 (3-4)**, 97-104.
- [3] Analytica – EBC: Verlag Hans Carl Getraenke – Fachverlag, Nurnberg 1998.
- [4] Bhatti R. S.: The potential of hull-less barley. *Cereal Chem.*, 1999, **76 (5)**, 589-599.
- [5] Błażewicz J., Liszewski M., Zembold A.: Technological properties of worts obtained from malts of naked barley grain. *Acta Sci. Pol., Technologia Alimentaria*, 2007, **6 (1)**, 37-48.
- [6] Błażewicz J., Liszewski M.: Ziarno jęczmienia nagiego odmiany 'Rastik' jako surowiec do produkcji sódów typu pilzneńskiego. *Acta Sci. Pol., Technologia Alimentaria*, 2003, **2 (1)**, 63-74.
- [7] Błażewicz J., Zembold-Guła A.: Milled corn products in worts production. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **4 (A)/57**, 41-44.
- [8] Jurek K., Błażewicz J., Petrów A.: Właściwości piw wytwarzanych z dodatkiem produktów przemianu ziarna kukurydzy w warunkach uproszczonej technologii. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3 (40) Supl.**, 109-118.
- [9] Jurek K., Petrów A.: Wpływ substytucji słodu przetworami kukurydzianymi na zawartość azotu alfa-aminowego w brzeczkiach laboratoryjnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **2 (35) Supl.**, 49-60.
- [10] Kunze W.: *Technologia piwa i słodu*. Piwochmiel Spółka z o.o., Warszawa 1999.
- [11] Musiał D.: Syropy skrobiowe i ich zastosowanie w fermentacjach. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2002, **3**, 4.
- [12] Solarek L.: Kleikowanie i upłynnianie surowców skrobiowych niesłodowanych z zastosowaniem enzymów mikrobiologicznych Novozymes. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2001, **12**, 10.
- [13] Zembold A., Błażewicz J.: Ziarno jęczmienia nagiego i oplewionego jako surowiec niesłodowany w piwowarstwie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **3 (48)**, 35-50.
- [14] Zembold-Guła A., Błażewicz J.: Wpływ modyfikacji czasu słodowania ziarna jęczmienia na cechy brzeczki otrzymanych z udziałem grysu kukurydzianego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5 (54)**, 75-81.

PROTEIN COMPOUNDS IN BREWING WORTS PRODUCED WITH ADDITION OF NAKED BARLEY GRAIN

S u m m a r y

The objective of the research was to determine the impact of substituting 30-40 % of malt by non-malted grain of naked fodder barley of Rastik cultivar, as well as the impact of the addition of Ceremix 2XL enzymatic preparation on the content of some selected protein compounds contained in brewing worts.

The materials used in this study were barley malt of the Pilzen type and naked barley grain of Rastik cultivar. The non-malted raw material, its amount being 10 %, 20 %, 30 %, or 40 % of the charge, was gelatinized at a temperature of 90°C during a 10 minute period; the ratio between grain and water was 1:5. The process was conducted in three variants: gelatinizing of non-malted raw material without additives, with 5 %, or with 10 % of malt added. The mass gelatinized was mixed with malt at a temperature of 45°C. Next, it was mashed using a laboratory (congress) method. In the process variants when the gelatinization was performed with no malt added, the mashing process was performed using two methods:

without the Ceremix 2XL enzymatic preparation or with this preparation added, its dose being 1.8 kg per one tonne of grain. A comparative sample was wort produced from malt only. Next, the barley grain, malt, and laboratory worts were assessed. The following parameters were determined by a Kjeldahl method: protein content in malt and in barley grain, and total nitrogen content in worts. The content of α amino acid nitrogen in worts was determined using a ninhydrin method. Furthermore, the Kolbach index was calculated. The entire determination procedure was three times repeated.

It was found that when 10-40 % of malt was substituted by the non-malted naked barley grain of Rastik cultivar (regardless of the method used to gelatinize it), the product showed deficiency of the total soluble nitrogen and of free amino in worts. The application of Ceremix 2XL enzymatic preparation to the process of mashing the malt and non-malted barley grain mixture, gelatinized without the addition of malt, was the most effective way to ensure the sufficient quantity of protein hydrolysis products in worts.

Key words: naked barley grain, non-malted raw material, malt, wort, protein compounds, enzymatic preparation ☒

PATRYCJA KŁOS, ANNA ŁOZA, ELEONORA LAMPART-SZCZAPA,
JACEK KARCZEWSKI

OCENA LEKTYNOPODOBNYCH WŁAŚCIWOŚCI GLOBULIN Z NASION ŁUBINU WĄSKOLISTNEGO (*LUPINUS ANGUSTIFOLIUS*, ODM. BARON)

Streszczenie

Łubin, w porównaniu z innymi roślinami strączkowymi, zawiera niewielkie ilości związków antyżywnościowych, w tym lektyn. Dowiedziono jednak, że w jego nasionach znajdują się substancje lektynopodobne, co może być czynnikiem ograniczającym zastosowanie łubinu w żywieniu człowieka.

Celem przeprowadzonych badań była ocena lektynopodobnych właściwości globulin łubinu wąskolistnego poprzez sprawdzenie, czy białka te mogą stymulować proliferację limfocytów oraz powodować aglutynację erytrocytów człowieka.

Wyizolowane erytrocyty poddawano działaniu wybranych frakcji białkowych. Wynik doświadczenia oceniano mikroskopowo. Limfocytom w hodowli podawano odpowiednio: frakcje globulinowe oraz mitogen. Na podstawie ilości inkorporowanej do DNA limfocytów znakowanej radioaktywnie tymidyny określano stopień proliferacji. Proliferację limfocytów oceniano również z wykorzystaniem cytometrii przepływowej.

Wśród erytrocytów poddanych działaniu łubinowych globulin nie zaobserwowano zjawiska aglutynacji. Podobnie, w populacji limfocytów inkubowanych z badanymi białkami łubinu nie stwierdzono podwyższonego poziomu proliferacji komórek. Na podstawie uzyskanych danych stwierdzono, że badane frakcje globulin łubinu nie wykazują typowej dla lektyn zdolności aglutynowania erytrocytów. Nie indukują również proliferacji limfocytów. Otrzymane wyniki świadczą o tym, że białka te, spożyte z pokarmem, nie mogą spowodować wystąpienia reakcji odpornościowej, wywołanej zlepianiem i aktywacją limfocytów, czy hemaglutynacją.

Słowa kluczowe: globuliny łubinu, właściwości lektynopodobne, aglutynacja, proliferacja

Wprowadzenie

Nasiona łubinu, coraz częściej stosowane w przemyśle spożywczym w krajach Europy Zachodniej i Australii, są, obok soi, uznawane za najbogatsze źródło warto-

Dr P. Kłos, mgr inż. A. Łoza, dr hab. E. Lampart-Szczapa, Katedra Biochemii i Analizy Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Mazowiecka 48, 60-623 Poznań, dr J. Karczewski Katedra Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Długa 1/2, 61-848 Poznań

ściowego białka roślinnego [5, 24]. O ich atrakcyjności stanowi korzystny skład aminokwasowy białka, porównywalny z pełnowartościowym białkiem sojowym oraz zawartość wielu związków o właściwościach potencjalnie prozdrowotnych, jak choćby błonnik [17], związki fenolowe czy tokoferole [20]. Wszystkie te zalety sprawiają, że nasiona łubinu są przydatnym surowcem do produkcji żywności funkcjonalnej [6, 17, 25] oraz żywności specjalnego przeznaczenia [30].

Rodzina strączkowych, do której należy łubin, obfituje w gatunki zawierające znaczne ilości substancji antyżywnościowych, w tym lektyn. Substancje te mogą wywołać reakcję odpornościową, poprzez związanie się z receptorami na powierzchni komórek układu immunologicznego i ich aktywowanie. Odpowiadają także za aglutynację czerwonych krwinek [1, 4, 21]. W przeciwieństwie do większości roślin strączkowych, łubin zawiera niewielkie ilości lektyn i innych substancji antyżywnościowych [20]. Dowiedziano jednak, że wśród globulin nasion łubinu znajdują się substancje o właściwościach lektynopodobnych, wiążące N-glikozylowane białka [10, 12]. Ustalono też, że ekstrakty białkowe z nasion łubinu białego mają właściwości aglutynujące [13].

W literaturze światowej liczne są doniesienia na temat występowania reakcji alergicznej po spożyciu produktów wzbogaconych łubinem [8, 11, 23, 27]. Silne właściwości alergizujące łubinowych białek przyczyniły się do umieszczenia łubinu na liście głównych alergenów pokarmowych, obok białek mleka, jaja, czy soi oraz wprowadzenia obowiązku znakowania produktów wzbogaconych łubinem [7]. Jak dotąd, brak jednak informacji na temat mitogennego oddziaływania białek łubinu na komórki układu immunologicznego, pomimo wykrycia wśród globulin łubinu białek o właściwościach zbliżonych do lektyn. Brak również doniesień na temat aglutynowania erytrocytów człowieka przez białka pochodzące z nasion łubinu wąskolistnego, będącego najbardziej popularnym gatunkiem uprawnym łubinu (obok łubinu żółtego) w Polsce [30].

Celem badań było przeanalizowanie właściwości lektynopodobnych globulin z nasion łubinu wąskolistnego poprzez sprawdzenie czy białka te mogą, podobnie jak większość lektyn, stymulować podziały komórkowe limfocytów oraz powodować aglutynację erytrocytów człowieka. Takie właściwości białek łubinu, będących składnikiem żywności, mogłyby mieć negatywny wpływ na prawidłowe funkcjonowanie układu immunologicznego człowieka.

Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiły wybrane frakcje globulin łubinu wąskolistnego, odmiany Baron, uzyskane w wyniku ekstrakcji [14] i filtracji żelowej globulin. Ekstrakcję prowadzono przez 4 h, w temp. pokojowej, z użyciem buforu o pH 8, zawierającego: 10 mM CaCl₂, 10 mM MgCl₂ oraz 1 mM PMSF. Filtrację żelową wykonywano w kolumnie chromatograficznej (szklana kolumna, 45 cm x 3 cm, Labart) wypełnionej zło-

żem Sephadex G 200 (Sigma). Na szczyt kolumny nanoszono 10 ml uzyskanego ekstraktu globulinowego. Rozdział prowadzono przy prędkości przepływu 0,76 ml/min, stosując 50 mM bufor Tris-HCl, pH 7,5 w ilości równej całkowitej objętości kolumny. W otrzymanych frakcjach oznaczano stężenie białka metodą wg Bradford [3]. Profil elucyjny globulin przedstawiono na rys. 1. Do badań wybrano trzy frakcje globulinowe (1, 2, 3), o największym stężeniu białka, wynoszącym odpowiednio: 676, 177 i 144 $\mu\text{g/ml}$. Elektroforetyczną ocenę mas cząsteczkowych badanych frakcji wykonywano metodą wg Laemmli [19], w 10 % żelu poliakrylamidowym z dodatkiem SDS.

W testach proliferacji limfocytów i aglutynacji erytrocytów używano krwi uzyskanej od pięciu zdrowych dawców (po 10 ml) (Wojewódzka Stacja Krwiodawstwa w Poznaniu). W przypadku testów proliferacji krew pobierano na kryształki heparyny litowej (S-Monovette[®], Sarstedt), do testów aglutynacji – na cytrynian sodu (POCH). Na badania na tkankach ludzkich uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej w Poznaniu (numer uchwały: 1139/05).

Ilościowy odczyn aglutynacji (wg Kabat i Mayer) [18]

Krew pobierano do probówek zawierających 0,38 % roztwór cytrynianu sodu (cztery objętości krwi na jedną objętość cytrynianu). Po dokładnym wymieszaniu krew sączono przez warstwę gazy do probówki wirówkowej i wirowano (300 x g, 5 min). Po zebraniu surowicy krwinki zawieszano w płynie fizjologicznym (0,9 % NaCl) (do 10 ml) i wirowano (300 x g, 5 min). Supernatant usuwano, a krwinki płukano jeszcze dwukrotnie. Po ostatnim wirowaniu (200 x g, 5 min) krwinki zawieszano w płynie fizjologicznym, w stosunku 1:10. Do dołków płytki 96-dołkowej nakrapiano po 50 μl zawiesiny krwinek uzyskanej z krwi grupy A, B lub 0, a następnie uzupełniano do 100 μl frakcjami globulinowymi (odpowiednio: frakcją nr 1, 2 lub 3). Stężenie białka w badanych frakcjach wcześniej wyrównywano za pomocą 50 mM buforu Tris-HCl, pH 7,5. Kontrolę ujemną stanowiły krwinki inkubowane w roztworze soli fizjologicznej. W kontroli dodatniej zawiesinę krwinek poddawano działaniu PHA (Sigma, nr kat. L9132). Krwinki inkubowano następnie z badanymi globulinami przez 30 min, w temp. 37 °C, w inkubatorze Kebo Assab (Kebo Assab AB). Po tym czasie preparaty nanoszono na szkiełka podstawowe i oglądano pod mikroskopem (Olympus BX50) przy powiększeniu x 100, z użyciem olejku imersyjnego.

Założenie hodowli limfocytów (wg Seski i wsp.) [28]

Z krwi pobieranej na heparynę litową izolowano limfocyty, stosując metodę wg Boyum i wsp. [2]. Rozcieńczoną podłożem hodowlanym (D-MEM) (Gibco, nr kat. 31885-023), w stosunku 1:1, krew podwarstwiano roztworem gradientowym Gradisol L (Aqua Medica, nr kat. H9003C) (3:1) i wirowano (30 min, 400 x g). Wyodrębnioną

po wirowaniu interfazę zbierano i uzupełniano (do 20 ml) płynem Hanksa (HBSS) (Gibco, nr kat. 24020-091), wzbogaconym gentamycyną (1 ml/100 ml płynu), a następnie wirowano (10 min, 400 x g). Osad limfocytów przepłukiwano HBSS z dodatkiem gentamycyny (w ilości - jak wyżej). W otrzymanym osadzie komórek ustalano liczbę limfocytów, zliczając je za pomocą cytometru przepływowego Cytoron Absolute (Ortho Diagnostic Systems, A Johnson&Johnson Company). Zawiesinę wyizolowanych limfocytów rozcieńczano do stężenia 4 mln komórek/ml za pomocą D-MEM wzbogaconego gentamycyną (1 ml/100 ml medium) i surowicą cielecą płodową (Gibco, nr kat. 10106-151) o końcowym stężeniu - 10 %. Tak przygotowane limfocyty stanowiły materiał do założenia hodowli. Hodowlę limfocytów prowadzono w jałowych płytkach 96-dółkowych, U-kształtnych. W fazie początkowej do każdego dołka dodawano po 100 μ l przygotowanej wcześniej zawiesiny limfocytów o stężeniu 4 mln komórek/ml oraz odpowiednio:

- A/ po 100 μ l fitohemaglutyniny roślinnej PHA, rozpuszczonej w D-MEM do stężenia 2 μ g/ml (kontrola dodatnia),
- B/ po 100 μ l odpowiedniej frakcji globulinowej (próby badane), rozpuszczonej w D-MEM do stężenia 2 μ g/ml,
- C/ po 100 μ l D-MEM (kontrola ujemna).

Tak przygotowane płytki umieszczano w inkubatorze do hodowli komórkowych. Hodowlę prowadzono (w zależności od jej przeznaczenia) przez 24 lub 72 h, przy nasyceniu powietrza 5 % CO₂, w temp. 37 °C.

Cytometryczny pomiar proliferacji limfocytów

Po upływie 24 h od momentu założenia hodowli, przenoszono po 50 μ l zawiesiny komórkowej do szklanych probówek. Do wszystkich dodawano, starannie mieszając, po 2 μ l przeciwciał skierowanych przeciwko cząsteczkom CD3, znakowanych izotiocyanianem fluoresceiny (FITC) (BD Pharmingen, nr kat. 555339) oraz przeciwciał przeciwko cząsteczkom CD25, znakowanych FITC (BD Pharmingen, nr kat. 555431). Próby inkubowano przez ok. 20 min, w ciemności. Po tym czasie dodawano do nich po 400 μ l płynu do lizy erytrocytów (8,26 g/l NH₄Cl, 1,0 g/l K₂CO₃, 0,037 g/l EDTA, pH 7,2), a następnie dokonywano pomiaru stopnia proliferacji limfocytów, przy użyciu cytometru przepływowego FACScan (Becton Dickinson).

Ocena proliferacji limfocytów z wykorzystaniem znakowanej H³-tymidyny (wg Seski i wsp.) [28]

W trzecim dniu od momentu założenia hodowli (72 h) komórkom podawano znakowaną H³-tymidynę (Prospecta, nr kat. 24041) w ilości 1 μ l/studzienkę. Po sześciu

godzinach inkubacji z H^3 -tymidyną, hodowle przenoszono na filtry (Whatman). Filtry suszono w temperaturze pokojowej, a następnie umieszczano w rękawach foliowych z 4 ml płynu scyntylacyjnego (PerkinElmer, nr kat. 1200-437) i mierzono radioaktywność w liczniku scyntylacyjnym MicroBeta[®] TRILUX (Wallac). Na podstawie ilości inkorporowanej do DNA limfocytów, znakowanej radioaktywnie tymidyny, określano stopień proliferacji komórek.

Otrzymane wyniki poddawano obróbce statystycznej, wykorzystując do tego celu program Statistica[™] PL 7.0 (StatSoft). W celu określenia czy próba losowa pochodzi z populacji o rozkładzie normalnym stosowano test Shapiro-Wilka. W celu porównania wartości średnich badanych cech wykorzystano analizę wariancji w odniesieniu do układów czynnikowych o zróżnicowanej bądź równej liczbie obserwacji, a różnice międzygrupowe oceniono testem Tukey'a przy równej liczności prób. W zastosowanych testach wartość $p < 0,05$ była uważana za statystycznie istotną.

Wyniki i dyskusja

Spośród uzyskanych w wyniku filtracji żelowej frakcji globulinowych, do badań wybrano trzy (frakcje nr 1, 2 i 3), o najwyższym stężeniu białka, wynoszącym odpowiednio: 676, 177 i 144 $\mu\text{g/ml}$ (rys. 1).

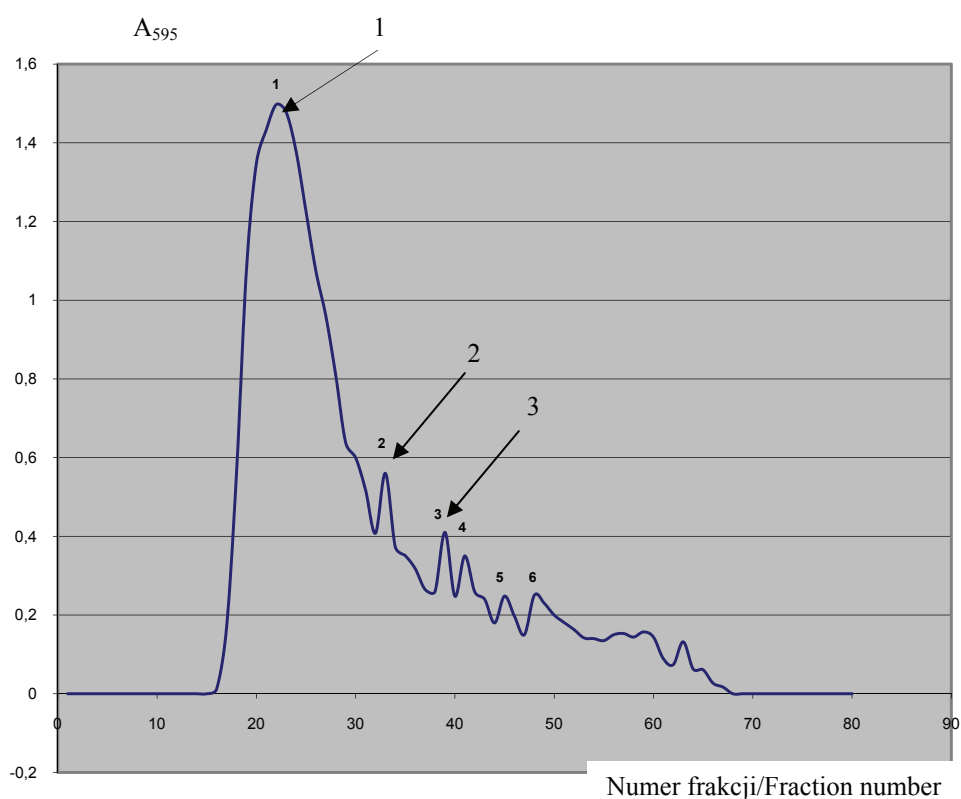
Elektroforetyczna ocena mas cząsteczkowych badanych frakcji globulin łubinu wykazała obecność białek o wielkości $35 \cdot 10^3$ - $55 \cdot 10^3$ Da, we frakcji nr 1 oraz białek o masach cząsteczkowych ok. $35 \cdot 10^3$, $40 \cdot 10^3$, $55 \cdot 10^3$ i $90 \cdot 10^3$ Da, we frakcjach nr 2 i 3 (fot. 1).

Właściwości aglutynujące globulin zawartych w badanych frakcjach badano poprzez inkubację poszczególnych frakcji białkowych z erytrocytami izolowanymi z krwi człowieka, w układzie grupowym A, B, 0. W obserwowanych pod mikroskopem preparatach erytrocytów nie zaobserwowano obecności, charakterystycznych dla aglutynujących krwinek, konglomeratów komórek (fot. 2 i 3). Na tej podstawie stwierdzono, że żadna z badanych frakcji nie miała, typowej dla lektyn, zdolności aglutynowania czerwonych krwinek.

W celu oceny mitogennych właściwości globulin łubinu zastosowano cytometryczną ocenę proliferacji komórek. Metoda ta pozwala oszacować ilość limfocytów T (stanowiących większą część populacji limfocytów), ulegających proliferacji pod wpływem badanej substancji.

Badane globuliny łubinu nie wykazywały właściwości mitogennych w stosunku do limfocytów człowieka (rys. 2). Ilość proliferujących limfocytów T, poddanych działaniu łubinowych globulin, w niewielkim stopniu różniła się statystycznie od ilości proliferujących komórek, hodowanych jedynie z pożywką (kontrola ujemna). Poziomy proliferacji w populacji komórek poddanych działaniu frakcji nr 2 i 3 (białka o masach cząsteczkowych $35 \cdot 10^3$, $4 \cdot 10^3$, $55 \cdot 10^3$ i $90 \cdot 10^3$ Da) nie różniły się statystycznie między

sobą i były niewiele niższe od poziomu proliferacji komórek kontrolnych. Liczba dzielących się limfocytów T, hodowanych w obecności globulin z frakcji nr 1 (białka o wielkości $35 \cdot 10^3 - 55 \cdot 10^3$ Da), różniła się nieznacznie statystycznie od ilości dzielących się komórek, poddanych działaniu pozostałych dwóch frakcji i była nieznacznie wyższa od liczby limfocytów kontrolnych. Statystycznie istotne różnice poziomu proliferacji komórek zaobserwowano natomiast pomiędzy populacjami limfocytów hodowanych w obecności analizowanych frakcji, a populacją limfocytów, którym podano mitogen (kontrola dodatnia). Poziom ten był znacząco wyższy w komórkach poddanych działaniu PHA (rys. 2).

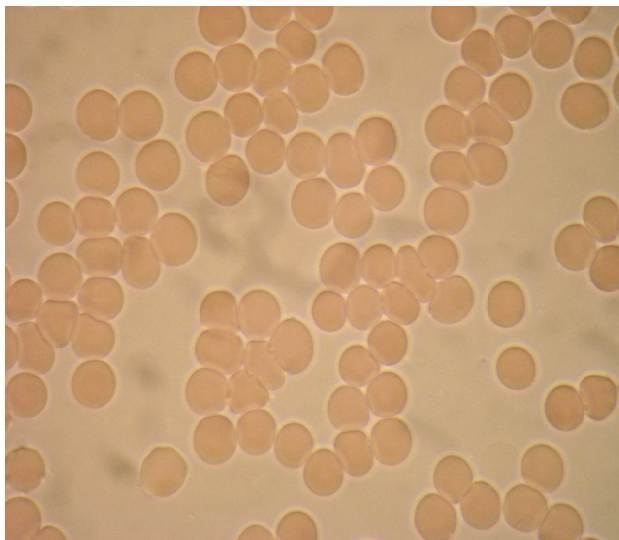
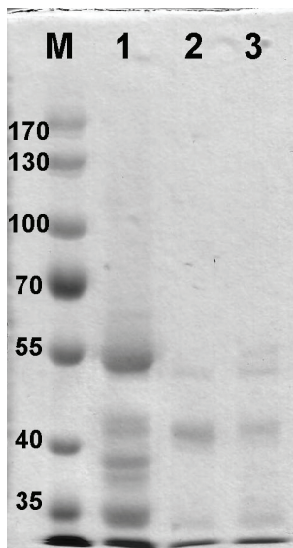


Objaśnienia: / Explanatory notes:

1, 2, 3 – frakcje globulinowe o najwyższym stężeniu białka (odpowiednio: 676, 177 i 144 $\mu\text{g/ml}$) / globulin fractions with the highest protein concentration (676, 177 and 144 $\mu\text{g/ml}$, respectively); A_{595} – absorbancja przy $\lambda=595$ nm / absorbance at $\lambda=595$ nm.

Rys. 1. Rozdział globulin łubinu w kolumnie chromatograficznej

Fig. 1. The separation of lupin globulins in a chromatographic column.

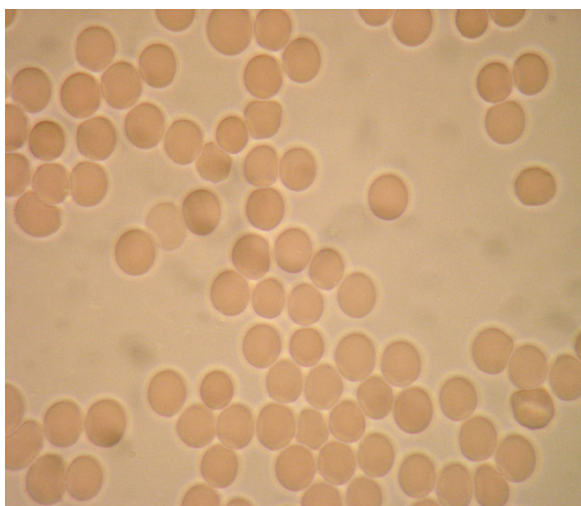


Fot. 1. Elektroforegram SDS-PAGE trzech badanych frakcji globulinowych (1, 2, 3). M – wzorzec mas cząsteczkowych (10^3 Da).

Phot. 1. Electrophoregram (SDS-PAGE) of the three globulin fractions (1, 2, 3) investigated. M – molecular weight marker (10^3 Da).

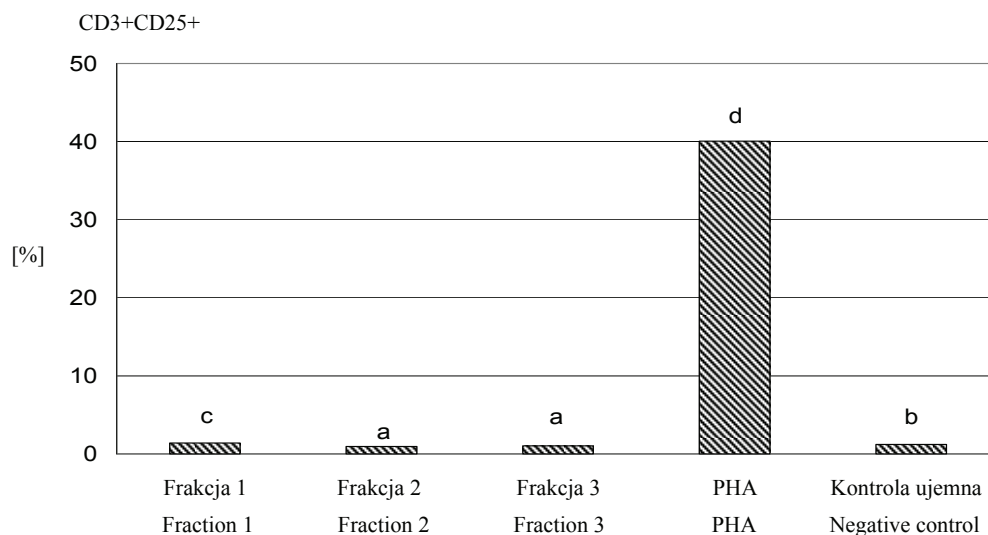
Fot. 2. Krwinki grupy B inkubowane z frakcją globulinową nr 2 (powiększenie x100).

Phot. 2. B-group erythrocytes incubated with globulin fraction No. 2 (magnification of 1x100).



Fot. 3. Krwinki grupy B inkubowane w roztworze soli fizjologicznej (0,9 % NaCl), bez dodatku frakcji globulinowych – kontrola ujemna (powiększenie x100).

Phot. 3. B-group erythrocytes incubated with physiological saline (0.9 % NaCl), without the addition of globulin fractions – negative control (magnification by 1x100).

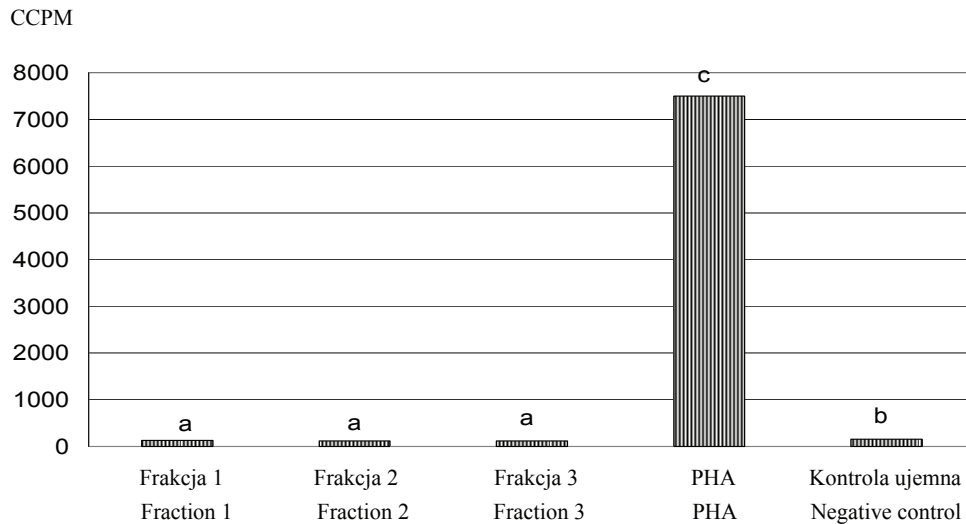


Rys. 2. Poziom proliferacji limfocytów poddanych działaniu badanych frakcji globulinowych oraz mitogenu (PHA). CD3+CD25+ - receptory obecne na powierzchni proliferujących limfocytów T. Ich udział procentowy odzwierciedla ilość dzielących się limfocytów. Inskrypcje literowe oznaczają statystycznie istotną różnicę na poziomie $p < 0,05$.

Fig. 2. Proliferation level of lymphocytes treated with the globulin fractions under analysis and the mitogen (PHA), respectively. CD3+CD25+ - receptors present on the surface of proliferating T lymphocytes. Their per-cent rate of content reflects the amount of proliferating cells. Small letters denote a statistically significant difference ($p < 0.05$).

W celu weryfikacji danych, uzyskanych podczas analizowania podziałów limfocytów pod wpływem frakcji globulinowych, zastosowano metodę oceny proliferacji komórek z wykorzystaniem trytowanej tymidyny. Metoda ta pozwala oszacować ilość wszystkich limfocytów (zarówno T, jak i B), które uległy podziałom. Przeprowadzone badania potwierdziły, że analizowane frakcje globulin łubinu nie mają właściwości mitogennych w stosunku do ludzkich limfocytów (rys. 3). Mimo, że ilość proliferujących limfocytów, poddanych wcześniej działaniu badanych frakcji globulinowych, różniła się statystycznie istotnie od poziomu proliferacji zaobserwowanego wśród limfocytów kontrolnych, różnice te były niewielkie. Poziom proliferacji badanych komórek limfocytów był nieznacznie niższy niż w przypadku populacji limfocytów kontrolnych. Porównując natomiast ilość proliferujących komórek poddanych działaniu mitogenu z poziomem proliferacji w próbach badanych, stwierdzono wystąpienie statystycznie istotnych różnic. Ilość proliferujących limfocytów, którym podczas zakładania hodowli podawano PHA, była znacznie wyższa od ilości dzielących się komórek, które poddano działaniu globulin łubinu. Jednocześnie nie stwierdzono występowania staty-

stycznie istotnych różnic poziomu proliferacji pomiędzy poszczególnymi badanymi próbami.



Rys. 3. Poziom proliferacji limfocytów poddanych działaniu badanych frakcji globulinowych oraz mitogenu (PHA). CCPM – ilość komórek zliczanych w ciągu 1 min. Inskrypcje literowe oznaczają statystycznie istotną różnicę na poziomie $p < 0,05$.

Fig. 3. Proliferation level of lymphocytes treated with the globulin fractions under analysis and the mitogen (PHA), respectively. CCPM – number of cells counted during one minute. Small letters denote a statistically significant difference ($p < 0,05$).

W warunkach *in vivo*, antygeny wnikaające do organizmu wiążą się swoiście z receptorami na powierzchni limfocytów i powodują odpowiedź proliferacyjną tylko określonego ich klonu (od ok. 0,01 do 0,1 % klonów), skierowanego przeciwko danemu antygenowi. Zjawisko to umożliwia unieszkodliwienie, a następnie usunięcie z ustroju czynników patogennych i jest korzystne dla organizmu [15, 22]. Lektyny, wiążąc określone reszty węglowodanowe na powierzchni limfocytów, powodują ich aglutynację, a w konsekwencji poliklonalną aktywację podziałów komórkowych. Dzieje się tak dlatego, że proliferujące komórki nie są specyficzne względem działającego mitogenu [26, 29]. W konsekwencji aktywowania tak dużej liczby limfocytów dochodzi do masowego wytwarzania cytokin prozapalnych, skutkującego zwiększeniem przepuszczalności naczyń krwionośnych i szokiem, co jest zdecydowanie szkodliwe dla organizmu [22]. W tym kontekście wynik badań, świadczący o braku właściwości mitogennych głównych frakcji globulinowych łubinu, jest wiadomością pozytywną. Oznacza bowiem, że białka te mogą być przyjmowane jako składnik pożywienia, bez

obawy o wystąpienie niepożądanego reakcji immunologicznej, spowodowanej zlepianiem i aktywacją limfocytów człowieka.

Brak zdolności aglutynowania czerwonych ciałek krwi jest również korzystnym zjawiskiem. W zlepionych krwinkach może dochodzić do przerwania integralności błony i uwalniania hemu do przestrzeni pozakomórkowej. Hem, który wydostał się z erythrocytu, jest toksyczny dla otaczających tkanek i może pobudzać odpowiedź zapalną, w tym również produkcję wolnych rodników tlenowych przez neutrofile [16].

Pomimo, że globuliny stanowią większość białek nasion łubinu (ok. 87 %) [9], nie można wykluczyć aktywności mitogennej i aglutynującej wśród pozostałych łubiniowych protein. Aby więc ocenić jednoznacznie czy białko łubinu wąskolistnego, będące cennym składnikiem żywności, nie wykazuje zdolności stymulowania podziałów ludzkich limfocytów lub zlepiania czerwonych krwinek, należałoby powyższe badania wykonać także z udziałem pozostałych frakcji globulinowych oraz z frakcją albuminową.

Wnioski

1. Żadna z analizowanych frakcji globulin łubinu wąskolistnego nie wykazuje właściwości mitogennych w stosunku do ludzkich limfocytów.
2. Badane białka nie aglutynują również erythrocytów człowieka.
3. W celu pełnej oceny właściwości lektynopodobnych białek nasion łubinu wąskolistnego niezbędne jest przeanalizowanie pozostałych frakcji globulinowych oraz frakcji albumin.

Praca została zrealizowana w ramach grantu MNiSzW nr 31206831/3782. Była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Alencar N.M., Assreny A.M., Alencar V.B., Melo S.C., Ramos M.V., Cavada B.S., Cunha F.Q., Ribeiro R.A.: The galactose-binding lectin from *Vatairea macrocarpa* seeds induces in vitro neutrophil migration by indirect mechanism. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2003, **35**, 1674-1681.
- [2] Boyum A.: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1968, **21** (97), 77-89.
- [3] Bradford M.: A rapid and sensitive method of the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye-binding. *Anal. Biochem.*, 1976, **72**, 248-254.
- [4] Brando-Lima A.C., Saldanha-Gama R.F., das Gracas M.O. Henriques M., Monteiro-Moreira A.C.O., Moreira R.A., Barja-Fidalgo Ch.: Frutalin, a galactose-binding lectin, induces chemotaxis and rearrangement of actin cytoskeleton in human neutrophils: Involvement of tyrosine kinase and phosphoinositide 3-kinase. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2005, **205**, 145-154.

- [5] Chew P.G., Casey A.J., Johnson S.K.: Protein quality and physico-functionality of Australian sweet lupin (*Lupinus angustifolius* cv. Gungurru) protein concentrates prepared by isoelectric precipitation or ultrafiltration. *Food Chem.*, 2003, **83**, 575-583.
- [6] Chiesa G., Marchesi M., Parolini C., Johnson S.K., Caligari S., Gilio D., Manzoni C., Castiglioni S., Lovati M.R., Sirtori C.R.: Effects of lupin proteins on lipid-lipoprotein metabolism in vitro and in vivo studies. *Proc. Final Conference of Healthy-Profood. Milan 2005*, pp. 139-148.
- [7] Directive 2006/142/EC amending Annex IIIa of Directive 2000/13/EC listing the ingredients which must under all circumstances appear on the labeling of food stuffs: OJ L 368 p110, 23.12.2006.
- [8] Dooper M.M.B.W., Holden L., Faeste Ch.K., Thompson K.M., Egaas E.: Monoclonal antibodies against the candidate lupin allergens α -conglutin and β -conglutin. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2007, **143**(1), 49-58.
- [9] Duranti M., Restani P., Poniatowska M., Cerletti P.: The seed globulins of *Lupinus albus*. *Phytochemistry*, 1981, **20**, 2071-2075.
- [10] Duranti M., Gius C., Scarafoni A.: Lectin-like activity of lupin seed conglutin γ , a glycoprotein previously referred to as a storage protein. *J. Exp. Bot.*, 1995, **46**, 725-728.
- [11] Faeste C., Lovik M., Wiker H.G., Egaas E.: A case of peanut cross-allergy to lupine flour in a hot-dog bread. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2004, **135**, 36-39.
- [12] Falcón A.B., Beeckmans S., van Driessche E.: Investigation on the haemagglutinating activity occurring in three species of *Lupinus*. *Cultivos Tropicales*, 2000 A, **21** (1), 41-45.
- [13] Falcón A.B., Beeckmans S., Van Driessche E.: Partial purification and characterization of lectin-like activities from *Lupinus albus* seeds. *Cultivos Tropicales*, 2000 B, **21** (4), 21-28.
- [14] Freitas R.L., Ferreira R.B., Teixeira A.R.: Use of a single method in the extraction of the seed storage globulins from several legume species. Application to analyse structural comparisons with the major classes of globulins. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2000, **51**, 341-352.
- [15] Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W. (red.): *Immunologia*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2002.
- [16] Graca-Souza A.V., Arruda M.A.B., de Freitas M.S., Barja-Fidalgo Ch., Oliveira P.L.: Neutrophil activation by heme: implications for inflammatory processes. *Blood*, 2002, **99** (11), 4160-4165.
- [17] Johnson S.K., Hall R., Smith S.: Australian sweet lupin kernel fibre: current evidence of health benefits. *Proc. Final Conference of Healthy-Profood, Milan 2005*, pp. 173-184.
- [18] Kabat E.A., Mayer M.M.: *Experimental Immunochemistry*, 2nd ed., Thomas, Springfield 1961.
- [19] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, **227**, 680-685.
- [20] Lampart-Szczapa E., Korczak J., Nogala-Kałużka M., Zawirska-Wojtasik R.: Antioxidant properties of lupin seed products. *Food Chem.*, 2003 A, **83**, 279-285.
- [21] Lavastre V., Cavalli H., Ratthe C., Girard D.: Anti-inflammatory effect of *Viscum album* agglutinin-I (VAA-I): induction of apoptosis in activated neutrophils and inhibition of lipopolysaccharide-induced neutrophilic inflammation in vivo. *Clin. Exp. Immunol.*, 2004, **137**, 272-278.
- [22] Lydyard P.M., Whelan A., Fanger M.W.: *Krótkie wykłady: immunologia*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2001.
- [23] Magni Ch., Herndl A., Sironi E., Scarafoni A., Ballabio C., Restani P., Bernardini R., Novembre E., Vierucci A., Duranti M.: One- and two-dimensional electrophoretic identification of IgE-binding polypeptides of *Lupinus albus* and other legume seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53** (11), 4567-4571.
- [24] Papoti V., Makri E., Papalamprou E., Drakos A., Mandalon D., Doxastakis G., Kiosseoglou V.: Utilization of lupin seed protein isolates for the production of lupin biscuits and lupin pasta. *Proc. Final Conference of Healthy-Profood. Milan, 2005*, pp. 77-88.
- [25] Porres J.M., Aranda P., López-Jurado M., Urbano G.: Nutritional evaluation of protein, phosphorus, calcium and magnesium bioavailability from lupin (*Lupinus albus* var. multolupa)-based diets in

- growing rats: effect of α -galactoside oligosaccharide extraction and phytase supplementation. Br. J. Nutr., 2006, **95**, 1102-1111.
- [26] Pusztai A., Bardocz S.: Biological effects of plant lectins on the gastrointestinal tract: metabolic consequences and applications. Trends Glycosci. Glycotechnol., 1996, **8**, 149-165.
- [27] Rojas-Hijazo B., Garcés M.M., Caballero M.L., Alloza P., Moneo I.: Unsuspected lupin allergens hidden in food. Int. Arch. Allergy Immunol., 2006, **141**, 47-50.
- [28] Seski J., Reinhalter E.R., Silva J. JR.: Abnormalities of lymphocyte transformations in women with condylomata acuminata. Obstetrics & Gynecology, 1978, **51**, 188-192.
- [29] Sharon N.: Lectin – carbohydrate complexes of plants and animals: an atomic view. Trends Biochem. Sci., 1993, **18**, 221-226.
- [30] Stawiński S.: Łubin wąskolistny – gatunek niewykorzystanych możliwości. Agro-serwis. Rośliny strączkowe, 2007, 25-28.

EVALUATION OF LECTIN-LIKE PROPERTIES OF GLOBULINS FROM SEEDS OF NARROW-LEAFED LUPIN (*LUPINUS ANGUSTIFOLIUS*, VAR. BARON)

S u m m a r y

In comparison to other legume plants, lupin contains small amounts of anti-nutritional compounds, including lectins. However, it has been proved that lupin seeds may contain some lectin-like substances, which can limit the use of lupin in human nutrition.

The objective of the study was to evaluate lectin-like properties of narrow-leafed lupin seed globulins. To achieve this, their potential for stimulating lymphocyte proliferation as well as their hemagglutinating properties were analysed.

The isolated erythrocytes were treated with some selected protein fractions. The result of the experiment was microscopically assessed. The cultured lymphocytes were treated with globulin fractions and a mitogen, respectively. The amount of proliferating cells was evaluated based on the amount of radioactive thymidine incorporated into the DNA of lymphocytes. The proliferation of lymphocytes was also assessed using a flow cytometry.

No cell agglutination was found among the erythrocytes treated with the lupin globulins. Furthermore, the level of cell proliferation did not increase in the population of lymphocytes incubated with the lupin proteins studied, either. Based on the results achieved, it was found that the lupin globulin fractions analysed did not show the ability, appearing typical for lectins, to agglutinate erythrocytes. They did not induce the proliferation of lymphocytes, either. The results obtained prove that those proteins, if eaten with food products, cannot cause the immune reaction to occur owing to the agglutination and activation of lymphocytes or to hemagglutination.

Key words: lupin globulins, lectin-like properties, agglutination, proliferation ☒

MAGDALENA GRUDZIŃSKA, KAZIMIERA ZGÓRSKA

WPLYW WARUNKÓW METEOROLOGICZNYCH NA ZAWARTOŚĆ AZOTANÓW(V) W BULWACH ZIEMNIAKA

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu warunków klimatycznych w czasie wegetacji na zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka. Materiałem badawczym było 17 odmian ziemniaka. Badania prowadzono w latach 2003 – 2006. Zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka oznaczono bezpośrednio po zbiorze.

Stwierdzono, że warunki klimatyczne w I i II dekadzie lipca oraz w I dekadzie września istotnie wpłynęły na zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka. Odmiany bardzo wczesne (Karatop i Velox) oraz odmiana wczesna Gracja kumulowały tych związków najwięcej.

Słowa kluczowe: bulwy ziemniaka, azotany, warunki klimatyczne

Wprowadzenie

Problem nadmiernej zawartości azotanów w surowcach roślinnych oraz ich negatywny wpływ na organizm człowieka stał się w ostatnich latach przedmiotem wielu badań. Stwierdzono, że azotany(V) należą do związków chemicznych o stosunkowo niewielkiej szkodliwości dla człowieka, jednak pod wpływem flory bakteryjnej żołądka mogą ulegać przemianom do silnie toksycznych azotanów(III). W wyniku reakcji azotanów(III) z aminami II- i III-rzędowymi powstają związki uważane za kancerogenne, mutagenne i embriotoksyczne. Powodują również przemianę hemoglobiny w methemoglobinę, czego następstwem jest zmniejszenie zaopatrzenia tkanek w tlen [2, 13, 14, 15].

Ziemniak zaliczany jest do roślin o średniej skłonności do akumulacji azotanów w bulwach [5, 7]. Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 1822/2005 z dnia 8 listopada 2005 roku [12] zawartość azotanów w bulwach ziemniaków nie powinna być większa niż 200 mg/kg świeżej masy. Jednak zawartość tych związków w bulwach, zwłaszcza odmian wczesnych, często przekracza wartość uznaną za dopuszczalną

i niejednokrotnie spowodowana jest zmieniającymi się warunkami klimatycznymi [6, 17, 18].

Badania Cieślik i wsp. [1], Frydeckiej-Mazurczyk i Zgórskiej [6] wykazały, że zawartość azotanów(V) w bulwach odmian bardzo wczesnych jest większa niż w bulwach odmian późniejszych, oraz że okresowy niedobór opadów i wysoka temperatura powietrza, jak również nadmiar opadów i niska temperatura podczas wegetacji powodują zwiększenie zawartości tych związków w bulwach. Ponadto stwierdzono zwiększanie zawartości azotanów(V) wraz ze wzrostem dawek nawożenia azotem [3, 6, 16].

Celem pracy było określenie wpływu warunków klimatycznych w czasie wegetacji na zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka.

Material i metody badań

Materiałem do badań było 17 odmian bulw ziemniaka: 2 odmiany bardzo wczesne (Karatop, Velox), 8 odmian wczesnych (Delikat, Gracja, Innovator, Korona, Vitarra, Augusta, Kuklik, Nora), 7 odmian średnio wczesnych (Andromeda, Asterix, Romula, Redstar, Victoria, Clarissa, Pirol).

Ziemniaki uprawiano na polu doświadczalnym IHiAR, Oddział w Jadwisinie, na piasku gliniastym lekkim o podłożu pseudobielicowym. Stosowano nawóz zielony – gorczycę (35 t świeżej masy/ha) oraz nawożenie mineralne N, K, P w ilości 94, 88, 135 kg/ha. Bulwy zbierano w pełnej dojrzałości.

Badania prowadzono przez 4 lata po zbiorach w latach 2003 – 2006. Do analiz pobierano próby ok. 5 kg ziemniaków z każdej odmiany. Zawartość azotanów(V) w badanym materiale oznaczano metodą potencjonometryczną z zastosowaniem elektrody jonoselektywnej [8].

Obliczenia statystyczne wykonano w programie ANW opracowanym przez Akademię Techniczno-Rolniczą w Bydgoszczy. Przeprowadzono analizę wariancji w regresji dla modelu liniowego. Istotność wpływu lat uprawy na zawartość azotanów(V) w badanych odmianach określono przy zastosowaniu analizy wariancji. Przy obliczeniu najmniejszej istotnej różnicy stosowano test t-Studenta.

Obserwacje meteorologiczne

Do bezpośredniej analizy wpływu czynników meteorologicznych na badaną cechę w bulwach ziemniaka wykorzystano obserwacje z lat 2003 - 2006, zgromadzone przez Punkt Meteorologiczny Oddziału IHAR w Jadwisinie, zlokalizowany w pobliżu pola doświadczalnego. W pracy uwzględniono średnie temperatury powietrza, mierzone zgodnie z obowiązującymi standardami międzynarodowymi na wysokości 2 m nad poziomem gruntu oraz wielkość opadów atmosferycznych. Ponadto, w celu poszerzenia charakterystyki warunków pogody na podstawie danych temperatury powietrza i sum opadów wyliczono wartość współczynnika Sielianinowa [11] z równania:

$$K = P \times 10 / \Sigma t$$

gdzie:

K – współczynnik Sielianinowa,

P – suma opadów w dekadzie,

Σt – średnie dekadowe temperatur powietrza.

Wartość K w przedziale od 0 do 0,5 oznacza suszę, od 0,6 do 1,0 – posuchę, a wartość powyżej 1,0 charakteryzuje warunki wilgotne.

Przebieg warunków meteorologicznych w miesiącach lipiec – wrzesień, czyli od początku tuberyzacji do osiągnięcia pełnej dojrzałości przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Opady, temperatura powietrza oraz współczynnik hydrotermiczny w miesiącach VII – IX według Stacji Meteorologicznej „Cambela” w Jadwisinie.

Rainfall, air temperature, and hydrothermal coefficient in the 7th, 8th and 9th month as reported at the „Cambela” Meteorological Station in the locality of Jadwisin.

Lata badań Years of the experiment	Miesiące / Months								
	Lipiec / July [dekady]/[ten day periods]			Sierpień / August [dekady]/[ten day periods]			Wrzesień / September [dekady]/[ten day periods]		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Średnia temperatur powietrza [°C]; Mean air temperature [°C];									
2003	16,0	19,3	24,7	20,0	18,0	17,7	12,4	14,0	13,2
2004	15,8	16,2	20,0	19,5	19,7	17,8	14,8	15,1	18,7
2005	19,4	20,7	20,7	16,2	16,3	17,5	17,7	13,2	13,7
2006	22,0	21,0	24,8	18,2	17,6	16,8	14,8	15,3	14,2
Suma opadów [mm] / Total Rainfall [mm]									
2003	52,9	5,3	13,0	0,2	16,6	19,4	12,6	14,3	28,4
2004	28,6	16,9	23,8	9,7	12,0	15,3	0,2	0,25	8,8
2005	2,1	4,5	60,8	5,3	7,0	0,0	0,0	17,7	7,6
2006	0,0	1,9	7,3	59,0	57,1	156,1	6,5	0,0	5,0
Współczynnik hydrotermiczny Sielianinowa K / 'K' Sielianin's hydrothermal coefficient									
2003	3,1	0,3	0,5	0,0	1,1	1,1	1,0	1,0	2,1
2004	1,8	1,0	1,2	0,5	0,6	0,8	0,0	0,0	0,5
2005	0,1	0,2	2,9	0,3	0,4	0,0	0,0	1,3	0,5
2006	0,0	0,1	0,3	3,2	3,2	9,3	0,4	0,0	0,3

Obserwacje meteorologiczne prowadzone w Jadwisinie w latach 2003 – 2006 wskazują na znaczne zróżnicowanie warunków pogodowych. W okresie tuberyzacji bulw (I i II dekada lipca) najwyższe średnie temperatury powietrza odnotowano

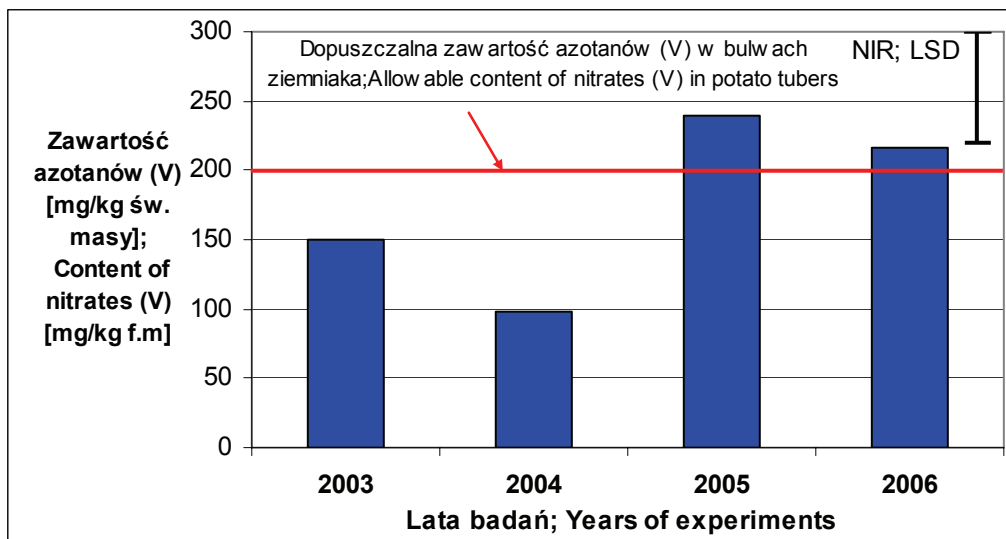
w 2006 roku (22,1 i 21,1 °C) przy równoczesnych niedoborach wody (suma opadów 0 - 1,9 mm). Największą sumą opadów w I dekadzie lipca (52,9 mm) charakteryzował się rok 2003, przy średniej temperaturze 16,9 °C. W roku 2004 w I i II dekadzie lipca opady były równomiernie rozłożone, natomiast średnie dekadowe temperatury były najniższe (15,9 i 16,3 °C). Przed zbiorem (I i II dekada września) najniższymi średnimi temperaturami charakteryzował się rok 2003, przy czym w tym samym czasie odnotowano największą sumę opadów. W roku 2004 wystąpił wyraźny niedobór opadów przy średniej temperaturze powietrza ok. 15 °C. Po długotrwałej suszy w roku 2005 (sierpień i I dekada września) obserwowano zwiększoną sumę opadów.

Na podstawie współczynnika Sielianiowa można stwierdzić, że w okresie tuberyzacji roślin jedynie w roku 2003 i 2004 panowały warunki wilgotne. Przed zbiorem bulw w latach 2004 i 2006 wystąpiła susza, w roku 2003 posucha, a w II dekadzie września 2006 r. było wilgotno (współczynnik Sielianiowa = 1,3).

Wyniki i dyskusja

Badania wykazały, że w roku 2004 ziemniaki wszystkich badanych odmian odznaczały się najmniejszą zawartością azotanów(V) (rys. 1). Rok ten charakteryzował się wysoką temperaturą powietrza pod koniec okresu wegetacji (około 15 °C) i wysoką sumą opadów – współczynnik Sielianiowa powyżej 1,0 (tab. 1). Natomiast w roku 2005, w bulwach ziemniaka obserwowano znaczną kumulację tych związków. W okresie tuberyzacji roślin średnia temperatura powietrza w tym roku wynosiła około 20 °C i odnotowano bardzo małą sumę opadów atmosferycznych (od 2,1 mm do 4,5 mm). Podobne zależności stwierdziły Cieślik [3] i Frydecka–Mazurczyk i Zgórska [6], które wykazały, że przy średniej temperaturze powietrza (16 – 18 °C) oraz optymalnej sumie opadów w czasie wegetacji bulwy charakteryzowały się najmniejszym poziomem azotanów.

Największą zawartością azotanów cechowały się bulwy ziemniaka odmian bardzo wczesnych Velox i Karatop (powyżej 200 mg/kg świeżej masy) oraz odmiany wczesnej Gracja. W bulwach pozostałych odmian poziom tych związków wynosił od 70 mg/kg ś.m. do 200 mg/kg ś.m. w odmianie Augusta (rys. 2). Badania Lis [9] wykazały, że odmiany bardzo wczesne i wczesne mają silne predyspozycje do gromadzenia azotanów(V) w bulwach. Podobne wyniki uzyskała Mikos-Bielak [10]. Wyniki badań własnych potwierdzają obserwacje autorek. Odmiany bardzo wczesne cechowały się dużą akumulacją azotanów(V) w bulwach, wczesne niewiele mniejszą, a ziemniaki odmian średnio wczesnych wykazały najmniejszą zawartość tych związków w ziemniakach.



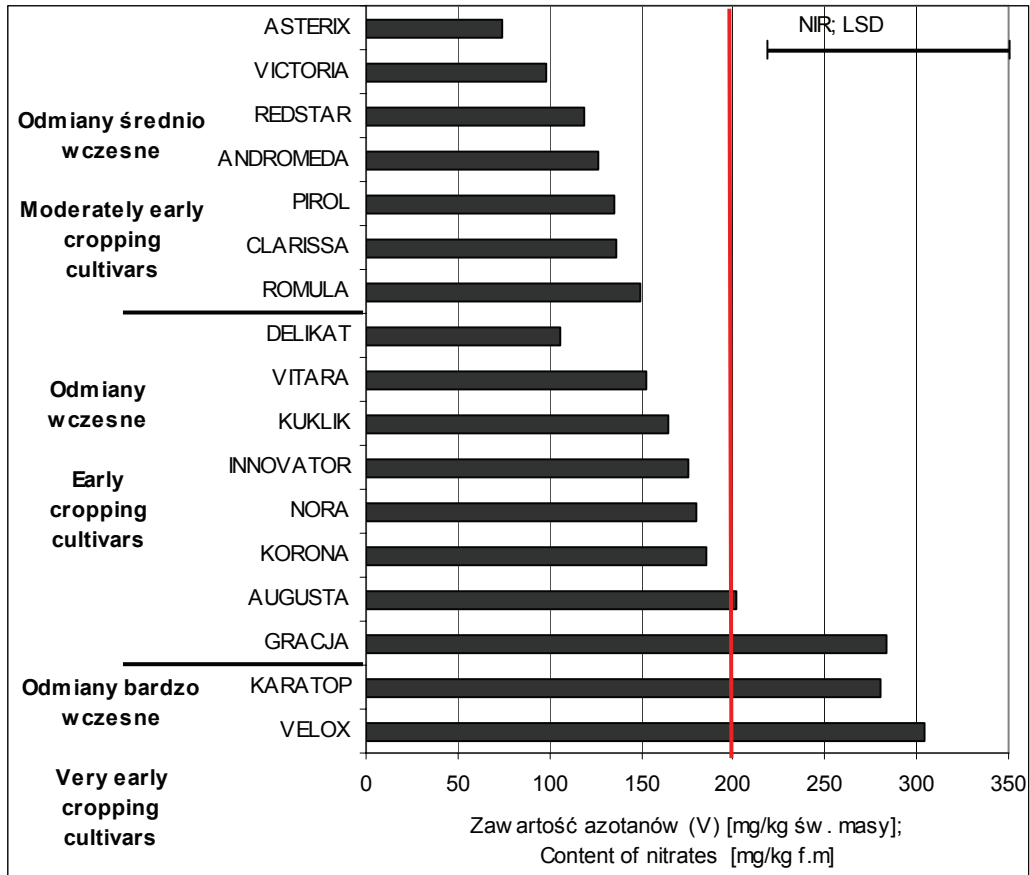
Rys. 1 Zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka, w latach 2003-2006 (średnia z 17 odmian).

Fig. 1. Content of nitrates (V) in potato tubers in the years from 2003 to 2006 (mean value obtained based on 17 cultivars).

Decydujący wpływ na zawartość tych związków w bulwach ziemniaka miała temperatura powietrza oraz suma opadów atmosferycznych w okresie tuberyzacji. Na podstawie współczynników korelacji ustalono, że im wyższa była temperatura powietrza w I i II dekadzie lipca, przy niedoborach wody w I dekadzie, tym wyższa była zawartość azotanów(V) w bulwach (współczynniki korelacji odpowiednio $r = 0,82$, $r = -0,67$). Podobne zależności wykazały Cieślik [3], Frydecka–Mazurczyk i Zgórska [6] oraz Wierzbicka i wsp. [16].

Istotny wpływ warunków klimatycznych na zawartość azotanów(V) w bulwach miały warunki klimatyczne przed zbiorem (I dekada września). Wykazano, że im wyższe były opady w tym czasie, tym zawartość azotanów(V) była mniejsza ($r = -0,68$). Potwierdzają to badania Zgórskiej i Grudzińskiej [18], które wykazały, że niedobór opadów w czasie tuberyzacji oraz ich nadmiar w ostatnich trzech dekadach poprzedzających zbiór wpływa na podwyższenie zawartości azotanów w bulwach. Podobne zależności zaobserwowali Cieślik i wsp. [1].

W tab. 2. przedstawiono współczynniki korelacji między zawartością azotanów w bulwach a warunkami klimatycznymi w okresie wegetacji.



Rys. 2. Zawartość azotanów(V) w bulwach 17 odmian ziemniaka (średnia z 4 lat badań).
 Fig. 2. Content of nitrates (V) in tubers of 17 potato cultivars (mean value obtained from the 4 year investigations)

Wysokie współczynniki korelacji obliczono pomiędzy zawartością azotanów w ziemniakach a współczynnikiem Sielianinowa (suma opadów/średnie temperatury dekadowe). Obserwowano, że istotne zależności pomiędzy cechami wystąpiły w I i II dekadzie lipca (okres tuberyzacji) oraz w I dekadzie września (10 dni przed zbiorem). Im wyższy był współczynnik Sielianinowa (powyżej 1 – wilgotno) tym mniejsza była zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka. Stwierdzono, że jeśli przez cały okres tuberyzacji temperatura powietrza jest względnie wysoka i nie ma niedoboru wody, współczynnik Sielianinowa wynosi powyżej 1, to zawartość azotanów w bulwach jest mała. Podobne obserwacje odnotowały: Zgórska i Sowa-Niedziałkowska [17], Cieślík [3], Fargasowa [4].

Tabela 2

Współczynniki korelacji między zawartością azotanów(V) a warunkami klimatycznymi.

Coefficients of correlation between the content of nitrates (V) in potato tubers and weather conditions.

Miesiące Months	Współczynniki korelacji / Correlation coefficients		
	Suma temperatur powietrza [°C] Air temperature in total [°C]	Suma opadów [mm] Rainfall in total [mm]	Współczynnik Sielianinowa Sielianinow's Coefficient
Lipiec / July			
1 st week of so	0,82*	-0,67*	-0,69*
mid-July	0,91*	n.i	-0,87*
last 10 days of July	0,52*	n.i	n.i
Sierpień / August			
1 st week of so	n.i	n.i	n.i
mid-August	-0,52*	n.i	n.i
last 10 days of August	n.i	n.i	n.i
Wrzesień / September			
1 st week of so	0,66*	-0,68*	-0,70*
Mid-September	n.i	n.i	-0,57*

*- współczynnik korelacji statystycznie istotny / statistically significant correlation coefficient;

n.i.- współczynnik korelacji statystycznie nieistotny / statistically insignificant correlation coefficient.

Wnioski

1. Ocena wpływu warunków meteorologicznych w czasie wegetacji roślin na zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka wykazała, że temperatura powietrza oraz suma opadów w okresie tuberyzacji i 10 dni przed zbiorem decydują o zawartości azotanów w ziemniakach.
2. Niezależnie od warunków atmosferycznych największą predyspozycją do kumulowania związku cechowały się bulwy odmian bardzo wczesnych (Karatop, Velox) oraz odmiany wczesnej Gracja.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Cieślak E., Międzobrodzka A., Sikora E.: Zawartość azotanów i azotynów w bulwach ziemniaka uprawianych w różnych warunkach. *Przem. Spoż.*, 1990, **2**, 65-66.

- [2] Cieślík E.: Zawartość związków azotowych w bulwach ziemniaka w aspekcie żywieniowym i toksykologicznym. Zesz. Nauk. AR- Kraków, 1995, **203**, 5-45.
- [3] Cieślík E.: Czynniki kształtujące zawartość azotanów i azotynów w ziemniaku. Post. Nauk Rol. 1995, **6**, 67-71.
- [4] Fargasowa A.: The effect of the environment storage on nitrate content in various potato cultivars from two localities. *Biologia*, 1994, **49**, 917 – 922.
- [5] Frydecka-Mazurczyk A., Zgórska K.: Wpływ warunków klimatycznych podczas wegetacji oraz przechowywania na jakość ziemniaków przeznaczonych na produkty smażone. *Mat. Konf. Nauk. Bonin* 1996, s. 44-47.
- [6] Frydecka-Mazurczyk A., Zgórska K.: Zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka w zależności od odmiany, miejsca uprawy i terminu zbioru. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, Kraków 2000, **4 (25) Supl.**, 46-51.
- [7] Karowski K.: Azotany w warzywach – propozycje limitowania w Polsce. *Rocz. PZH*, 1990, **4**, 1 - 9.
- [8] Kunch U., Schorer H., Tempell A.: Eines Schnellmethode zur Bestimmung von Nitrat in Frischgemüsen mit Hilfe der ionensensitiven Electrode, in: *Mitt. Der Eidgenossischen Forschungsanstalt für Obst – Wein und Gartenbau Wädenswill Schweiz Flugschrift*, 1981, 106.
- [9] Lis B.: Poziom azotanów w bulwach ziemniaka odmian wczesnych w odniesieniu do propozycji normy dopuszczalnej ich zawartości. *Mat. XXVIII Sesji Nauk.*, Bonin 1995, s. 63 - 66.
- [10] Mikos-Bielak M., Sawicka B., Rudzińska B.: Azotany i azotyny w bulwach wczesnych odmian ziemniaka. *Biul. IH i AR*, 1999, **209**, 137-147.
- [11] Molga M.: Podstawy klimatologii rolniczej. *PWRL*, Warszawa 1986, 544-547.
- [12] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1822/2005 z dnia 8 listopada 2005 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 466/2001 w odniesieniu do azotanów w niektórych warzywach (Tekst mający znaczenie dla EOG)
- [13] Swann P.: The toxicology of nitrate and N- nitroso compounds. *J. Sci. Food Agric.*, 1975, **26**, 1761-1770.
- [14] Traczyk J.: Azotany i azotyny – występowanie i wpływ na organizm człowieka. *Żywność, Żywnienie, Prawo a Zdrowie*, 2000, **1**, 81-89.
- [15] Tymczyna L., Maińska A.: Toksyczność związków azotowych występujących w środowisku oraz w produktach spożywczych. *Przeł. Handlowy*, 2001, **1**, 29-31.
- [16] Wierzbicka A., Lis B., Mazurczyk W.: Deficyt wody w okresie wegetacji a plonowanie i wykorzystanie azotu przez wczesne odmiany ziemniaka. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2002, **481**, 341-347.
- [17] Zgórska K., Sowa-Niedziałkowska G.: Wpływ czynnika termicznego i odmianowego na zmiany jakościowe zachodzące w bulwach ziemniaka w czasie ich długotrwałego przechowywania. *Pamiętnik Puławski Zesz.*, 2004, **139**, 327-335.
- [18] Zgórska K., Grudzińska M.: Zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka po obróbce wstępnej i termicznej. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2004, **500**, 475-481.


IMPACT OF WEATHER CONDITIONS ON THE CONTENT OF NITRATES(V) IN POTATO TUBERS

S u m m a r y

The objective of this paper was to determine the impact of weather conditions on the content of nitrates(V) in potato tubers. The experimental material consisted of seventeen cultivars of potato. The ex-

periment was carried out in the years from 2003 to 2006. The content of nitrates(V) in potato tubers was determined after gathering the potatoes.

It was found that the weather conditions as existing in the following periods: 1st week or so of July, mid-July, and 1st week or so of September, essentially impacted the content of nitrates(V) in the potato tubers. The very early cropping cultivars (Karatop and Velox) and the early cropping Gracja cultivar cumulated the highest amounts of those compounds.

Key words: potato tubers, nitrates(V), weather conditions 

MAGDALENA GRUDZIŃSKA, KAZIMIERA ZGÓRSKA

WPŁYW ZAWARTOŚCI CUKRÓW W BULWACH ZIEMNIAKA NA BARWĘ CZIPSÓW

Streszczenie

Celem podjętych badań było określenie zależności między zawartością cukrów w bulwach ziemniaka a barwą wykonanych z nich chipsów.

Materiał badawczy stanowiło 11 odmian bulw ziemniaka. Badania prowadzono w latach 2003 – 2007.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono istotne korelacje między barwą chipsów a zawartością cukrów redukujących ($r = -0,87$) oraz sacharozy ($r = -0,60$). Wraz ze wzrostem zawartości sacharozy w bulwach wzrasta w nich zawartość cukrów redukujących ($r = 0,86$). Wykazano również istotne zależności pomiędzy zawartością skrobi w bulwach ziemniaka a zawartością cukrów redukujących ($r = -0,74$) i sacharozy ($r = 0,64$). Współczynniki korelacji zależały istotnie od odmiany. Najwyższymi współczynnikami korelacji pomiędzy barwą chipsów a zawartością cukrów redukujących w bulwach charakteryzowały się odmiany Victoria i Nora. Natomiast w przypadku odmian Gracja, Augusta, Kuklik, Cekin i Raja najsilniejsze zależności, wyrażone wysokimi wartościami współczynników korelacji, wystąpiły pomiędzy barwą chipsów a zawartością sacharozy w bulwach.

Słowa kluczowe: ziemniak, odmiana, barwa chipsów, cukry redukujące, sacharoza, skrobia

Wprowadzenie

Barwa produktów smażonych jest jednym z najważniejszych parametrów charakteryzujących ich jakość. Bezpośredni wpływ na barwę ma zawartość cukrów redukujących (glukoza i fruktoza). Zawartość tych związków w bulwach zależy od cech genetycznych odmiany, warunków wzrostu roślin, temperatury w czasie zbioru i przechowywania.

Przechowywanie bulw ziemniaka w niskiej temperaturze (4 °C) powoduje ograniczenie procesów oddychania, transpiracji i kielkowania (ubytki naturalne), natomiast wpływa na akumulację cukrów redukujących i sacharozy w bulwach [2, 18, 20, 27]. Wyższa temperatura przechowywania (8 - 10 °C) ogranicza akumulację cukrów redu-

kujących w bulwach, ale pogarszają się inne cechy jakości bulw związane z utratą turgoru, kiełkowaniem, stratami skrobi [4, 18, 20, 26].

Ziemniaki przeznaczone do produkcji czipsów nie powinny zawierać więcej niż 0,15 % cukrów redukujących w świeżej masie bulw [13, 18, 24, 26]. Podczas smażenia cukry redukujące wchodzą w reakcje z wolnymi aminokwasami (reakcja Maillarda), w wyniku której tworzą się związki o brunatnym zabarwieniu i powstają szkodliwe dla zdrowia akryloamidy [15]. Ciemne produkty są gorzkie, a ich barwa jest niepożądana, co dyskwalifikuje odmianę w przetwórstwie.

W praktyce, ziemniaki przeznaczone do produkcji czipsów przechowywane są w temperaturze 8 °C. W celu ograniczenia niekorzystnych zmian w bulwach, stosowane są inhibitory wzrostu kiełków. Stosowanie tych środków w przechowywaniu ziemniaków jadalnych w większości krajów europejskich jest niedozwolone, a w przechowalniach ziemniaków przeznaczonych na przetwory spożywcze ograniczone [18, 19]. W związku z tym od kilkunastu lat prowadzone są prace związane z hodowlą odmian o małej zawartości cukrów redukujących w bulwach przechowywanych w temperaturze 4 °C (typ „cold storage”).

Określenie zależności między składnikami bulw wpływającymi na barwę produktów smażonych w zależności od odmiany i temperatury przechowywania surowca może umożliwić prognozowanie jakości produktu finalnego.

Celem pracy było określenie zależności pomiędzy zawartością cukrów redukujących i sacharozy w bulwach ziemniaka przechowywanych w różnej temperaturze a barwą uzyskanych z nich czipsów.

Materiał i metody badań

Materiałem do badań były bulwy 11 odmian ziemniaka: odmiana bardzo wczesna Velox, odmiany wczesne – Gracja, Augusta, Kuklik, Nora, odmiany średnio wczesne – Victoria, Redstar, Piroł, Tajfun, Raja, Cekin. Ziemniaki przechowywano w doświadczalnej przechowalni Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział w Jadwisinie, w temp. 4 i 8 °C przy wilgotności względnej powietrza 90-95 %. Do badań pobierano ok. 5 kg próby ziemniaków z każdej odmiany, bezpośrednio po zbiorze oraz po 7 miesiącach przechowywania w temperaturach 4 i 8 °C.

W bulwach ziemniaka oznaczano zawartość: skrobi metoda Ewersa [1], cukrów redukujących metodą dinitrofenolową [23], a sacharozy metodą antronową [23].

Do sporządzenia czipsów pobierano po 10 bulw z każdej odmiany bezpośrednio po zbiorze oraz po 7 miesiącach przechowywania w temp. 4 i 8 °C. Bulwy myto, obierano ręcznie, krojono mechanicznie w plastry o grubości 1,7 mm, osuszano na bibule i smażyono w głębokim oleju w temp. 180 °C przez 3 min do wilgotności około 2 %.

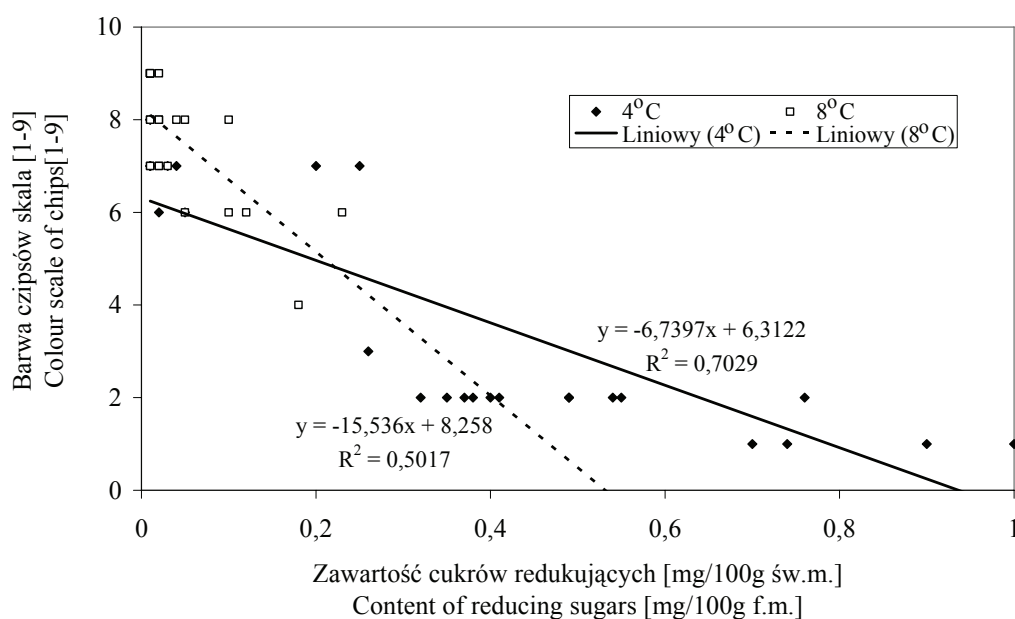
Barwę czipsów oznaczano metodą subiektywną za pomocą tablic barwnych w skali od 1 do 9 (9 – czipsy jasne, 1 – czipsy ciemne, 6,5 – wartość graniczna) opra-

cowanych przez Institute for Storage and Processing of Agricultural Produce w Wageningen (Holandia) na zlecenie European Association for Potato Research.

Obliczenia statystyczne wykonywano w programie ANW, opracowanym przez ART w Bydgoszczy. Istotność wpływu badanych czynników na analizowane cechy określano przy zastosowaniu analizy wariancji w regresji dla modelu liniowego. Do obliczenia istotnej różnicy zastosowano test Fishera–Snedecora. Wykonano również dwuczynnikową analizę wariancji. Do obliczenia najmniejszej istotnej różnicy zastosowano test t-Studenta na poziomie istotności $\alpha = 0,05$

Wyniki badań i dyskusja

Na rys. 1. przedstawiono zależności pomiędzy barwą czipsów a zawartością cukrów redukujących w bulwach ziemniaka przechowywanych w temperaturze 4 i 8 °C.

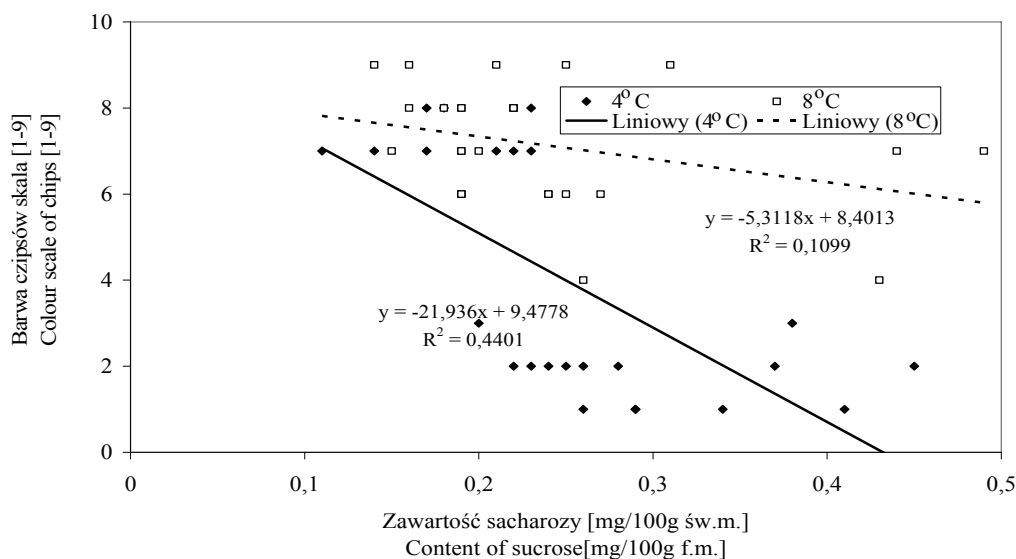


Rys. 1. Zależność pomiędzy barwą czipsów a zawartością cukrów redukujących w bulwach ziemniaka przechowywanych przez 7 miesięcy (n = 88) w temperaturze 4 i 8 °C.

Fig. 1. Correlation between the colour of chips and the content of reducing sugars in potato tubers stored for 7 months (n = 88) at temperatures of 4 and 8 °C.

Im wyższa była zawartość cukrów redukujących w bulwach ziemniaka, tym ciemniejszą barwą charakteryzowały się chipsy. Współczynnik korelacji pomiędzy badanymi cechami był wyższy po przechowywaniu bulw w temperaturze 4 °C. Według wielu autorów [2, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 19, 20] proces tworzenia cukrów redukujących

w bulwach przechowywanych w niskiej temperaturze przebiega znacznie intensywniej niż podczas przechowywania w temp. 8 °C. Podobnie Sinha i wsp. [19] uzyskali bardzo wysoką korelację między barwą czipsów a zawartością cukrów redukujących w bulwach ziemniaka przechowywanych w niskiej temperaturze ($r = -0,84$).



Rys. 2. Zależność pomiędzy barwą czipsów a zawartością sacharozy w bulwach ziemniaka przechowywanych przez 7 miesięcy ($n = 88$) w temperaturze 4 i 8 °C.

Fig. 2. Correlation between the colour of chips and the content of sucrose in potato tubers stored for 7 months ($n = 88$) at temperatures of 4 and 8 °C.

Na rys. 2. przedstawiono zależność pomiędzy barwą czipsów a zawartością sacharozy w bulwach ziemniaka przechowywanych przez 7 miesięcy w temp. 4 i 8 °C. Wykazano istotną zależność pomiędzy barwą produktu smażonego a zawartością sacharozy w bulwach przechowywanych w temp. 4 °C ($R^2 = 0,42$). Natomiast po przechowaniu bulw w 8 °C zależność ta okazała się statystycznie nieistotna.

Nelson i wsp. [16] dowiedli, że współczynniki korelacji pomiędzy barwą produktów smażonych, a zawartością cukrów redukujących i sacharozy w bulwach uzależnione są od czynnika odmianowego. Podobne zależności obserwował Mazza [14]. W przeprowadzonym doświadczeniu również stwierdzono wpływ odmiany ziemniaka na barwę uzyskanych z nich czipsów (tab. 1.). Najwyższymi współczynnikami korelacji pomiędzy barwą czipsów a zawartością cukrów redukujących w bulwach ziemniaka charakteryzowały się odmiany Victoria i Nora ($r = -0,91, -0,92$). Współczynniki korelacji były nieistotne w przypadku odmiany Gracja, Redstar oraz Cekin. Z kolei, współczynniki korelacji pomiędzy barwą czipsów a zawartością sacharozy w 11 analizowa-

nych odmianach mieściły się w granicach od - 0,09 do - 0,70 (tab. 1). Najwyższym współczynnikiem korelacji cechowały się chipsy otrzymane z bulw ziemniaka odmian: Gracja ($r = - 0,70$), Augusta ($r = - 0,68$), Kuklik ($r = - 0,67$), Cekin ($r = - 0,66$) oraz Raja ($r = - 0,61$).

Tabela 1

Współczynniki korelacji pomiędzy barwą chipsów a zawartością cukrów redukujących i sacharozy w bulwach ziemniaka w zależności od odmiany (po zbiorze oraz po 7 miesiącach przechowywania w temperaturze 4 i 8 °C x 4 lata).

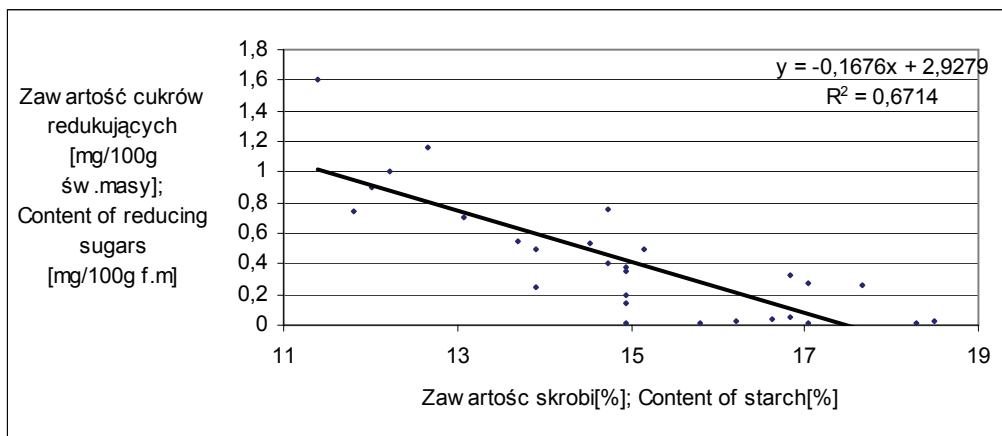
Coefficients of correlation between the colour of chips and the content of reducing sugars and sucrose in potato tubers depending on the cultivar (after harvesting and 7 months after the storage at 4 and 8 °C x 4 years).

Odmiana ziemniaka Cultivars	Barwa chipsów / Chips colour	
	Cukry redukujące Reducing sugars	Sacharoza Sucrose
Gracja	-0,13 ^{n.i}	-0,70*
Victoria	-0,91*	0,33 ^{n.i}
Redstar	0,35 ^{n.i}	0,51*
Augusta	-0,62*	-0,68*
Kuklik	-0,87*	-0,67*
Pirol	-0,86*	-0,09 ^{n.i}
Velox	-0,87*	0,15 ^{n.i}
Nora	-0,92*	-0,53*
Tajfun	-0,82*	-0,33 ^{n.i}
Raja	-0,71*	-0,61*
Cekin	-0,48 ^{n.i}	-0,66*

*- współczynnik korelacji statystycznie istotny / statistically significant correlation coefficient;

^{n.i.}- współczynnik korelacji statystycznie nieistotny / statistically insignificant correlation coefficient;

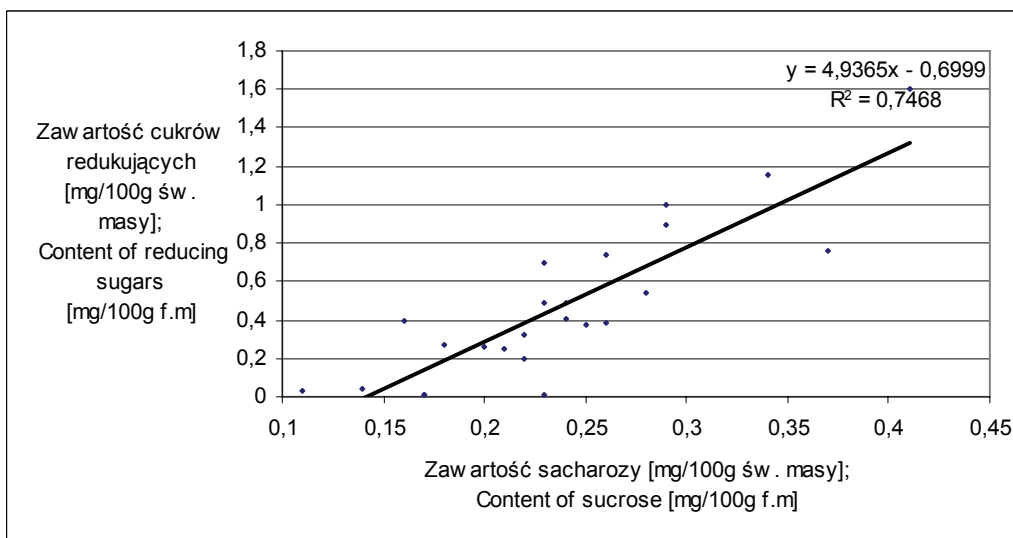
Na rys. 3. przedstawiono zależność pomiędzy zawartością skrobi a zawartością cukrów redukujących w bulwach ziemniaka po zbiorze oraz po 7 miesiącach przechowywania w temperaturze 4 i 8 °C. Współczynnik korelacji pomiędzy badanymi cechami był wysoce istotny ($r = - 0,81$). Wraz z obniżaniem się zawartości skrobi w bulwach ziemniaka wzrasta zawartość cukrów redukujących. Zmiany te są wynikiem przemian skrobi do cukrów prostych (glukoza + fruktoza). Sowokinos [20], Lisińska [12], Leszczyński [11], Zgórska i Frydecka-Mazurczyk [26] dodają, że rozkład ten (skrobia jako substrat w reakcji oddychania) następuje najpierw do sacharozy, a następnie cząsteczka sacharozy ulega rozpadowi do glukozy i fruktozy. Katalizatorem tej reakcji jest enzym inwertaza [4, 17, 21].



Rys. 3. Zależność pomiędzy zawartością skrobi a zawartością cukrów redukujących w bulwach ziemniaka (po zbiorze oraz po 7 miesiącach przechowywania w temperaturze 4° i 8°C x 4 lata).

Fig. 3. Correlation between the content of starch and the content of reducing sugars in potato tubers (after harvesting and 7 months after the storage at 4 and 8 °C x 4 years).

W przeprowadzonym doświadczeniu wykazano, że im wyższa była zawartość sacharozy w bulwach tym wyższa była zawartość cukrów redukujących ($r = 0,86$, $R^2 = 0,74$) (rys. 4).



Rys. 4. Zależność pomiędzy zawartością sacharozy a zawartością cukrów redukujących w bulwach ziemniaka (po zbiorze oraz po 7 miesiącach przechowywania w temperaturze 4 i 8 °C x 4 lata).

Fig. 4. Correlation between the content of sucrose and the content of reducing sugars in potato tubers (after harvesting and 7 months after the storage at 4 and 8 °C x 4 years).

Wnioski

1. Stwierdzono istotne korelacje między barwą czipsów a zawartością w bulwach cukrów redukujących ($r = -0,87$) oraz sacharozy ($r = -0,60$). Współczynniki korelacji pomiędzy badanymi cechami były istotnie wyższe po przechowywaniu surowca w temperaturze 4 °C.
2. Wykazano istotne zależności pomiędzy zawartością skrobi w bulwach ziemniaka a zawartością cukrów redukujących ($r = -0,81$) oraz między zawartością cukrów redukujących a zawartością sacharozy ($r = 0,86$).
3. Współczynniki korelacji zależały istotnie od odmiany ziemniaka. Najwyższymi współczynnikami korelacji pomiędzy barwą czipsów a zawartością cukrów redukujących w bulwach charakteryzowały się odmiany Victoria i Nora, natomiast w przypadku odmian Gracja, Augusta, Kuklik oraz Cekin silne zależności (wysokie wartości współczynników korelacji) wystąpiły pomiędzy barwą czipsów a zawartością sacharozy.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Adler G: Kartoffeln und Kartoffelnerzeugnisse, Paul, PAREY, Berlin 1971, p. 13.
- [2] Brown J., Mackay G.R., Bain H., Griffith D.W., Allison M.J.: The processing potential of tubers of the cultivated potato, *Solanum tuberosum* L., after storage at low temperatures. 2. Sugar concentration. *Potato Res.*, 1990, **33**, 219-227.
- [3] Cottrell J.E., Duffus C.M., Paterson L., Mackay G.R., Allison M.J., Bain H.: The effect of storage temperature on reducing sugar concentration and the activities of three amylolytic enzymes in tubers of the cultivated potato, *Solanum tuberosum* L. *Potato Res.*, 1993, **36**, 107-117.
- [4] Copp L.J., Blenkinsop R.W., Yada R.Y., Marangoni A.G.: The relationship between respiration and chip color during long – term storage of potato tubers. *Am. J. Potato Res.*, 2000, **77**, 279-287.
- [5] Dale M.F.B., Mackay G.: Inheritance of table and processing quality. In: Bradshar J.E., Mackay G.R (eds) *Potato genetics*. CAB International Wallingford, UK 1994, pp. 285-315.
- [6] Deiting U., Zrenner R., Stitt M.: Similar temperature requirement for sugar accumulation and for the induction of new forms of sucrose phosphate synthase and amylase in cold – stored potato tubers. *Plant, Cell Env.*, 1998, **21(2)**, 127-138 (abs.).
- [7] Frydecka-Mazurczyk A., Zgórska K: Wpływ jesiennego przechłodzenia bulw ziemniaka na zawartość glukozy, fruktozy i sacharozy. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2002, **481**, 141-146.
- [8] Gichohi E.G., Pritchard M.K.: Storage temperature and maleic hydrazide effects on sprouting, sugars, and fry color of Shepody potatoes. *Am. Potato J.*, 1995, **72**, 737-747.
- [9] Grassert V., Vogel J., Bartel W.: Einfluss der Sorte und einiger Umweltfaktoren auf die Neigung von Kartoffelknollen zur Zuckerbildung während einer mehrmonatigen Lagerung bei 4°C, *Potato Res.*, 1984, **27**, 365-372.
- [10] Kramhöller B., Pischetsrieder M., Severin T.: Maillard reactions of dextrins and starch. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung*, 1993, **197**, 227-229.

- [11] Leszczyński W.: Jakość ziemniaka konsumpcyjnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **4** (25), Supl. 5-27.
- [12] Lisińska G.: Ziemniak jako surowiec dla przemysłu spożywczego. *Post. Nauk Rol.*, 1994, **1**, 31-40.
- [13] Lisińska G.: Wartość technologiczna i jakość konsumpcyjna polskich odmian ziemniaków. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 2006. **511**, 81-94.
- [14] Mazza G.: Correlations between quality parameters of potatoes during growth and long – term storage. *Am. Potato J.*, 1983, **60**, 145-159.
- [15] Mottram D. S. Wedzicha B. L. Dodson A. T.: Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 2002. **419**, 448-449.
- [16] Nelson D.C., Sowokinos J.R. :Yield and relationships among tuber size, sucrose and chip color in six potato cultivars on various harvest dates. *Am. Potato J.*, 1983, **60**, 949-958.
- [17] Nourian F., Ramaswamy H.S., Kushalappa A.C: Kinetics of quality change associated with potatoes stored at different temperatures. *Lebensm. – Wiss. U. – Technol.*, 2003, **36**, 49-65.
- [18] Putz B. : Reduzierende Zucker in Kartoffeln, *Kartoffelbau*, 2004, **5**, 188-192.
- [19] Sinha N.K., Cash J.N., Chase R.W.: Differences in sugars, chip color, specific gravity and yield of selected potato cultivars grown in Michigan. *Am. Potato J.*, 1992, **69**, 385-389.
- [20] Sowokinos J.R., Orr P.H., Knoper J.A., Varns J.: Influence of potato storage and handling stress on sugars, chip quality and integrity of the starch (amyloplast) membrane. *Am. Potato J.*, 1987, **64**, 213-225.
- [21] Sowokinos J.R.: Biochemical and molecular control of cold induced sweetening in potatoes. *Am. J. Potato Res.*, 2001, **78**, 221 –236.
- [22] Storey R.M.J., Davies H.V.: Tuber quality. In: P.M Harris (ed.). *The potato crop*. Chapman & Hall, London UK 1992, pp. 507 –569.
- [23] Talburt W.F., Smith O.: *Potato processing*. AVI Publishing Company, Westport, Connecticut USA, 1967, **22–23**, 262 – 339.
- [24] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk: Normy i wymagania jakościowe ziemniaków jadalnych oraz do przetwórstwa spożywczego. *Produkcja i rynek ziemniaków jadalnych - pod red. J. Chotkowskiego*, Warszawa 2002, *Wiś Jutra*, 183 -192.
- [25] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk A.: Zmiany zawartości cukrów redukujących i sacharozy podczas przechowywania bulw w zróżnicowanych temperaturach. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 1999. **469**, 165 - 172.
- [26] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk A.: Wpływ warunków w czasie wegetacji oraz temperatury przechowywania na cechy jakości ziemniaków przeznaczonych do przetwórstwa. *Biuletyn IHAR* ,2000. **213**, 239-248.
- [27] Zgórska K., Czerko Z.: Rekondycjonowanie bulw przechowywanych w niskiej temperaturze – metoda ograniczająca zawartość cukrów redukujących w bulwach ziemniaka. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 2006. **511**, 547-556.

EFFECT OF SUGAR CONTENT IN POTATO TUBERS ON COLOUR OF CHIPS

S u m m a r y

The objective of the investigations was to determine the correlation between the content of sugars in potato tubers and the colour of chips made thereof.

Eleven (11) potato cultivars and their tubers constituted the investigation material. The investigations were performed in the years from 2003 to 2007.

Based on the results of the investigations accomplished, significant correlations between the colour of potato chips and the content of reducing sugars ($r = -0.87$) and sucrose ($r = -0.60$) were reported. The higher the content of sucrose, the higher the content of the reducing sugars ($r = 0.86$). Moreover, essential correlations were found between the content of starch in potato tubers and the content of reducing sugars ($r = -0.74$) and the content of sucrose ($r = 0.60$). The correlation coefficients significantly depended on the potato cultivar. The highest coefficients of the correlation between the colour of chips and the content of reducing sugars in the tubers were reported for the Victoria and Nora cultivars. However, in the case of the Gracja, Augusta, Kuklik, Cekin, and Raja cultivars, the most significant correlations, manifested in high correlation coefficients, occurred between the colour of potato chips and the content of sucrose in the tubers.

Key words: potato, cultivar, colour of chips, reducing sugars, sucrose, starch 

AGATA PEKOSŁAWSKA, ANDRZEJ LENART

WPLYW STĘŻENIA I TEMPERATURY SYROPU SKROBIOWEGO NA PRZEBIEG ODWADNIANIA OSMOTYCZNEGO DYNI

Streszczenie

Odwadnianie osmotyczne prowadzi do częściowego zmniejszenia zawartości i aktywności wody w materiale, bez przemiany fazowej. Metoda ta jest coraz powszechniej stosowana w przetwórstwie owoców i warzyw ze względu na dobre zachowanie wyjściowych cech surowca oraz korzyści ekonomiczne. Pozwala na częściowe utrwalenie produktu i zwiększenie jego stabilności przy jednoczesnym zachowaniu wysokiej jakości. Odwadnianie osmotyczne może mieć zastosowanie do wstępnego utrwalania dyni. Zainteresowanie konsumentów tym warzywem wzrasta ze względu na jego właściwości odżywcze.

Celem pracy była próba wyjaśnienia zjawisk zachodzących w czasie odwadniania osmotycznego dyni z wykorzystaniem syropu skrobiowego jako roztworu osmotycznego. Określano wpływ stężenia roztworu (20 – 66,3 %) i temperatury (20 – 60 °C) na kinetykę odwadniania. Proces prowadzono przy stosunku masy surowca do roztworu osmotycznego 1 : 4 w ciągu 0 - 300 min. Po określonym czasie odwadniania oznaczano ubytek masy próbki oraz zawartość suchej substancji. W celu opisu procesu obliczano także zawartość i ubytek wody, przyrost masy suchej substancji oraz współczynnik efektywności odwadniania.

Stwierdzono, że stężenie i temperatura roztworu osmotycznego mają istotny wpływ na kinetykę wymiany masy w czasie odwadniania osmotycznego dyni. Efektywność procesu była tym wyższa im wyższe było stężenie i temperatura roztworu syropu skrobiowego. Zwłaszcza zwiększenie temperatury z 40 do 60 °C znacznie zintensyfikowało usuwanie wody z dyni. Najlepsze efekty odwadniania osmotycznego dyni uzyskano przy użyciu 66,3 % roztworu syropu skrobiowego w temperaturze 60 °C. Natomiast najmniej zadowalające wyniki otrzymano w wyniku prowadzenia procesu w temperaturze 20 °C.

Słowa kluczowe: odwadnianie osmotyczne, wymiana masy, dynia

Wprowadzenie

W Polsce wzrasta zainteresowanie uprawą i konsumpcją dyni. Do zwiększania popularności tego warzywa przyczynia się m.in. tworzenie przez zespół Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin SGGW nowych odmian o większej zawartości suchej substancji, mniejszej komorze nasiennej oraz bogatszych w substancje odżywcze.

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

Owoce dyni są niskokaloryczne (około 142 kJ/100 g), ale charakteryzują się wysoką wartością odżywczą. Miąższ jest doskonałym źródłem karotenoidów, które przeciwdziałają powstawaniu wolnych rodników, chronią przed skutkami miażdżycy oraz niektórymi nowotworami. Karotenoidy, a zwłaszcza β -karoten, są źródłem witaminy A, która jest niezbędna do prawidłowego widzenia, wzrostu i rozwoju [11, 16]. Dynia jest także źródłem pektyn, soli mineralnych (magnezu, wapnia, fosforu i potasu) oraz witamin B₁, B₂, PP i C [5, 14]. Charakteryzuje się niską zdolnością wiązania azotanów z gleby i może stanowić w żywieniu ludzi lepsze od marchwi źródło karotenów. Ze względu na wzrastający popyt na dynię i sezonowość jej upraw istotne jest opracowanie metod przedłużania trwałości tego warzywa.

W świadomości konsumentów wysoka jakość żywności kojarzy się obecnie z jej naturalnością i świeżością, a więc między innymi z niskim stopniem przetworzenia. To właśnie potrzeby i oczekiwania konsumentów stymulują pojawianie się nowych typów żywności. Koncepcja żywności minimalnie przetworzonej jest zgodna z aktualnymi wyobrażeniami konsumentów o jakości żywności, której główną i pożądaną cechą jest „świeżość” [1, 2].

Do procesów, które można stosować w celu uzyskania żywności minimalnie przetworzonej należy także odwadnianie osmotyczne. Prowadzone przy zastosowaniu łagodnych parametrów pozwala nie tylko na częściowe utrwalanie produktu i zwiększanie jego stabilności przy jednoczesnym zachowaniu wysokiej jakości, ale także umożliwia poprawę jego właściwości odżywczych, sensorycznych i funkcjonalnych [10, 18].

Owadnianie osmotyczne polega na zagęszczaniu żywności o stałej konsystencji (częściowym usuwaniu wody) w roztworach hipertonicznych (cukry, chlorek sodu, glicerol itp.). Różnica potencjałów osmotycznych pomiędzy roztworem a materiałem odwadnianym decyduje o szybkości przebiegu procesu [4, 8]. Podczas odwadniania osmotycznego w tkance roślinnej następuje złożona wymiana masy, której mechanizm obejmuje m.in. osmozę, dyfuzję wody i substancji niskocząsteczkowych. Efektem tej wymiany jest zmniejszenie zawartości wody z jednoczesnym przyrostem zawartości suchej substancji oraz zmiana składu chemicznego odwadnianej żywności [7, 12].

Chang i wsp. [3], odwadniając dynię w roztworze sacharozy z dodatkiem soli, wykazali, że stopień odwodnienia wzrastał wraz ze wzrostem stężenia i temperatury roztworu osmotycznego. Kowalska i Lenart [8] uznali zakres temperatury 30 - 50 °C za najwłaściwszy dla procesu odwadniania osmotycznego jabłek. W zakresie tym błona półprzepuszczalna w małym stopniu ulega zniszczeniu, usuwana jest największa ilość wody przy jednocześnie niewielkim przyroście masy suchej substancji osmotycznej w tkance surowca.

Celem pracy było określenie wpływu stężenia roztworu (20 – 66,3 %) syropu skrobiowego, jako roztworu osmotycznego, i jego temperatury (20 – 60 °C) na kinetykę odwadniania dyni.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono na nowej odmianie dyni Justynka F1, wyhodowanej przez zespół z Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin SGGW w Warszawie. Surowiec przechowywano w warunkach chłodniczych, w temp. 4 – 5 °C oraz wilgotności względnej 80 – 90 %. Surowiec myto, obierano, drążono komory nasienne i krojono w kostki o wymiarach 10 x 10 x 10 mm.

Odwadnianie osmotyczne prowadzono w roztworach syropu skrobiowego o stężeniu 20, 40 i 66,3 %, w temp. 20 °C oraz w temp. 40 i 60 °C (stężenie 66,3 %). Na wadze technicznej odważano około 25 g dyni z dokładnością $\pm 0,1$ g. Próbkę zanurzano w roztworze substancji osmotycznej przy stosunku masy surowca do roztworu osmotycznego 1 : 4. Proces prowadzono w zlewkach o pojemności 250 ml, umieszczonych w łaźni wodnej Water Bath Shaker Type 357 firmy ELPAN, w sposób dynamiczny, stosując delikatne mieszanie uzyskane za pomocą wytrząsarki zainstalowanej w łaźni. W celu uniknięcia wypłynięcia kostek z roztworu dociskano je metalowymi spiralami. Doświadczenie przeprowadzono w dwóch powtórzeniach.

Proces odwadniania osmotycznego realizowano w następujących okresach: 0, 5, 10, 30, 60, 180 i 300 min. Po upływie określonego czasu kostki odsączano, przepłukiwano trzykrotnie wodą destylowaną i osuszano bibułą filtracyjną. W materiale surowym i poddanym odwadnianiu osmotycznemu oznaczano masę oraz zawartość suchej substancji metodą suszarkową przy użyciu suszarki komorowej (temp. 65 °C, 24 h).

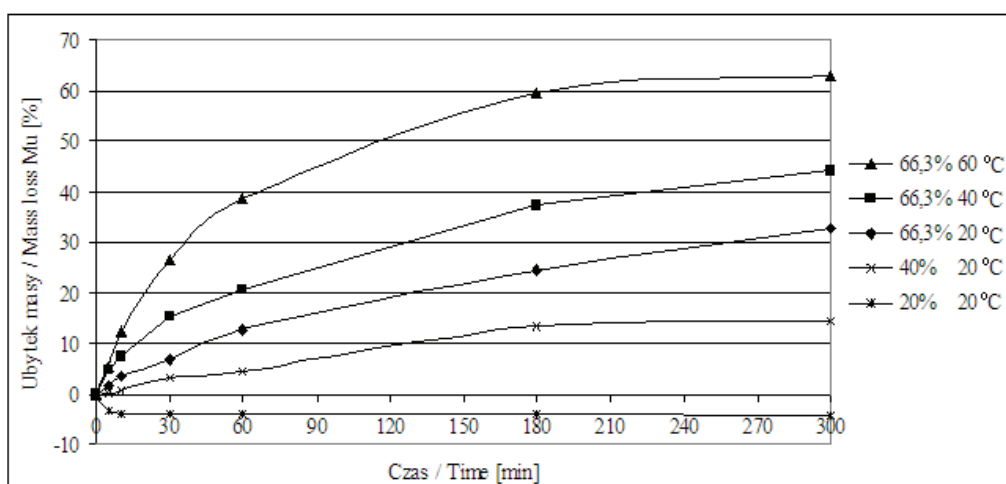
W celu przeprowadzenia analizy wymiany masy zachodzącej w dyni podczas odwadniania osmotycznego określano następujące wskaźniki: ubytek masy (Mu) [%], zawartość wody (Wz) [g H₂O/g s.s.], ubytek wody (Wu) [g H₂O/ g p.s.s.] i przyrost masy suchej substancji (Sp) [g s.s./g p.s.s.] (w gramach na gram początkowej suchej substancji) oraz współczynnik efektywności odwadniania Wu/Sp [9, 15].

Wyniki i dyskusja

W wyniku odwadniania osmotycznego dyni w roztworze syropu skrobiowego w zakresie stężeń 20 – 66,3 % i temperatury 20 – 60 °C zaobserwowano zarówno ubytek masy, jak i przyrost masy (rys. 1). Odwadniając dynię w czasie 0 – 300 min przy stężeniu syropu skrobiowego 40 i 66,3 % uzyskano systematyczny wzrost ubytków masy, a przy stężeniu 20 % przyrost masy utrzymujący się na stałym poziomie. Podczas odwadniania w 20 % roztworze syropu skrobiowego nastąpił przyrost masy o około 4 % już po 10 min odwadniania, a wydłużenie czasu odwadniania do 300 min nie spowodowało istotnych dalszych zmian masy. Wzrost stężenia roztworu do 66,3 %

wywołał prawie 6-krotne zwiększenie ubytku masy z odwadnianej dyni w stosunku do ubytku uzyskanego przy stężeniu 40 % po 10 min.

Zmiany masy w odwadnianej dyni były tym większe, im wyższa była temperatura 66,3 % roztworu syropu skrobiowego (rys. 1). Po 60 min prowadzenia procesu w temp. 20 °C ubytki masy wynosiły około 13,4 %. Podwyższenie temperatury roztworu do 40 i 60 °C spowodowało znacznie większe ubytki, które wyniosły odpowiednio około 20,6 i 38,6 %. Ubytki masy uzyskane po 300 min prowadzenia procesu w temp. 60 °C były prawie 2-krotnie większe w porównaniu z ubytkami uzyskanymi w temp. 20 °C.



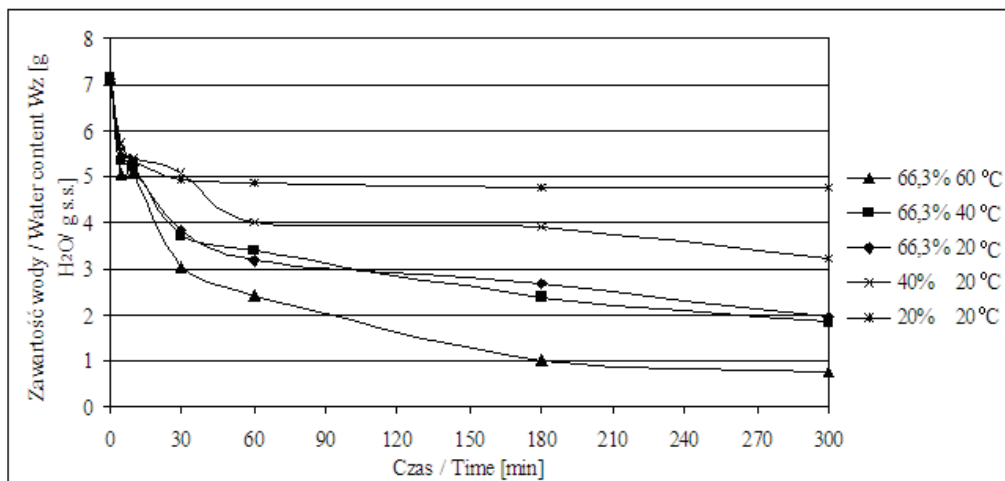
Rys. 1. Wpływ stężenia i temperatury roztworu syropu skrobiowego na ubytek masy (Mu) odwadnianej osmotycznie dyni.

Fig. 1. Effect of concentration and temperature of starch syrup solution on mass loss (Mu) of the osmodehydrated pumpkin.

W wyniku odwadniania osmotycznego, niezależnie od zastosowanego stężenia i temperatury roztworu syropu skrobiowego, nastąpiło zmniejszenie zawartości wody (Wz) w dyni w całym zakresie czasu prowadzenia procesu (rys. 2). Główne zmiany zawartości wody zachodziły na początku procesu do około 60 min. Po tym okresie największe zmniejszenie zawartości wody nastąpiło przy zastosowaniu stężenia 66,3 % z początkowej wartości 7,1 do 3,2 g H₂O/g.s.s. W przypadku stężenia 20 i 40 % zawartość wody zmniejszyła się odpowiednio do około 4,9 i 4,0 g H₂O/g.s.s. Po 300 min odwadniania w roztworze 66,3 % zawartość wody zmniejszyła się prawie 4-krotnie.

Wzrost temperatury z 20 do 40 °C nie spowodował dużych zmian zawartości wody. Natomiast wzrost temperatury do 60 °C wywołał znacznie większe zmniejszanie się zawartości wody. Po upływie 300 min odwadniania zawartość wody w próbkach

odwadnianych w temp. 20 i 40 °C wynosiła 2 g H₂O/g s.s, natomiast w temp. 60 °C uzyskana końcowa zawartość wody wynosiła 0,7 g H₂O/g s.s.



Rys. 2. Wpływ stężenia i temperatury roztworu syropu skrobiowego na zawartość wody (Wz) w odwadnianej osmotycznie dyni.

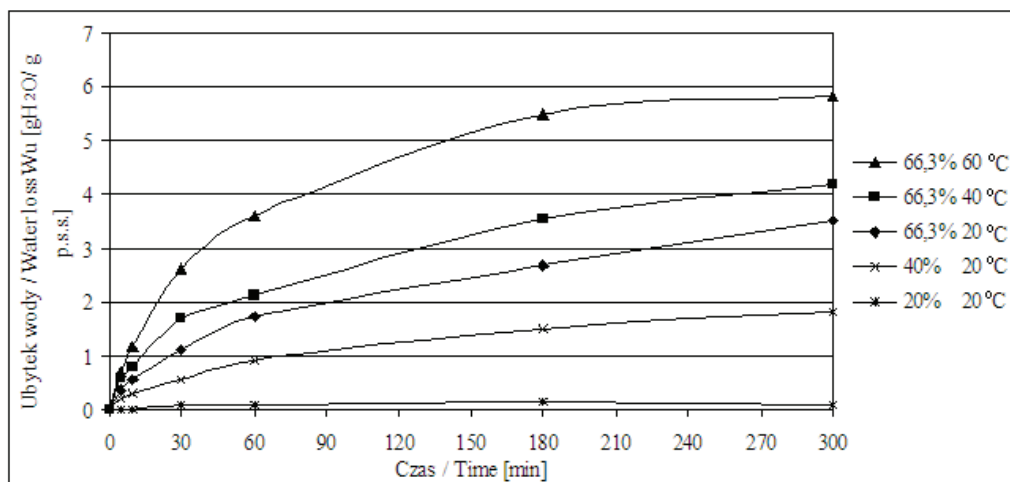
Fig. 2. Effect of concentration and temperature of starch syrup solution on water content (Wz) in osmodehydrated pumpkin.

Ubytki wody (Wu) w przeliczeniu na początkową masę suchej substancji ulegały zwiększeniu wraz z upływem czasu odwadniania osmotycznego. Największy ubytek wody stwierdzono przy stężeniu roztworu 66,3 %, a najmniejszy przy stężeniu 20 % (rys. 3). Przykładowo przy użyciu roztworu o stężeniu 20 % po 30 min odwadniania ubytek wody wyniósł 0,1 g H₂O/g p.s.s. i w dalszym okresie odwadniania nie zaobserwowano znaczących zmian.

Wzrost stężenia roztworu kolejno do 40 i 66,3 % spowodował wyraźne zwiększenie ubytków wody z odwadnianej dyni. Ubytki wody były tym większe, im wyższa była temperatura roztworu osmotycznego. Wzrost temperatury do 40 oraz 60 °C spowodował zwiększenie ubytków wody i po 60 min wyniosły one odpowiednio około 2,1 i 3,6 g H₂O/g p.s.s. Po upływie 300 min największy ubytek wody uzyskano, stosując roztwór o temp. 60 °C, a najmniejszy o temp. 20 °C.

We wszystkich badanych próbkach zaobserwowano wzrost przyrostu masy suchej substancji (Sp) w dyni wraz z wydłużeniem czasu odwadniania osmotycznego (rys. 4). Wynika z tego, że wraz z usuwaniem wody z próbki dochodziło do równoczesnego przemieszczania się syropu skrobiowego do wnętrza tkanki. Wnikanie substancji osmotycznej najszybciej przebiegało na początku procesu. Po 60 min odwadniania uzyskano następujący przyrost masy suchej substancji w zależności od zastosowanego

stężenia: 20 % około 0,4 g/g p.s.s., a 40 i 66,3 % odpowiednio 0,6 i 0,7 g/g p.s.s. Po tym czasie wnikanie substancji wzrastało w coraz mniejszym stopniu.



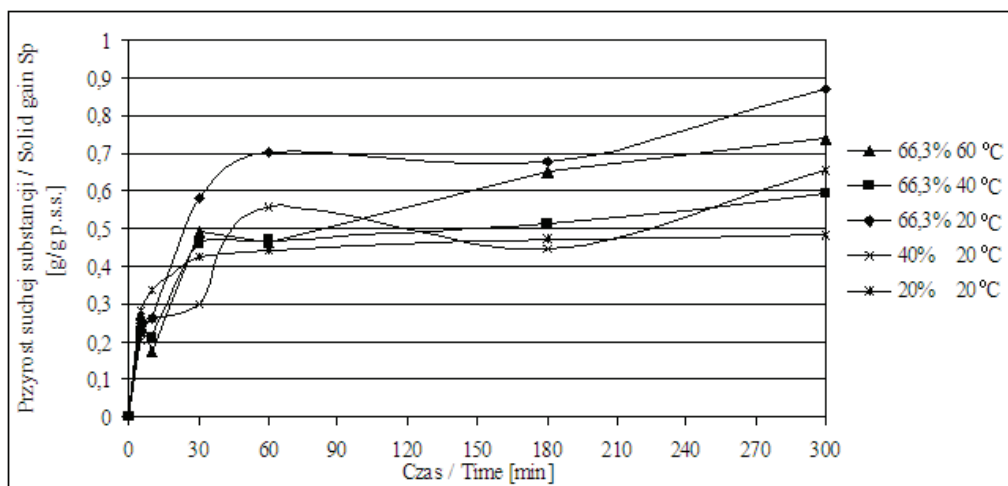
Rys. 3. Wpływ stężenia i temperatury roztworu syropu skrobiowego na ubytek wody (Wu) z odwadniającej osmotycznie dyni.

Fig. 3. Effect of concentration and temperature of starch syrup solution on water loss (Wu) of osmodehydrated pumpkin.

W badanym zakresie temperatury 20 – 60°C, niezależnie od zastosowanej temperatury 66,3 % roztworu syropu skrobiowego, uzyskane przyrosty masy suchej substancji były podobne. Przykładowo po upływie 60 min przyrost masy suchej substancji w temp. 20 °C wyniósł około 0,7 g/g p.s.s., a temp. 40 i 60 °C około 0,5 g/g p.s.s. Zwiększenie czasu odwadniania do 300 min spowodowało nieznaczne dalsze przyrosty masy suchej substancji.

Jednym ze wskaźników stosowanych do oceny efektywności odwadniania osmotycznego jest iloraz ubytku wody i przyrostu masy suchej substancji (Wu/Sp). Najbardziej pożądane jest, aby dochodziło do dużego zmniejszenia zawartości wody przy niewielkim wnikaniu substancji osmotycznej. Wysokie wartości tego współczynnika wskazują na dobrą efektywność procesu odwadniania [13].

Z analizy otrzymanych krzywych wynika, że stężenie roztworu syropu skrobiowego w zakresie 20 – 66,3 % wpływało na wartości ilorazu ubytku wody i przyrostu masy suchej substancji (rys. 5). Po 60 min odwadniania najniższą wartość ilorazu uzyskano przy stężeniu 20 % i wyniosła ona około 0,2. Natomiast zwiększenie stężenia do 40 i 66,3 % spowodowało odpowiednio prawie 7- i 10-krotny wzrost współczynnika efektywności odwadniania w stosunku do wartości uzyskanych przy stężeniu 20 %.



Rys. 4. Wpływ stężenia i temperatury roztworu syropu skrobiowego na przyrost masy suchej substancji (Sp) w odwadnianej osmotycznie dyni.

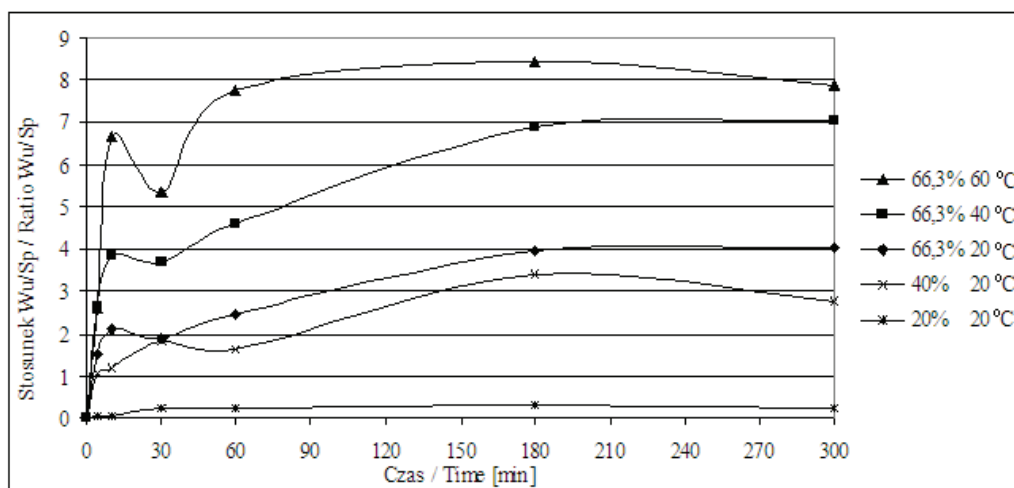
Fig. 4. Effect of concentration and temperature of starch syrup solution on solid gain (Sp) in osmodehydrated pumpkin.

Wartości ilorazu były tym większe im wyższa była temperatura 66,3 % roztworu osmotycznego. Po 60 min prowadzenia procesu w temp. 20°C wartość ilorazu wynosiła 2,6. Zwiększenie temperatury do 40 i 60 °C spowodowało odpowiednio prawie 2- i 3-krotny wzrost ilorazu ubytku wody i przyrostu masy suchej substancji w stosunku do wartości uzyskanych w temp. 20 °C. We wszystkich wariantach prowadzenia procesu najwyższe wartości zostały osiągnięte po upływie 180 min. Po tym czasie efektywność procesu odwadniania zaczęła nieznacznie spadać.

Z przedstawionych danych wynika, że stężenie roztworu osmotycznego miało istotny wpływ na kinetykę wymiany masy w czasie odwadniania osmotycznego. Efektywność procesu była tym wyższa im bardziej stężony był roztwór substancji osmotycznej. Spostrzeżenia te pokrywają się z obserwacjami wielu badaczy. Mayor i wsp [13], którzy odwadniali dynię w roztworze chlorku sodu w zakresie stężeń 5 – 15 % w temp. 25°C odnotowali wpływ stężenia na proces wymiany masy. Do podobnych wniosków doszli Sereno i wsp. [17], odwadniając jabłka w roztworze sacharozy w zakresie stężeń 40 – 60 %. Wykazali oni, że ubytki wody oraz przyrosty masy suchej substancji rosły wraz ze wzrostem stężenia roztworu osmotycznego.

Wzrost temperatury 66,3 % roztworu syropu skrobiowego w zakresie 20 – 60 °C również ma wpływ na wymianę masy w czasie odwadniania osmotycznego. Uzyskane wartości ilorazu ubytku wody i przyrostu masy suchej substancji wskazują, że wzrost temperatury roztworu osmotycznego zwiększył efektywność procesu odwadniania, zwłaszcza zwiększenie temperatury z 40 do 60 °C. Potwierdzają to wyniki uzyskane

przez Kowalską i Lenarta [6, 8], którzy odwadniali w roztworze sacharozy i syropu skrobiowego ziemniaki w zakresie temperatury 30 - 70 °C oraz jabłka w zakresie temperatury 30 - 80 °C.



Rys. 5. Wpływ stężenia i temperatury roztworu syropu skrobiowego na stosunek Wu/Sp w odwadnianej osmotycznie dyni.

Fig. 5. Effect of concentration and temperature of starch syrup solution on the Wu/Sp ratio in osmodehydrated pumpkin.

Wnioski

1. Zmiana stężenia roztworu syropu skrobiowego w zakresie 20 – 66,3 %, jak i temperatury w zakresie 20 – 60°C wpłynęła na kinetykę odwadniania osmotycznego dyni.
2. W badanym zakresie stężeń syropu skrobiowego 20 – 66,3 % proces odwadniania osmotycznego dyni najefektywniej przebiegał w próbkach odwadnianych w 66,3 % roztworze.
3. Wzrost temperatury roztworu z 20 do 60 °C istotnie zwiększył ilość usuwanej wody z materiału. Najlepsze efekty odwadniania osmotycznego dyni uzyskano przy użyciu roztworu syropu skrobiowego o temperaturze 60 °C.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Babicz-Zielińska E., Zabrocki R.: Konsument XXI wieku. Przem. Spoż., 2007, **1**, 6-8.
- [2] Baryłko-Pikielna N.: Żywność minimalnie przetworzona z perspektywy konsumenta. Mat. Konf. Naukowej „Żywność minimalnie przetworzona”, OM PTTŻ, Kraków 1997, s. 9-13.
- [3] Chang M.J., Han M.R., Kim M.H.: Effect of salt addition in sugar based osmotic dehydration on mass transfer and browning reaction of green pumpkin. Agric. Chem. Biotechnol., 2003, **46** (3), 92-96.
- [4] Chenlo F., Moreira R., Fernandez-Herrero C., Vazquez G.: Osmotic dehydration of chestnut with sucrose: Mass transfer process and global kinetics modeling. J. Food Eng., 2007, **78**, 765-774.
- [5] Fajkowska H.: Warzywa o największych owocach – dynie, melon, kawon. WRiL Warszawa 1985, s. 4-18.
- [6] Kowalska H., Lenart A.: Wymiana masy w czasie odwadniania osmotycznego ziemniaków. Mat. VIII Sympozjum Suszarnictwa, Warszawa 1994, T. II, s. 68-82.
- [7] Kowalska H., Lenart A.: Znaczenie wymiany masy w tworzeniu żywności nowej generacji. Post. Techn. Przetw. Spoż., 2003, **2**, 12-17.
- [8] Kowalska H., Lenart A.: Ruch wody i substancji rozpuszczonych w jabłkach odwadnianych osmotycznie. Sci. Pol. ACTA, Inż. Roln., 2003, **2** (1), 13-22.
- [9] Kowalska H.: Kinetyka osmotycznego odwadniania dyni. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2006, **2** (47), 134-142.
- [10] Kowalska H.: Żywność minimalnie przetworzona – owoce i warzywa. Przem. Spoż., 2006, **6**, 24-27.
- [11] Krzysik K., Bogucka W.: Dynia – wartościowy surowiec do produkcji przetworów dla dzieci. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1981, **4**, 23-25.
- [12] Lewicki P.P., Lenart A.: Osmotic dehydration of fruits and vegetables. Handbook of Industrial Drying. Eds. Mujumadar A.S., Dekker M., New York 1995, pp. 691-713.
- [13] Mayor L., Moreira M., Chenlo F., Sereno A.M.: Kinetics of osmotic dehydration of pumpkin with sodium chloride solutions. J. Food Eng., 2006, **74**, 253-262.
- [14] Niewczas J., Szweđa D., Mitek M.: Zawartość wybranych składników prozdrowotnych w owocach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **2** (43) Supl., 147-154.
- [15] Ogonek A., Lenart A.: Wpływ selektywnych powłok jadalnych na odwadnianie osmotyczne truskawek. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2001, **3** (28), 62-74.
- [16] Seo J.S., Burri B.J., Quan Z., Neidlinger T.R.: Extraction and chromatography of carotenoids from pumpkin. J. Chrom., 2005, **1073**, 371-375.
- [17] Sereno A.M., Moreira M., Martinez E.: Mass transfer coefficients during osmotic dehydration of apple in single and combined aqueous solution of sugar and salt. J. Food Eng., 2001, **47**, 43-49.
- [18] Torreggiani D.: Osmotic dehydration in fruit and vegetable processing. Food Res. Int., 1993, **26**, 59-68.

IMPACT OF THE CONCENTRATION AND TEMPERATURE OF STARCH SYRUP ON THE KINETICS OF OSMOTIC DEHYDRATION OF PUMPKIN

S u m m a r y

Osmotic dehydration allows to partially remove water and to reduce water activity in the material without any phase change. This method is more and more commonly used in the fruit and vegetable industry owing to the fact that initial features of raw materials are well retained and economic benefits are

achieved. Additionally, this method allows for preserving the product and for increasing its stability along with retaining, simultaneously, its high quality. The osmotic dehydration can be applied to initially preserve a pumpkin. Owing to its nutritive values, the popularity of pumpkin among consumers increases.

The objective of this study was to explain the phenomena occurring during the pumpkin dehydration carried out in the solution of starch syrup used as an osmotic solution. The impact of the concentration of solution (20–66.3 %) and of the temperature (20–60 °C) on the kinetics of osmotic dehydration of pumpkin were determined. The process was conducted with the ratio of raw material and osmotic solution being 1:4, during a period of 0 – 300 min. After a definite period of dehydration time, the mass and dry matter losses were determined. In order to describe the process studied, the water content and water loss were determined as were the solid gain and the dehydration efficiency effectiveness.

It was found that the concentration and temperature of starch syrup solution essentially impacted the kinetics of mass exchange during the osmotic dehydration of pumpkin. The higher the osmotic solution concentration and temperature of the process was, the higher efficiency of the process was. Particularly, the rise of temperature from 40 to 60 °C has significantly intensified the process of removing water from the pumpkin. The best results of the osmotic dehydration of pumpkin were achieved when a 66.3 % starch syrup solution was used at a temperature of 60 °C. However, when the process was performed at a temperature of 20 °C, the results obtained were less satisfactory.

Key words: osmotic dehydration, mass exchange, pumpkin ☒

DOROTA ZIELIŃSKA, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, ANTONI GORYL

**MODELE PRZEŻYWALNOŚCI BAKTERII POTENCJALNIE
PROBIOTYCZNYCH *LACTOBACILLUS CASEI* KN291
W FERMENTOWANYM NAPOJU SOJOWYM**

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było skonstruowanie prognostycznych modeli wzrostu i przeżywalności bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym, przechowywanym w różnych warunkach temperatury.

Skonstruowano nieliniowe modele prognostyczne charakteryzujące się dobrym dopasowaniem i właściwościami stochastycznymi ocen parametrów. Modele te w zadowalający sposób opisują zachowanie bakterii *L. casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym i mogą służyć do szacowania (prognozowania) liczby bakterii w zależności od czasu przechowywania.

Fermentowany napój sojowy w badanych warunkach przechowywania charakteryzował się odpowiednio dużą liczbą bakterii potencjalnie probiotycznych *L. casei* KN291 (około 10^9 jtk/ml), co może gwarantować efekt prozdrowotny po spożyciu 100 g porcji produktu.

Słowa kluczowe: mikrobiologia prognostyczna, fermentowany napój sojowy, probiotyki

Wprowadzenie

Mikrobiologia prognostyczna jest subdyscypliną mikrobiologii żywności zajmującą się opracowywaniem modeli matematycznych opisujących reakcje drobnoustrojów na określone warunki środowiskowe oraz weryfikacją ich zastosowania do przewidywania wzrostu, przeżywalności i inaktywacji mikroorganizmów w żywności, jak również do oceny szybkości ich ujawniania się i niekorzystnego, z punktu widzenia technologii, działania w środowisku [4, 11]. Łączy ona elementy mikrobiologii, matematyki, statystyki, dostarczając informacji o zachowaniu się mikroorganizmów w żywności [13].

Mgr inż. D. Zielińska, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, Katedra Techniki i Technologii Gastronomicznej, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C 02-776 Warszawa, dr A. Goryl, Katedra Ekonometrii, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, ul. Rakowicka 27, 31-510 Kraków

Jedno z podstawowych założeń nowoczesnej mikrobiologii żywności stanowi stwierdzenie, że wzrost mikroorganizmów jest funkcją żywności jako środowiska. Gatunki bardziej przystosowane do życia w takim środowisku, jakim jest żywność, będą dominujące. W każdym środowisku znaleźć można skończoną liczbę czynników wpływających na fizjologiczne reakcje mikroorganizmów [6]. Zazwyczaj do modelowania wykorzystuje się techniki regresji liniowej i nieliniowej. Niektóre modele i odpowiednie algorytmy wyznaczania parametrów oraz miary jakości dopasowania modeli do danych omówiono np. praca [9]. Należy jednak mieć świadomość, że wszystkie modele muszą być uproszczeniem relacji rzeczywistych, gdyż reprezentują skomplikowany i rozbudowany kompleks biochemicznych procesów zachodzących podczas wzrostu komórki i nie są w stanie przewidzieć wszystkich interakcji, jakie zachodzą pomiędzy komórką mikroorganizmu a czynnikami środowiska w produkcji [3].

Rozwój mikrobiologii prognostycznej, ukierunkowanej dotychczas na opracowywanie modeli dla drobnoustrojów patogennych, stymuluje pracę nad tworzeniem modeli grup drobnoustrojów saprofitycznych, drożdży, pleśni, a także psychrotrofów i innych specyficznych zanieczyszczeń środowiskowych, co może być bardzo przydatne w technologii żywności i w procesach fermentacyjnych [5]. Dopiero niedawno zaczęto kierować uwagę na reakcje biokinetyczne mikroorganizmów korzystnych dla żywności, takich jak bakterie kwasu mlekowego. W przemyśle spożywczym bakterie kwasu mlekowego dodawane są celowo jako kultury starterowe do bazowych produktów, takich jak: mleko, mięso, warzywa, zboża, aby osiągnąć stabilny i bezpieczny produkt końcowy o unikalnych cechach sensorycznych [1].

Przykładami opisanych w literaturze pierwszorzędowych modeli wzrostu bakterii kwasu mlekowego jest model wykładniczy, model lag-wykładniczy i modyfikacje modelu Gompertza, natomiast wśród modeli inaktywacji LAB wyróżnić można model inaktywacji log-liniowy i model Weibulla. Przykłady drugorzędowych modeli wzrostu z jedną zmienną to model Arrheniusa lub Ratkowsky'ego, drugorzędowym modelem inaktywacji ze zmienną temperatury jest model Bigelowa. W przypadku więcej niż jednej zmiennej przykładami mogą być modele wielomianowe i model gamma. Modelami trzeciorzędowymi są np. kombinacje modeli pierwszo- i drugorzędowych (model wzrostu, produkcji kwasu, objętości buforowej (*ang. buffer capacity*)) opisujące fermentacje prowadzone z udziałem bakterii kwasu mlekowego [17].

Celem niniejszej pracy było skonstruowanie prognostycznych modeli wzrostu i przeżywalności bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym przechowywanym w różnych warunkach temperatury.

Material i metody badań

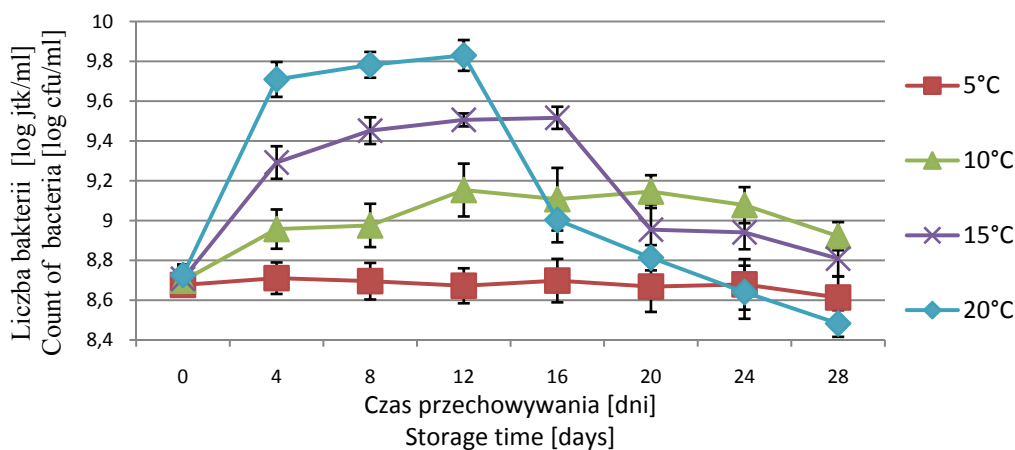
Materiałem do badań był napój sojowy firmy Polgrunt o smaku naturalnym oraz szczep bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus casei* KN291. Do napoju

dodawano 24-godzinne hodowle bakterii i poddawano procesowi fermentacji w temp. 37 °C przez 6 h, a następnie dojrzewaniu w temp. 15 °C przez 48 h. Optymalne warunki fermentacji i dojrzewania ustalono we wcześniejszych badaniach [15, 16]. Początkowa liczba bakterii kwasu mlekowego w zafermentowanym napoju sojowym po okresie dojrzewania wynosiła średnio 8,7 log jtk/ml. Po 15 prób fermentowanego napoju sojowego przechowywano w temperaturze 5, 10, 15 i 20 °C przez 28 dni. W trakcie przechowywania, co 4 dni, badano liczbę bakterii kwasu mlekowego metodą płytkową na podłożu wybiórczym MRS firmy Biokar Diagnostic. Czas inkubacji płytek wynosił 72 h w temp. 30 °C [8].

Wyniki badań przechowalniczych posłużyły do skonstruowania prognostycznych modeli opisujących zachowanie bakterii w funkcji czasu z uwzględnieniem temperatury podczas przechowywania fermentowanego napoju sojowego. Zastosowano funkcje regresji liniowej i nieliniowej. Przyjęto poziom istotności $p = 0,05$. Obliczeń dokonano w programie TableCurve 2D Firmy SYSTAT Software Inc.

Wyniki i dyskusja

Napój sojowy zaszczerpiony bakteriami potencjalnie probiotycznymi *L. casei* KN291 poddawano fermentacji, a następnie dojrzewaniu, tak aby początkowa liczba bakterii wynosiła 8,67 - 8,72 log jtk/ml. Następnie fermentowany napój sojowy przechowywano w różnych wartościach temperatury (rys. 1). Stwierdzono, że liczba bakterii probiotycznych w napoju przechowywanym w temp. 5°C nie zmieniała się istotnie w ciągu 28 dni przechowywania.



Rys 1. Liczba żywych bakterii *L. casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym w czasie przechowywania w temp. 5, 10, 15 i 20 °C przez 28 dni.

Fig. 1. Count of live *L. casei* KN291 bacteria in fermented soy beverage during 28 day storage at 5, 10, 15 and 20 °C.

Natomiast liczba bakterii *L. casei* KN291 podczas 28 dni przechowywania w temp. 10, 15 i 20 °C zmieniała się, początkowo zanotowano jej wzrost, a następnie obniżenie. Im wyższa temperatura przechowywania tym szybciej bakterie namnażały się, a następnie wcześniej i dynamiczniej zamierały (rys. 1). Przebieg zmienności liczby bakterii *L. casei* KN291 w czasie odbiega istotnie od typowego wzrostu s-kształtnego.

Bardzo ważna jest liczba żywych bakterii wprowadzona do organizmu, niezbędna do uzyskania efektu probiotycznego. Według FAO/WHO [2] liczba specyficznej mikroflory w produkcie nie powinna być niższa niż 10^6 żywych, aktywnych komórek w 1 gramie lub 1 cm^3 produktu, w całym okresie przydatności produktu do spożycia. W celu uzyskania efektu zdrowotnego należy spożywać taki produkt w ilości nie mniejszej niż 100 g. Dlatego dobra przeżywalność i aktywność bakterii probiotycznych w produkcie są niezbędnymi elementami optymalizacji procesu produkcji żywności probiotycznej [12].

Na podstawie zebranych danych doświadczalnych skonstruowano pierwszorzędowe modele liniowe i nieliniowe opisujące zmiany liczby bakterii w czasie. Modele regresji liniowej nie opisywały z odpowiednią dokładnością zachowania bakterii *L. casei* KN291 w napoju sojowym w czasie przechowywania.

Również pierwszorzędowe równania nieliniowe, powszechnie stosowane do opisywania przeżywalności bakterii w czasie takie jak krzywa Gompertza czy logistyczna oraz modyfikacje tych modeli, nie pozwoliły w zadowalający sposób opisać wzrost i przeżywalność *L. casei* KN291 w napoju sojowym w ciągu 28 dni przechowywania. Poszukiwania odpowiedniego modelu doprowadziły do skonstruowania modeli nieliniowych o postaci:

$$y = 4a \cdot \exp\left(-\frac{x-b}{c}\right) \cdot \left[1 - \exp\left(-\frac{x-b}{c}\right)\right] \quad (1)$$

$$y = a \cdot \exp\left[-\exp\left(-\frac{x-b}{c}\right) - \frac{x-b}{c} + 1\right] \quad (2)$$

z addytywnymi zakłóceniami losowymi.

Modele te wykazały zadowalającą jakość dopasowania i akceptowane właściwości stochastycznych ocen parametrów (tab. 1).

Analiza współczynników determinacji uzyskanych modeli świadczy o dobrym (w przypadku temperatury przechowywania 10 i 15 °C) i umiarkowanym (w przypadku temperatury 5 i 20 °C) dopasowaniu danych do zastosowanych funkcji. Wysoka wartość statystyki F wskazuje, że oceny parametrów asymptotycznie istotnie różnią się od zera, są zatem dostatecznie precyzyjnie oszacowane, aby mieć do nich zaufanie.

Tabela 1

Statystyki funkcji nieliniowych przeżywalności bakterii *L. casei* KN291 w napoju sojowym względem czasu przechowywania.

Statistics of non-linear survival functions of *L. casei* KN291 bacteria in the soy beverage depending on the storage time.

Temp. przechowywania Storage temp. [°C]	Funkcja Function	r ²	DF Adj r ²	Fit Std Err	F
5	(1)	0,6853	0,4493	0,0196	5,4442
	(2)	0,6877	0,4535	0,0195	5,5054
10	(1)	0,9261	0,8706	0,0490	31,3140
	(2)	0,9304	0,8782	0,0475	33,4169
15	(1)	0,8414	0,7224	0,1560	13,2620
	(2)	0,8000	0,6501	0,1751	10,0026
20	(1)	0,7786	0,6126	0,3113	8,7924
	(2)	0,7223	0,5140	0,3486	6,5028

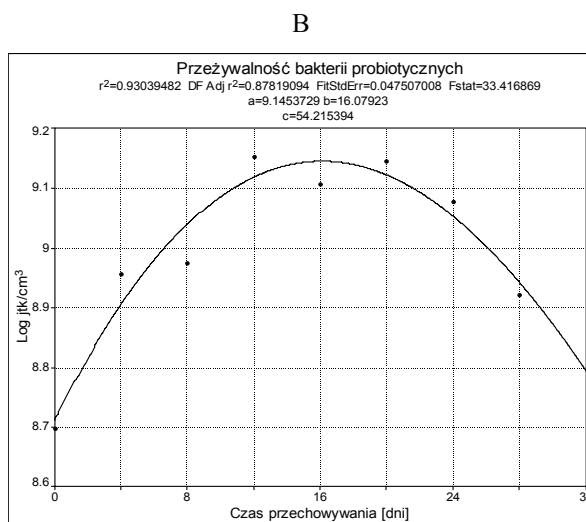
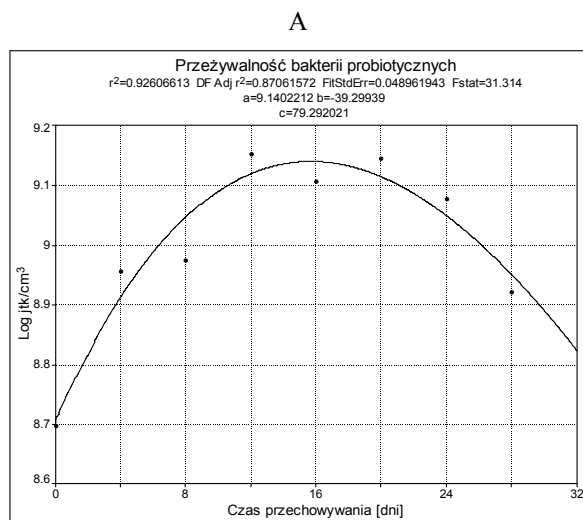
W badaniach Trząskowskiej i wsp. [14], spośród zastosowanych pierwszorzędowych modeli nieliniowych opisujących zmianę liczby bakterii probiotycznych *L. acidophilus* w fermentowanym soku marchwiowym, najlepsze dopasowanie uzyskano stosując funkcję logistyczną i Gomperta ($r^2 = 0,70$).

Na rys. 2. przedstawiono wartości zaobserwowane i oszacowane modeli (1) i (2), przedstawiających przeżywalność drobnoustrojów w napoju sojowym w temp. 10 °C przez 28 dni.

Równie nietypowy przebieg krzywej przeżywalności zaobserwowali hiszpańscy naukowcy [7], którzy badali wzrost planktonu (*Brachionus plicatilis*) na pożywce z i bez obecności bakterii probiotycznych. W pracy zastosowano trzy modele: uogólniony logistyczny, logistyczno-logistyczny i logistyczny - modyfikacja Gomperta. Najlepiej dopasowanymi modelami opisującymi wzrost planktonu były modele logistyczno-logistyczny ($r^2 = 0,9946$) i uogólniony logistyczny ($r^2 = 0,9942$).

Modele skonstruowane w niniejszej pracy uwzględniają jedną zmienną – czas, który jest mierzonym wskaźnikiem zachowania się bakterii. Przez ekstrapolację można prognozować przeżywalność bakterii w warunkach, które nie były mierzone [10].

Za pomocą otrzymanego modelu (1) obliczono liczbę bakterii *L. casei* KN291 w poszczególnych dniach przechowywania napoju sojowego i porównano oszacowane dane z danymi uzyskanymi w doświadczeniu laboratoryjnym (tab. 2). Zmienność liczby bakterii *L. casei* KN291 w badanym napoju sojowym jest wyjaśniona w 68 – 92 % zmiennością czasu, w zależności od temperatury przechowywania. Przez ekstrapolację oszacowano liczbę bakterii w nie mierzonym 32. dniu przechowywania, w odniesieniu do temp. 5, 10 15 i 20 °C.



a, b, c – parametry funkcji / parameters of function

Rys. 2. Funkcje nieliniowe (A i B) zmiany liczby bakterii *L. casei* KN291 w napoju sojowym w czasie przechowywania w temp. 10°C przez 28 dni.

Fig. 2. Non-linear functions (A and B) of change in the *L. casei* KN291 bacteria count in the soy beverage, stored at 10°C during 28 days.

W celu prognozowania liczby bakterii w warunkach innych niż badane wartości temperatury przechowywania, skonstruowane zostaną drugorzędowe modele powierzchni odpowiedzi, w których zmiennymi niezależnymi będą czas i temperatura przechowywania. Modele te pozwolą na bardziej precyzyjne szacowanie liczby bakterii w produkcji podczas przechowywania w różnych warunkach temperatury i czasu.

Tabela 2

Zestawienie danych empirycznych i oszacowanej liczby bakterii *L. casei* KN291 w napoju sojowym przechowywanym w temperaturze 5, 10, 15 i 20 °C przez 28 i 32 dni.

Listing of empirical and estimated data of the *L. casei* KN291 bacteria count in the soy beverage, stored at 5, 10, 15, and 20°C during 28 and 32 days.

Dzień Day	Temperatura / Temperature							
	5°C		10°C		15°C		20°C	
	E	O	E	O	E	O	E	O
0	8,6764	8,6817	8,6975	8,7043	8,7069	8,7732	8,7265	8,9261
4	8,7105	8,6935	8,9570	8,9108	9,2915	9,2086	9,7090	9,4539
8	8,6954	8,6982	8,9755	9,0462	9,4516	9,4308	9,7824	9,6568
12	8,6724	8,6962	9,1532	9,1198	9,5058	9,4847	9,8296	9,6192
16	8,6982	8,6879	9,1072	9,1401	9,5161	9,4074	9,0031	9,4075
20	8,6680	8,6736	9,1456	9,1143	8,9539	9,2292	8,8132	9,0730
24	8,6792	8,6537	9,0775	9,0491	8,9405	8,9748	8,6400	8,6556
28	8,6132	8,6284	8,9215	8,9504	8,8085	8,6645	8,4827	8,1858
32	-	8,5983	-	8,8233	-	8,3147	-	7,6868

Objaśnienia: / Explanatory notes:

E – dane eksperymentalne / experimental data; O – dane oszacowane / estimated data.

Wnioski

1. Skonstruowane nieliniowe modele prognostyczne charakteryzują się dobrym dopasowaniem i właściwościami stochastycznymi ocen parametrów. Modele te w zadowalający sposób opisują wzrost i przeżywalność bakterii *L. casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym i mogą służyć do szacowania liczby bakterii w zależności od czasu przechowywania.
2. Fermentowany napój sojowy w badanych warunkach przechowywania charakteryzował się odpowiednio dużą liczbą bakterii potencjalnie probiotycznych *L. casei* KN291 (około 10^9 jtk/ml), co może gwarantować efekt prozdrowotny po spożyciu 100 g porcji produktu.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Caplice E., Fitzgerald G. F.: Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Mikrob.*, 1999, **50**, 131-149.
- [2] Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Raport a Joint FAO/WHO Working Group, 2002.
- [3] Knochel S., Gould G.: Preservation microbiology and safety: Quo vadis? *Trends Food Sci. Technol.* 1995, **6**, 127-131.
- [4] Kołożyn-Krajewska D., Jałosińska-Pieńkowska M.: Założenia, zasady i przyszłość prognozowania mikrobiologicznego. *Żywność Technologia. Jakość*, 1999, **21**, 22-37.
- [5] Kręgiel D., Oberman H.: Prognozowanie bioprocessów. *Przem. Spoż.* 2004, **1 (58)**, 12-14.
- [6] McMeekin T., Olley J., Ross T., Ratkowsky D.: Predictive microbiology: theory an application. Research Studies Press, 1993, Taunton.
- [7] Planas M., Vázquez J.A., Marqués J., Pérez-Lomba R., González M.P., Murado M.: Enhancement of rotifer (*Brachionus plicatilis*) growth by using terrestrial lactic acid bacteria. *Aquaculture* 2004, **240**, 313-329.
- [8] PN-ISO: 15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30 °C.
- [9] Ratkowsky D.A.: Principles of nonlinear regression modeling. *J. Ind. Microbiol.* 1993, **12**, 195-199.
- [10] Ross T. McMeekin T.A.: Predictive microbiology: application of square root model. *Food Aust.* 1991, **43**, 202.
- [11] Ross T., McMeekin T.: Predictive microbiology. *Int. J. Food Microbiol.* 1994, **23**, 241-264.
- [12] Saarela M., Mogensen G., Fondén R., Mättö J., Mattila-Sandholm T.: Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 2000, **84**, 197-215.
- [13] Schaffner D., Labuza T.: Predictive microbiology: where are we and where are we going? *Food Technol.* 1997, **51**, 95-99.
- [14] Trzaskowska M., Kołożyn-Krajewska D., Goryl A.: Prognozowanie wzrostu i przeżywalności bakterii probiotycznych w fermentowanym soku marchwiowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **6 (55)**, 138 – 148.
- [15] Zielińska D.: Dobór szczepów bakterii *Lactobacillus* i ustalenie warunków fermentacji napoju sojowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (43) Supl.**, 289 - 297.
- [16] Zielińska D., Uzarowicz U.: Warunki dojrzewania i przechowywania fermentowanego napoju sojowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5 (54)**, 186 - 193.
- [17] Zwieterling M.H.: Models and control of bacterial fermentations. In: Health functionality of fermented soybean foods. Ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen 2005, pp. 137-147.

SURVIVAL MODELS OF POTENTIALLY PROBIOTIC *LACTOBACILLUS CASEI* KN291 BACTERIA IN A FERMENTED SOY BEVERAGE

S u m m a r y

The objective of the study was to develop predictive models of growth and survival of potentially probiotic *Lactobacillus casei* KN291 bacteria in a fermented soy beverage stored at different temperatures.

Non-linear predictive models were developed and they were characterized by proper adjustment and good stochastic properties of the parameters assessed. The models developed satisfactorily describe the

behaviour of *L. casei* KN291 bacteria in the fermented soy beverage and can be used to assess (predict) the storing time-depending bacteria count.

The fermented soy beverage stored under the storage conditions studied was characterized by the adequately large count of potentially probiotic *L. casei* KN291 bacteria (approx. 10^9 cfu/ml) and this fact can guarantee a pro-health effect when eating a 100 g portion of the product.

Key words: predictive microbiology, fermented soy beverage, probiotics ☒

JOANNA KOLNIAK

WPLYW SPOSOBU ZAMRAŻANIA, ROZMRAŻANIA ORAZ DODATKÓW KRIOOCHRONNYCH NA ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI OGÓŁEM, ANTOCYJANÓW I POJEMNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ MROŻONEK TRUSKAWKOWYCH

Streszczenie

Praca miała na celu ocenę wpływu sposobu zamrażania, rozmrażania oraz dodatku substancji kriochronnych, po 6-miesięcznym przechowywaniu w warunkach zamrożenia, na trwałość związków fenolowych, a także aktywność przeciwutleniającą truskawek. Porównano zawartość polifenoli ogółem i antocyjanów w truskawkach świeżych oraz po przechowywaniu zamrażalniczym. Ponadto w rozmrożonych truskawkach oznaczono ich aktywność przeciwutleniającą.

Stwierdzono, że największą zawartością polifenoli charakteryzowały się świeże truskawki odmiany Elkat (178,3 mg/100 g), natomiast najwięcej antocyjanów zawierała odmiana Senga-Sengana (39,6 mg/100 g). Po sześciomiesięcznym zamrażalniczym przechowywaniu stwierdzono wzrost zawartości polifenoli ogółem (średnio od 157,1 do 252,9 mg/100 g w zależności od wariantu doświadczenia). Najwięcej polifenoli oznaczono w próbkach z dodatkiem kwasu askorbinowego (252,9 mg/100 g), natomiast najmniej w próbkach z dodatkiem cukru i pektyny jako substancji kriochronnych (163,2 mg/100 g). Zawartość antocyjanów po przechowywaniu znacznie zmalała (średnio od 39,6 do 10,44 mg/100 g w zależności od wariantu doświadczenia). Największą degradację tych związków zaobserwowano w próbkach z dodatkiem kwasu askorbinowego (do 10,88 mg/100 g) natomiast najmniejszą w próbkach kontrolnych (do 39,09 mg/100 g). Największą pojemnością przeciwutleniającą charakteryzowały się truskawki z dodatkiem kwasu askorbinowego (2202,2 μ M Trolox/100 g), natomiast najmniejszą próbki z dodatkiem cukru i pektyny (252,4 μ M Trolox/100 g).

Przeprowadzone badania wykazały, że na wartość pojemności przeciwutleniającej oraz zawartość polifenoli ogółem i antocyjanów korzystniej wpływa szybkie zamrażanie w ciekłym azocie niż zamrażanie w zamrażarce oraz szybkie rozmrażanie w kuchni mikrofalowej w porównaniu z rozmrażaniem w temperaturze 20 °C w ciągu 20 h.

Słowa kluczowe: truskawki, zamrażanie, dodatki kriochronne, pojemność przeciwutleniająca

Wprowadzenie

Truskawka, należąca do rodzaju *Fragaria*, jest jednym z najmłodszych gatunków roślin sadowniczych. Dzięki takim właściwościom, jak specyficzny smak i aromat oraz wysoka wartość odżywcza i dietetyczna, truskawki są doskonałym surowcem do bezpośredniej konsumpcji oraz produkcji mrozonek, soków, dżemów i kompotów [2]. Cenna wartość odżywcza truskawek objawia się tym, że zawierają one łatwo rozpuszczalne cukry, kwasy organiczne, witaminy (A, B₁, B₂ i C) oraz sole mineralne, których składnikiem jest żelazo, wapń, fosfor i potas [22].

Do naturalnych przeciwutleniaczy występujących w truskawkach można zaliczyć m.in. związki fenolowe różniące się między sobą strukturą, właściwościami fizykochemicznymi i aktywnością biologiczną. Na zawartość związków fenolowych w truskawkach wpływają: warunki glebowe, klimatyczne, stopień dojrzałości owoców i sposób postępowania z nimi po zbiorze [1, 8].

Związki fenolowe występujące tylko w surowcach roślinnych należą do najaktywniejszych przeciwutleniaczy znajdujących się w diecie człowieka. Wśród polifenoli aktywność przeciwutleniającą wykazują m.in. flawonoidy i fenolokwasy. Mogą one działać jako substancje redukujące nadtlenki, związki blokujące wolne rodniki, tworzące kompleksy z metalami katalizującymi reakcje utleniania oraz związki hamujące działalność enzymów utleniających, na przykład lipooksygenaz [1, 12].

Proces zamrażania truskawek polega na jak najszybszym, kontrolowanym obniżeniu ich temperatury, poprzez odprowadzenie ciepła z owoców do ośrodka chłodniczego aż do temperatury od -20 do -30 °C. Ze względu na delikatność tkanek, zamrażanie truskawek powoduje częściowe uszkodzenie ich struktury komórkowej i zahamowanie procesów biologicznych. Zmiany jakościowe mrożonych truskawek są wypadkową szczytkowych przemian chemicznych i biochemicznych oraz przemian fizycznych zachodzących głównie na powierzchni owoców. Przemiany te mają charakter jednokierunkowych procesów rozkładu, którym towarzyszy obniżenie jakości sensorycznej i walorów użytkowych. Przemiany o charakterze fizycznym, chemicznym i biochemicznym zachodzące w mrożonych truskawkach mają wpływ na jakość końcową przechowywanych owoców. Jakość ta oznaczana jest jako PSL (Practical Storage Live). Skrót ten oznacza czas, po którym produkt nie nadaje się już do konsumpcji ani do dalszego przerobu [14].

Celem pracy była ocena wpływu sposobu zamrażania, rozmrażania oraz dodatków kriochronnych na zawartość związków fenolowych i aktywność przeciwutleniającą mrożonych truskawek.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono w laboratorium Zakładu Technologii Owoców i Warzyw Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Do badań użyto owoców trzech odmian truskawek: Elkat, Senga-Sengana oraz Kent, pozyskanych w czerwcu 2006 roku. Surowiec odpowiadał wymogom jakości pierwszej klasy zgodnie z normą PN-R-75034 [13]. Truskawki przebierano, myto i odszypułkowały, a następnie poddawano badaniom na zawartość polifenoli ogółem i antocyjanów.

Jako substancji kriochronnych używano kwasu askorbinowego, cukru lub pektyny w postaci sypkiej. Z każdej z odmian odważano osiem porcji truskawek po 500 g, następnie owoce przesypano substancjami kriochronnymi i zamrażano w zamrażarce spożywczej w temp. -20 °C lub w ciekłym azocie w temp. -196 °C. Wszystkie próby przechowywano w zamrażarce w temp. -20 °C przez 6 miesięcy.

Warianty doświadczenia oznaczono w następujący sposób:

- 1 – próbka kontrolna zamrożona w zamrażarce spożywczej,
- 1a – próbka kontrolna zamrożona w ciekłym azocie,
- 2 – próbka z dodatkiem 10 % cukru i 0,1 % kwasu askorbinowego zamrożona w zamrażarce,
- 2a – próbka z dodatkiem 10 % cukru i 0,1 % kwasu askorbinowego zamrożona w azocie,
- 3 – próbka z dodatkiem 10 % cukru i 0,1 % pektyny zamrożona w zamrażarce,
- 3a – próbka z dodatkiem 10 % cukru i 0,1 % pektyny zamrożona w azocie,
- 4 – próbka z dodatkiem 10 % cukru zamrożona w zamrażarce,
- 4a – próba z dodatkiem 10 % cukru zamrożona w azocie.

Po 6 miesiącach przechowywania próbki rozmrażano w temp. 20 °C przez 20 h lub w kuchni mikrofalowej w ciągu 3 min. Próbkom rozmrażanym w kuchni mikrofalowej dodatkowo nadawano indeks „m”.

W świeżych truskawkach oraz w truskawkach po rozmrożeniu oznaczano zawartość polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteu'a [19] oraz zawartość antocyjanów metodą Fuleki i Francisca [3]. Ponadto, w rozmrożonych owocach określano aktywność przeciwutleniającą metodą ABTS* [11], a także poprzez oznaczenie siły wygaszania rodników DPPH* metodą Gow-Chin Yena i HuiYin Chena [5].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą analizy głównych składowych PCA (ang. Principal Component Analysis) za pomocą programu XLSTAT (firmy Addinsoft).

Wyniki i dyskusja

Świeże truskawki odmiany Senga-Sengana charakteryzowały się najmniejszą zawartością polifenoli wynoszącą 157,1 mg/100 g truskawek (tab. 1). W odmianach El-

kat i Kent oznaczono większą zawartość polifenoli, odpowiednio 178,3 oraz 175,0 mg tych związków w 100 g świeżego surowca (tab. 1). Podobne wyniki uzyskali Kmieciak, Jaworska i Lisiewska – zawartość polifenoli w badanych truskawkach wynosiła 155 mg w 100 g świeżych owoców [9]. W przeciwieństwie do zawartości polifenoli, najwięcej antocyjanów stwierdzono w odmianie Senga-Sengana (39,6 mg/100 g). Odmiana Elkat charakteryzowała się zbliżoną zawartością antocyjanów (37,3 mg/100 g), natomiast prawie trzykrotnie mniej tych związków było w odmianie Kent (13,4 mg/100 g) (tab. 1). Uzyskane wyniki podobne są do uzyskanych przez Wilską-Jeszczę i wsp. [21], które oznaczyły od 0,96 do 35,20 mg antocyjanów w 100 g świeżych truskawek różnych odmian.

Tabela 1

Zawartość polifenoli i antocyjanów w świeżych truskawkach odmiany Elkat, Senga-Sengana i Kent.
Content of polyphenols and anthocyanins in Elkat, Senga-Sengana and Kent fresh strawberry cultivars.

Odmiana truskawek Strawberry cultivar	Polifenole / Polyphenols [mg/100 g]	Antocyjany / Anthocyanins [mg/100 g]
Senga-Sengana	157,1	39,6
Elkat	178,3	37,3
Kent	175,0	13,4

Odmianą truskawek charakteryzującą się największą zawartością analizowanych składników jest Elkat. W literaturze podaje się, że jest to odmiana przede wszystkim deserowa, lecz nadająca się również na przetwory i mrożonki o bardzo dużej wydajności [4].

W rozmrożonym produkcie najwięcej polifenoli oznaczono w próbkach z dodatkiem cukru i kwasu askorbinowego (2 i 2a), natomiast najmniej w próbkach z dodatkiem cukru i pektyny (3 i 3a) (tab. 2). Zawartość polifenoli w próbkach z dodatkiem kwasu askorbinowego (2 i 2a) wynosiła od 212,1 do 267,9 mg/100 g truskawek. W próbkach z dodatkiem cukru i pektyny (3 i 3a) zawartość polifenoli kształtowała się na poziomie od 163,2 do 230,7 mg w 100 g. W próbkach kontrolnych (1, 1a) oraz z dodatkiem samego cukru (4 i 4a) zawartość polifenoli utrzymywała się na średnim poziomie (tab. 2). Podobne wyniki uzyskały Skupień i Wójcik-Stopczyńska [18], które po 12 miesiącach przechowywania truskawek zaobserwowały wzrost zawartości polifenoli ogółem z 373,8 mg/100 g do 385,7 mg w 100 g. mrożonych owoców.

W mrożonych truskawkach przechowywanych przez 6 miesięcy stwierdzono wzrost zawartości polifenoli ogółem w stosunku do owoców świeżych. Häkkinen i Törrönen [7] podają, że w trakcie kilkumiesięcznego przechowywania truskawek możliwy jest zarówno wzrost, jak i zmniejszenie zawartości polifenoli. Autorzy twier-

dzą, że wzrost zawartości związków polifenolowych w badanych produktach związany może być z fizjologiczną odpowiedzią organizmów roślinnych na infekcje i uszkodzenia. Może być on również wynikiem uwolnienia się polifenoli z uszkodzonych komórek miąższu w trakcie homogenizacji truskawek, a szczególnie z twardych niełupków

Tabela 2

Zawartość polifenoli ogółem w truskawkach odmian Senga-Sengana, Elkat i Kent różniących się sposobem zamrażania, rozmrażania i dodatkiem preparatu kriochronnego, po 6 miesiącach przechowywania [mg/100 g].

Content of polyphenols in Elkat, Senga-Sengana and Kent strawberry cultivars depending on the method of freezing, thawing, and cryo-protective supplements added, after 6 months of storage [mg/100 g].

Odmiana truskawek Strawberry cultivar	Rozmrażanie Thawing	Zamrażanie Freezing							
		Zamrażarka Freezer				Ciekły azot Liquid nitrogen			
		1. Próba kontrolna 1. Control sample	2. Cukier + kw. askorb. 2. Sugar+ L-ascorbic acid	3. Cukier + pektyna 3. Sugar+ pectin	4. Cukier 4. Sugar	1a. Próba kontrolna 1a. Control sample	2a. Cukier+ kw. askorb. 2a. Sugar+ L-ascorbic acid	3a. Cukier+pektyna 3a. Sugar+ pectin	4a. Cukier 4a. Sugar
Senga-Sengana	20 °C 20 h	183,7	212,1	163,2	171,3	188,0	224,3	164,8	172,6
	Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	185,4	231,4	176,8	181,9	190,2	225,7	189,6	188,4
Elkat	20 °C 20 h	216,4	232,4	183,7	195,1	209,4	247,1	190,0	197,9
	Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	227,4	242,1	194,1	205,9	231,1	247,8	202,8	199,8
Kent	20 °C 20 h	200,7	227,5	180,2	176,8	177,6	222,0	176,8	178,9
	Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	211,3	252,9	230,7	192,0	198,4	267,9	193,7	194,5

występujących na powierzchni truskawek, które stanowiąc 1% masy owocu zawierają 10 % sumy związków polifenolowych [6, 7]. Zastosowana metoda oznaczenia polifenoli również może mieć wpływ na uzyskane wyniki, gdyż odczynnik Folina-Ciocalteu'a reaguje także m.in. z cukrami, kwasem askorbinowym, białkami, aminokwasami, jonami miedzi i żelaza [16]. Tak więc dodatek substancji krioochronnych do badanych truskawek mógł zwiększyć wynik analizy związków fenolowych.

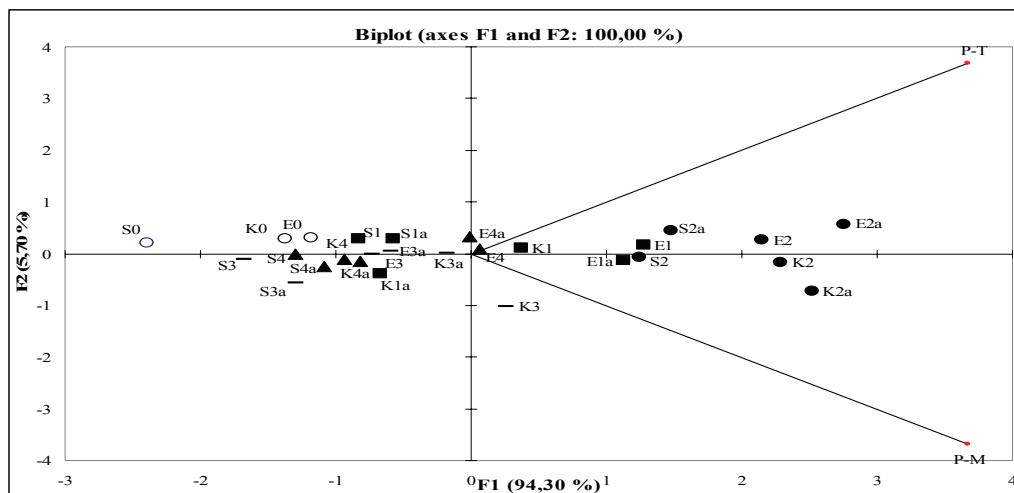
Dodatek kwasu askorbinowego w największym stopniu wpłynął na zawartość polifenoli w truskawkach. Związane jest to z ochronnym działaniem kwasu na polifenole, polegającym na redukcji powstających chinonów do fenoli, co przeciwdziała ich kondensacji i utlenianiu, a także z reakcją tego związku z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a [17].

Badania wykazały wpływ sposobu rozmrażania na zawartość związków polifenolowych. Próbkę rozmrażaną w temperaturze pokojowej (20 °C) zawierały mniej polifenoli niż próbki rozmrażane w kuchni mikrofalowej. Związane jest to ze znacznie krótszym okresem oddziaływania tlenu i światła na rozmrażany surowiec oraz większą szybkością procesu rozmrażania spowodowaną powstawaniem energii cieplnej wewnątrz produktu, co mogło ochronić polifenole przed procesem utleniania zwłaszcza enzymatycznego, który nasila się w uszkodzonych rozmrożonych tkankach [11, 14].

W większości próbek zamrażanych w ciekłym azocie zaobserwowano nieznacznie większą zawartość polifenoli w porównaniu z rozmrażaniem w temp. 20 °C w ciągu 20 h. Może to być związane z pozytywnym oddziaływaniem ultraszybkiego mrożenia kriogenicznego na tkanki owoców. Niezniszczona struktura ochroniła polifenole przed dostępem tlenu, nie dopuszczając do ich utlenienia [14].

Odmianą truskawek charakteryzującą się największym wzrostem zawartości polifenoli ogółem była odmiana Kent (wzrost o 53 % – dodatek mieszaniny cukru i kwasu askorbinowego) (tab. 2). W odmianie Elkat zaobserwowano najmniejszy wzrost o 39 % przy zastosowaniu tych samych substancji krioochronnych. Potwierdza to pozytywny wpływ kwasu askorbinowego na związki polifenolowe bez względu na odmianę truskawek.

Analiza PCA wykazała dodatnią korelację pomiędzy zawartością polifenoli a dodatkiem do próbek mieszaniny cukru i kwasu askorbinowego (2 i 2a, symbol ●). Dodatek mieszaniny cukru i pektyny (3 i 3a, symbol —) oraz dodatek samego cukru (4 i 4a, symbol ▲) wykazały niewielką, dodatnią korelację z zawartością polifenoli w badanych próbkach. W stosunku do próbek bez dodatku substancji krioochronnych (1 i 1a, symbol ■) nie można jednoznacznie zinterpretować wyników, ponieważ część próbek wykazała dodatnią, a część ujemną korelację z zawartością polifenoli w truskawkach po 6-miesięcznym przechowywaniu.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

S – truskawki odmiany Senga-Sengana / Senga-Sengana cultivar strawberries

E – truskawki odmiany Elkat / Elkat cultivar strawberries,

K – truskawki odmiany Kent / Kent cultivar strawberries,

a – truskawki zamrażane w ciekłym azocie / strawberries frozen in liquid nitrogen,

■ – próba kontrolna / control sample,

● – próbka z dodatkiem cukru i kw. askorbinowego / sample with sugar and L-ascorbic acid added,

— – próbka z dodatkiem cukru i pektyny / sample with sugar and pectin added,

P-M – truskawki rozmrażane w kuchni mikrofalowej / strawberries thawed in microwave oven,

P-T – truskawki rozmrażane w temp. 20 °C w ciągu 20 h / strawberries thawed at 20 °C during a period of 20 h.

Rys. 1. Analiza PCA zawartości polifenoli w truskawkach odmian Senga-Sengana, Elkat i Kent różniących się sposobem zamrażania, rozmrażania i dodatkiem preparatu kriochronnego, po 6 miesiącach przechowywania.

Fig. 1. PCA (analysis) of the content of polyphenols in Elkat, Senga-Sengana, and Kent strawberry cultivars depending on the method of freezing, thawing, and cryo-protective supplements added, after 6 months of storage.

Kolejną grupą związków analizowanych w truskawkach były antocyjany (tab. 3). W trakcie 6-miesięcznego przechowywania nastąpiły niewielkie straty zawartości tych związków. W świeżych truskawkach zawartość antocyjanów przyjmowała wartości od 13,4 do 39,6 mg/100 g (tab. 1). W rozmrożonych owocach największą degradację antocyjanów stwierdzono w próbkach z dodatkiem kwasu askorbinowego (2 i 2a) (tab. 3). Zawartość barwników w tych próbkach wynosiła od 10,85 do 34,34 mg/100 g truskawek. Najmniejszy ubytek zawartości antocyjanów oznaczono w próbkach kontrolnych (1 i 1a) (tab. 3). Ich zawartość wynosiła od 10,79 do 39,09 mg w 100 g truskawek. Podobna degradacja barwników nastąpiła w próbkach z mieszaniną pektyny i cukru oraz z samym cukrem (3, 3a, 4 i 4a).

Tabela 3

Zawartość antocyjanów w truskawkach odmian Senga-Sengana, Elkat i Kent różniących się sposobem zamrażania, rozmrażania i dodatkiem preparatu kriochronnego, po 6 miesiącach przechowywania [mg/100 g].

Content of anthocyanins in Elkat, Senga-Sengana, and Kent strawberry cultivars depending on the method of freezing, thawing, and cryo-protective supplements added, after 6 months of storage [mg/100 g].

Odmiana truskawek Strawberry cultivar	Rozmrażanie Thawing	Zamrażanie Freezing							
		Zamrażarka Freezer				Ciekły azot Liquid nitrogen			
		1. Próba kontrolna 1. Control probe	2. Cukier + kw. askorb. 2. Sugar+ L-ascorbic acid	3. Cukier + pektyna 3. Sugar+ pectin	4. Cukier 4. Sugar	1a. Próba kontrolna 1a. Control probe	2a. Cukier+ kw. askorb. 2a. Sugar+ L-ascorbic acid	3a. Cukier+pektyna 3a. Sugar+ pectin	4a. Cukier 4a. Sugar
Senga-Sengana	20 °C 20 h	38,33	33,12	33,31	35,37	37,45	32,39	32,70	37,97
	Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	38,86	33,39	35,66	33,83	39,09	34,34	35,47	34,70
Elkat	20 °C 20 h	36,14	30,92	27,61	27,88	34,33	31,02	31,98	31,31
	Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	36,21	32,61	33,94	33,43	37,03	31,23	34,03	33,66
Kent	20 °C 20 h	13,25	10,85	12,38	10,44	10,79	12,45	12,88	12,81
	Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	13,03	10,88	12,93	11,97	13,32	12,86	13,17	13,31

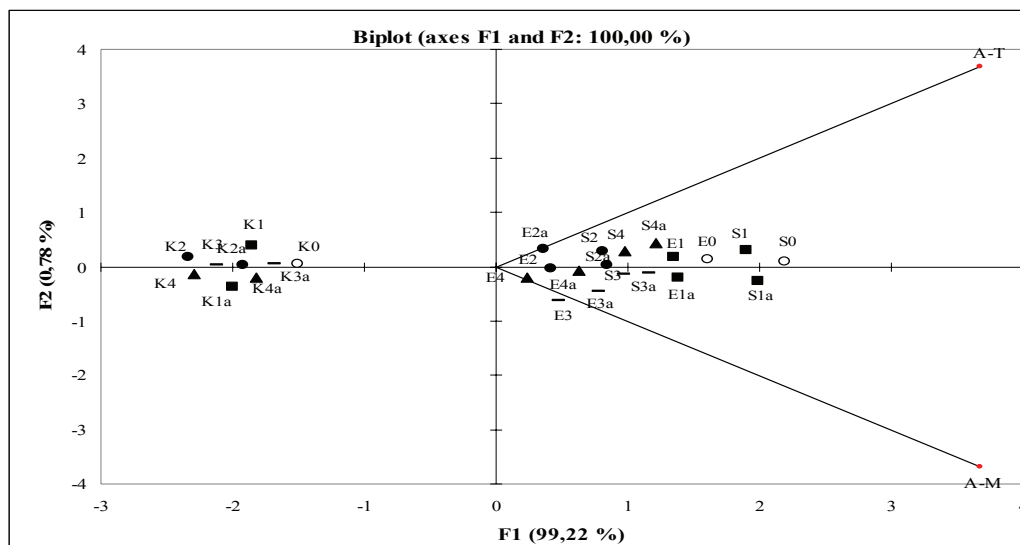
Uzyskane wyniki potwierdzają opisaną w literaturze wrażliwość antocyjanów na obecność kwasu askorbinowego. Markakis [10] podaje, że jest to prawdopodobnie działanie pośrednie. Czynnym związkiem powodującym destabilizację cząsteczek antocyjanów jest nadtlenek wodoru tworzący się w procesie utleniania kwasu askorbinowego. Również dostęp tlenu i światła powoduje rozkład lub polimeryzację antocyjanów. Prawdopodobnie wrażliwość antocyjanów na obecność cukru i produktów jego

degradacji spowodowała, że najmniejszy ubytek zawartości tych związków oznaczono w próbce bez dodatku cukru jako substancji kriochronnej.

Podobnie, jak w przypadku polifenoli, zaobserwowano mniejszy ubytek zawartości antocyjanów w trakcie rozmrażania mikrofalowego w porównaniu z rozmrażaniem w temperaturze pokojowej. Związane może to być z niską stabilnością barwników w obecności tlenu i światła, jaka występowała w trakcie powolnego rozmrażania w temperaturze 20 °C [11].

Zaobserwowana została zależność pomiędzy sposobem zamrażania a zawartością antocyjanów. W próbkach zamrażanych w ciekłym azocie oznaczono większą zawartość barwników niż w próbkach zamrażanych w tradycyjny sposób. Zwiększona zawartość antocyjanów związana jest zapewne z szybkością procesu zamrażania i szybkim przejściem w przedziale temperatur od -2 do -5°C, w której występuje najwięcej przemian składników komórek [14].

Odmianą najbardziej odporną na degradację antocyjanów była odmiana Senga-Sengana (tab. 3). Maksymalny stopień degradacji wynosił 18 %. Truskawki odmiany Elkat wykazała najmniejszą odporność na degradację antocyjanów (26 %).



Objaśnienia jak pod rys.1. / Explanatory notes see Fig. 1.

Rys. 2. Analiza PCA zawartości antocyjanów w truskawkach odmian Senga-Sengana, Elkat i Kent różniących się sposobem zamrażania, rozmrażania i dodatkiem preparatu kriochronnego, po 6 miesiącach przechowywania.

Fig. 2. PCA (analysis) of the content of anthocyanins in Elkat, Senga-Sengana, and Kent strawberry cultivars depending on the method of freezing, thawing, and crio-protective supplements added, after 6 months of storage.

Tabela 4

Wartość pojemności przeciwutleniającej jako zdolność wygaszania rodnika DPPH[•] i ABTS[•] w truskawkach odmian Senga-Sengana, Elkat i Kent różniących się sposobem zamrażania, rozmrażania i dodatkiem preparatu kriochronnego, po 6 miesiącach przechowywania [μ Mole Trolox/100 g].

Value of antioxidant capacity as dissolution differences of DPPH[•] and ABTS[•] radicals in Elkat, Senga-Sengana, and Kent strawberry cultivars depending on the method of freezing, thawing, and cryo-protective supplements added, after 6 months of storage [μ Mole Trolox/100 g].

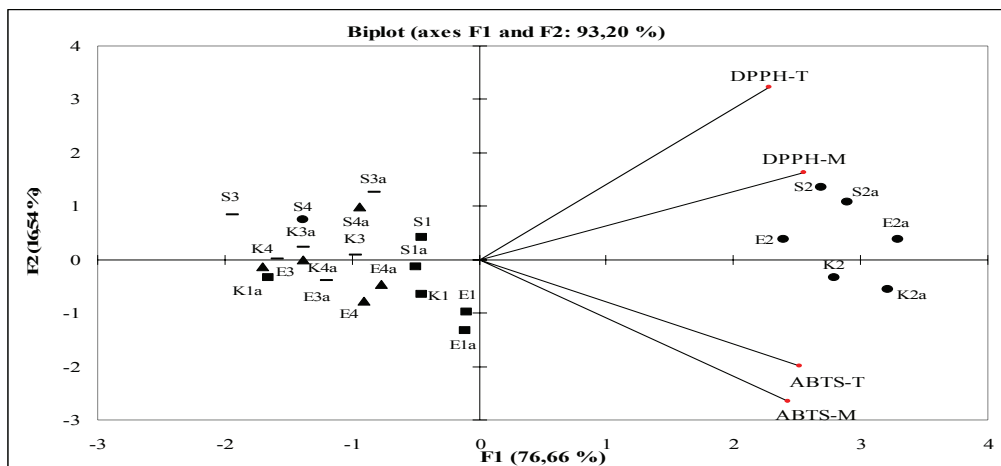
Odmiana truskawek Strawberry cultivar	Rodnik Radical	Rozmrażanie Thawing	Zamrażarka / Freezer				Zamrażanie / Freezing			
			Zamrażarka / Freezer		Ciekły azot / Liquid nitrogen		Zamrażarka / Freezer		Ciekły azot / Liquid nitrogen	
			1. Próba kontrolna 1. Control probe	2. Cukier + kw. askorb. 2. Sugar+ L-ascorbic acid	3. Cukier + pektyna 3. Sugar+ pectin	4. Cukier 4. Sugar	1a. Próba kontrolna 1a. Control probe	2a. Cukier+ kw. askorb. 2a. Sugar+ L-ascorbic acid	3a. Cukier+ pektyna 3a. Sugar+ pectin	4a. Cukier 4a. Sugar
Senga - Sengana	DPPH*	20 °C, 20 h	1665,3	2101,8	1435,4	1442,0	1513,1	1985,8	1572,5	1605,8
		Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	1636,0	1975,6	1442,9	1551,3	1647,6	2106,2	1704,0	1549,3
		20 °C, 20 h	280,5	359,3	270,6	286,8	293,8	345,6	252,4	275,5
Elkat	DPPH*	Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	309,7	325,8	265,3	269,2	312,8	328,6	310,8	299,7
		20 °C, 20 h	1349,7	1783,9	1285,3	1283,0	1352,1	1874,7	1249,9	1343,9
		Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	1571,8	1815,1	1406,6	1453,3	1496,9	1946,1	1453,4	1488,0
Kent	DPPH*	20 °C, 20 h	329,2	367,7	279,1	305,1	326,4	387,8	279,4	307,1
		Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	348,9	371,1	316,1	343,1	357,2	382,5	344,8	335,5
		20 °C, 20 h	1423,9	1859,6	1320,6	1477,8	1290,1	1639,3	1367,5	1410,8
Kent	ABTS*	Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	1407,5	1881,8	1400,0	1229,6	1404,9	2202,2	1468,5	1394,1
		20 °C, 20 h	324,2	362,6	312,0	332,5	324,6	352,1	298,8	325,8
		Kuchnia mikrofalowa Microwave oven	285,5	370,6	293,5	302,4	314,9	379,9	340,9	327,6

Analiza PCA wykazała, że na zawartość barwników w próbkach rozmrażanych w temperaturze pokojowej, jak i w kuchence mikrofalowej, pozytywnie wpłynął brak dodatku jakichkolwiek substancji kriochronnych (1 i 1a, symbol ■). Natomiast dodatek do truskawek mieszaniny cukru i pektyny (3, 3a, symbol —) wpłynął pozytywnie na zawartość antocyjanów w próbkach rozmrażanych mikrofalowo. Może to być związane z utworzeniem ochronnej warstwy pektynowej.

W tab. 4. przedstawiono wyniki badań nad zdolnością rozmrożonych truskawek do wygaszania rodników DPPH[•] i ABTS[•]. W przypadku rodnika DPPH[•], wyniki wskazują, że największą pojemnością przeciwutleniającą charakteryzowały się próbki z dodatkiem kwasu askorbinowego (2 i 2a). Najniższa pojemność przeciwutleniająca była w próbkach z dodatkiem cukru i pektyny. Wynosiła ona od 1249,9 do 1704,0 $\mu\text{mola}/100\text{ g}$ truskawek. Wyniki uzyskane po przeprowadzeniu badań nad zdolnością wygaszania rodnika ABTS[•] kształtowały się podobnie w poszczególnych rodzajach próbek, jak wyniki dotyczące rodnika DPPH[•]. Największą zawartość μmoli Troloxu oznaczono w próbkach z dodatkiem kwasu askorbinowego (2, 2a). Zawartość syntetycznego tokoferolu przyjmowała wartości w przedziale od 325,8 do 387,8 $\mu\text{mola}/100\text{ g}$. Najmniejszą aktywność przeciwutleniającą wykazywały próbki z dodatkiem cukru i pektyny (3 i 3a). Zawartość Troloxu w tych próbkach przyjmowała wartości w przedziale od 252,4 do 344,8 $\mu\text{mola}/100\text{ g}$. Uzyskane wyniki pokrywają się z wartościami oznaczonymi przez Priora i wsp. [15], którzy oznaczyli w 100 g truskawek 1540 μmoli Troloxu.

Pojemność przeciwutleniająca była tym większa im więcej polifenoli oznaczono w truskawkach (tab. 2), co wynika z faktu, że polifenole są związkami, które w ponad 50 % kształtują pojemność przeciwutleniającą truskawek [8]. Również dodatek kwasu askorbinowego wpłynął na zwiększenie pojemności przeciwutleniającej (tab. 4). Kwas askorbinowy jest silnym związkiem przeciwutleniającym, który reprezentuje około 15 % pojemności przeciwutleniającej truskawek [20].

Analiza PCA pojemności przeciwutleniającej wykazała dodatnią korelację pomiędzy dodatkiem do próbek kwasu askorbinowego a pojemnością przeciwutleniającą (2 i 2a, symbol ●). Również próbki bez dodatku substancji kriochronnych (1 i 1a, symbol ■) są dodatnio skorelowane z wysoką wartością pojemności przeciwutleniającej. Analiza PCA nie wykazała dodatniej korelacji pomiędzy dodatkiem cukru i pektyny (3 i 3a, symbol —) a wysoką wartością pojemności przeciwutleniającej. W przypadku próbek z dodatkiem samego cukru (4 i 4a, symbol ▲) nie można jednoznacznie zinterpretować wyników, ponieważ część próbek wykazała dodatnią, a część ujemną korelację z wysoką wartością pojemności przeciwutleniającej.



Objaśnienia jak pod rys.1. / Explanatory notes see Fig. 1.

Rys. 3. Analiza PCA pojemności przeciwutleniającej w truskawkach odmian Senga-Sengana, Elkat i Kent różniących się sposobem zamrażania, rozmrażania i dodatkiem preparatu kriochronnego po 6 miesiącach przechowywania

Fig. 3. PCA (analysis) of antioxidant capacity in Elkat, Senga-Sengana, and Kent strawberry cultivars depending on the method of freezing, thawing, and cryo-protective supplements addition, after 6 months of storage.

Wnioski

1. Największą zawartością polifenoli ogółem (178,3 mg/100 g) charakteryzowały się świeże truskawki odmiany Elkat, a najwięcej antocyjanów (39,6 mg/100 g) zawierały świeże truskawki odmiany Senga-Sengana.
2. Zamrażalnicze przechowywanie truskawek z dodatkami substancji kriochronnych spowodowało wzrost zawartości polifenoli ogółem. Najkorzystniejszy wpływ na zawartość polifenoli we wszystkich trzech odmianach mrożonych truskawek miał dodatek kwasu askorbinowego.
3. W warunkach przechowywania (temp. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, 6 miesięcy) nastąpił ubytek zawartości antocyjanów. Największą stabilność antocyjanów wykazano w mrożonkach bez dodatku substancji kriochronnych.
4. Największą pojemność przeciwutleniającą oznaczono w próbkach truskawek z dodatkiem kwasu askorbinowego (od 325,8 do 387,8 $\mu\text{mola Trolox}/100\text{ g}$ w przypadku rodnika ABTS' oraz od 1783,9 do 2202,2 $\mu\text{mola Trolox}/100\text{ g}$ w przypadku rodnika DPPH').
5. W porównaniu z zamrażaniem i rozmrażaniem konwencjonalnym, szybkie zamrażanie w ciekłym azocie i rozmrażanie mikrofalowe korzystniej wpływało na wielkość pojemności przeciwutleniającej oraz zawartość polifenoli ogółem i antocyjanów w mrożonych truskawkach.

6. Najkorzystniejszym wariantem obróbki jest mrożenie truskawek z dodatkiem kwasu askorbinowego w ciekłym azocie oraz rozmrażanie mikrofalowe. Odmianą truskawek najlepiej nadającą się do mrożenia jest Senga-Sengana, gdyż po rozmrożeniu w owocach stwierdza się najmniejszą degradację antocyjanów oraz największą pojemnością przeciwutleniającą, w porównaniu z odmianami Elkat i Kent.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Borowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy (1). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **5**, 11-12.
- [2] Frączek T.: Ocena przydatności technologicznej nowych odmian truskawek. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1985, **2**, 29-32.
- [3] Fuleki T., Francis F. J.: Quantitative methods for anthocyanins determination of total antocyanin and degradation index for cranberry juice. *J. Food Sci.*, 1968, **33**, 78- 83.
- [4] Gaj W.: Truskawki i poziomki. *Wyd. II. Wyd. Warta, Warszawa 1987*, s. 8-21.
- [5] Gow-Chin Y., Hui-Yin Ch.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.
- [6] Grajek W.: *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne.* WNT, Warszawa 2007, s. 141-559.
- [7] Häkkinen S.H., Törrönen A.R.: Content of flavonols and selected phenolic in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Res. Int.* 2000, **33**, 517-524.
- [8] Horubała A.: Pojemność przeciwutleniająca i jej zmiany w procesach przetwarzania owoców i warzyw. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1999, **3**, 30-32.
- [9] Kmiecik W., Jaworska G., Lisiewska Z.: Effect of sucrose, L-ascorbic acid and pectin on the quality of frozen strawberries. *EJPAU. Food Sci. Technol.*, 2000, **3 (2)**, 1-7.
- [10] Markakis P.: Stability of anthocyanins In ford. In *Anthocyanins as food colours.* Academic Press. New York 1982, p. 163.
- [11] Oszmiański J., Sozyński J.: Wpływ warunków otrzymywania oraz przechowywania soku z aronii na związki fenolowe i barwę. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Technologia Żywności V.* 1989, **184**, 89-100.
- [12] Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F.: Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Nutr. Requi.*, 2003, **133**, 2812- 2819.
- [13] PN-R-75034:1996. Truskawki odszypułkowane – wymagania jakościowe.
- [14] Postolski J., Gruda Z.: *Zamrażanie żywności.* Wyd. III. WNT, Warszawa 1999.
- [15] Prior R. L., Wang H., Cao G.: Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 701-705.
- [16] Prior R. L., Wu X., Schaich K.: Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 4290- 4302.
- [17] Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang P., Gloger W.: Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.*, 1999, **66**, 401- 436.

- [18] Skupień K., Wójcik-Stopczyńska B.: Ocena jakości przecierów z truskawek odmiany Elsanta. *Acta Scient. Polon., Technol. Aliment.*, 2005, **4** (2), 25-35.
- [19] Slonkart K., Singleton V. L.: Total phenol analysis: automation and comparison with manual method. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1977, **28**, 49-55.
- [20] Sokół-Lętowska A., Oszmiański J.: Właściwości przeciwutleniające naturalnych polifenoli. *Zesz. Nauk. AR. we Wrocławiu. Technologia Żywności XII*. 1998, **328**, 73-84.
- [21] Wilska-Jeszka J., Łoś J., Pawlak M.: Monomery i oligomery flawanolowe – występowanie i przemiany w owocach. *Instytut Biochemii Technicznej. Łódź* 1990, s. 79-89.
- [22] Żurawicz E. (pod red.): *Pomologia, odmianoznawstwo roślin sadowniczych*, aneks. PWRiL, Warszawa 2003.

EFFECT OF FREEZING & THAWING METHODS AND CRYO-PROTECTIVE SUPPLEMENTS ADDED ON THE CONTENT OF TOTAL POLYPHENOLS, ANTHOCYANINS, AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN FROZEN STRAWBERRIES

S u m m a r y

The objective of the study was to determinate the effect of freezing and thawing methods, as well as of cryo-protective supplements added after 6 months of storage at -20 °C on the durability of phenolic compounds and antioxidant capacity in fresh and freeze-stored strawberries. The content of total polyphenols and anthocyanins was compared in fresh and freeze-stored strawberries. Moreover, in thawed strawberries, their antioxidant capacity was determined.

It was found that the highest content of polyphenols was in the fresh strawberries of Elkat cultivar (178.3 mg/100 g), and the highest anthocyanins content was in the Senga – Sengana cultivar (39.6 mg/100 g). After 6 months of freeze storage, the increase in the total polyphenols was reported (from 157.1 to 252.9 mg/100 g on average, depending on the experiment variant). The highest amount of polyphenols was determined in the samples with L-ascorbic acid added, and the lowest was in the samples with sugar and pectin added as cryo-protective substances (163.2 mg/100 g). After the storage, the content of anthocyanins significantly decreased (from 29.6 to 10.44 mg/100 g on average, depending on the experiment variant). The highest degradation of those compounds was found in the samples with L-ascorbic acid added (to 10.88 mg/100 g), whereas the lowest – in the control samples (to 39.09 mg/100 g). The strawberries with L-ascorbic acid added were characterized by the highest antioxidant capacity (2202.2 µM Trolox/100 g) and the samples with sugar and pectin added – by the lowest (252.4 µM Trolox/100 g).

The accomplished study proved that the quick, liquid N₂ freezing process impacted more satisfactorily the values of antioxidant capacity and the content of total polyphenols than the conventional freezing in a freezer, as did the quick thawing in microwave device compared to thawing at 20 °C during a period of 20 hours.

Key words: strawberries, freezing, cryo-protective supplements, antioxidant capacity ☒

STANISŁAW KALISZ

WPLYW SPOSOBU OTRZYMYWANIA SOKÓW TRUSKAWKOWYCH NA ZAWARTOŚĆ ANTOCYJANÓW I BARWĘ

Streszczenie

Przedmiotem badań było określenie zmian jakościowych soków truskawkowych przechowywanych przez 1, 2 i 3 miesiące w temp. 4 °C. Sporządzono 4 warianty soków: (1) bez maceracji enzymatycznej miazgi, (2) bez maceracji enzymatycznej miazgi z dodatkiem taxifolinu, (3) po obróbce miazgi Panzymem BE, (4) po obróbce miazgi Panzymem BE z taxifolinem.

W sokach oznaczano zawartość: polifenoli ogółem, antocyjanów, katechin, witaminy C oraz pojemność przeciwutleniającą. Największą zawartością antocyjanów wyróżniał się sok po maceracji miazgi bez dodatków (47,07 mg/100 ml), najwięcej witaminy C zawierał sok po maceracji miazgi z taxifolinem (11,73 mg/100 ml), natomiast największą zawartością polifenoli i katechin odznaczał się sok po maceracji miazgi z taxifolinem (194,1 mg/100 ml i 17,9 mg/100 ml). Spośród badanych soków najwyższą pojemność przeciwutleniającą wykazywał sok po maceracji miazgi z taxifolinem (14,4 μmoli Troloxu/ml).

W trakcie 3-miesięcznego przechowywania stwierdzono zmniejszenie zawartości antocyjanów katechin, witaminy C i polifenoli ogółem, co powodowało obniżenie pojemności przeciwutleniającej. Szybkość degradacji składników oraz zmniejszenie właściwości przeciwutleniających miało najbardziej intensywny przebieg w 1. miesiącu przechowywania.

Słowa kluczowe: truskawki, soki, polifenole, aktywność przeciwutleniająca, taxifolin

Wprowadzenie

Truskawki należą do szlachetnych owoców jagodowych cenionych zarówno przez konsumentów, jak i przemysł przetwórczy. Swoją popularność zawdzięczają one atrakcyjnym walorom sensorycznym oraz zawartości substancji bioaktywnych. Jest to tym istotniejsze, że związki fenolowe ograniczają utlenianie witamin C, E oraz glutationu i innych substancji podatnych na procesy oksydacyjne. Ponadto bogactwo zawartych w truskawkach substancji bioaktywnych (m.in. flawonoidów, fenolokwasów) kształtuje szereg udokumentowanych farmakologicznie i biochemicznie ich właściwości prozdrowotnych, jak np. działanie przeciwutleniające, antykancerogenne, przeciw-

zapalne. Jako źródło naturalnych antyoksydantów truskawki stanowią dla konsumentów pożądaną alternatywę w profilaktyce wielu schorzeń cywilizacyjnych [4, 5, 7, 10, 12, 16].

Owoce te są przetwarzane na mrożonki, dżemy kompoty, koncentraty owocowe jako komponent soków i nektarów. Zbiory truskawek w Polsce stanowią 40 % zbiorów owoców jagodowych z systematyczną tendencją wzrostową na przestrzeni ostatnich pięciu lat. Należy przypuszczać, że uzyskanie tzw. płatności obszarowej z budżetu unijnego dla producentów truskawek i malin do 2012 roku może dodatkowo sprzyjać zwiększaniu upraw. Niestety, jak większość surowców przemysłu owocowo-warzywnego, truskawki są produktem sezonowym, dodatkowo charakteryzującym się małą trwałością po zbiorze, wymagającym niemal natychmiastowego przetworzenia. Pewną cechą niepożądaną jest również fakt, że dojrzałość zbiorcza, konsumpcyjna i przemysłowa truskawek są bardzo zbliżone w czasie [8, 17, 18].

Stosowane procesy przetwórcze pozostają jednak nie bez znaczenia na zawartość składników bioaktywnych w produkcie finalnym. Obróbka enzymatyczna poprawia wydajność tłoczenia oraz poprawia wydobycie polifenoli z tkanek surowca. Zawartość związków polifenolowych zależy m.in. od ich zawartości w surowcu wyjściowym, rodzaju preparatu enzymatycznego stosowanego do maceracji miazgi i warunków prowadzenia procesu [16]. Jak podają Oszmiański i wsp. [10], w stosunku do surowca wyjściowego sok po tłoczeniu zawiera 5 razy mniej związków fenolowych, a klarowanie powoduje dalsze ich zmniejszenie blisko o 1/5. Pozostałe zabiegi, takie jak zagęszczanie i obróbka termiczna oraz przechowywanie produktu finalnego są przyczyną postępującej degradacji połączonych składników. Ponadto część związków tracona jest z surowcami odpadowymi, powstałymi przy przerobieniu, czego przykładem są wyciągi, będące źródłem wielu cennych składników, jak np. związanych z polisacharydami ścian komórkowych proantocyjanidyn [7, 10, 18].

Przedstawiane w niniejszej pracy badania miały na celu określenie wpływu obróbki enzymatycznej oraz wzbogacania soków truskawkowych w taxifolin na zawartość związków polifenolowych, w tym antocyjanów, katechin oraz witaminy C, a także pojemność przeciwutleniającą soków truskawkowych.

Założono, że realizowane w tym zakresie badania eksperymentalne pozwolą określić wpływ stosowanych dodatków na ochronę połączonych składników. Jednocześnie przystępując do eksperymentów, oczekiwano potwierdzenia celowości wzbogacania soków taxifolinem.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły, otrzymane w skali laboratoryjnej, soki z truskawek w wariantach bez maceracji miazgi i z maceracją miazgi z użyciem preparatu enzymatycznego Panzym BE (firmy Begerow) bez i z dodatkiem przeciwutleniacza do miazgi.

Stosowanym dodatkiem był taxifolin (dihydrokwercytna) zadany w postaci preparatu Russlavitol TM (firmy Ametis JSC) w dawce 80 mg/kg. Truskawki z Paenzymem BE macerowano przez 2 h w temp. 50 °C w dawce 0,3 ml enzymu/kg owoców. Następnie miazgę tłoczono w laboratoryjnej prasie warstwowej. Otrzymany sok depektynizowano z dodatkiem 0,3 ml Paznyemu BE/I soku przez 1,5 h, wykonując co 30 min próbę alkoholową na obecność pektyn. Po zakończonej depektynizacji sok podgrzewano do temp. 85 °C celem inaktywacji enzymów. Następnie sok filtrowano przez filtr płytowy, stosując płytę filtracyjną K5 oraz środki wspomagające filtrowanie, pod ciśnieniem azotu. Na płytę filtracyjną nanoszono perlit, a do soku zastosowano dodatek ziemi krzemkowej Becogur 3500. Następnie przefiltrowany sok rozlewano do słoików o pojemności 80 ml i poddawano pasteryzacji przez 15 min w temp. 85 °C. Po obróbce termicznej produkt niezwłocznie chłodzono, a następnie przechowywano przez 3 miesiące w temp. 4 °C. Soki pobierano do badań co 30 dni, a analizy przeprowadzano w 3 powtórzeniach, w sokach z 3 odrębnych opakowaniach z tej samej partii.

W sokach oznaczano zawartość polifenoli ogółem, w tym antocyjanów oraz katechin. Wyznaczano jednocześnie półokres rozpadu antocyjanów, indeks ich degradacji, a także pojemność przeciwutleniającą spektrofotometrycznie z użyciem trwałego rodnika 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu (DPPH).

Zawartość antocyjanów i witaminy C oznaczano metodą HPLC z użyciem zestawu firmy Shimadzu, z detektorem 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 antocyjanów prowadzono przy użyciu kolumny Luna 5 µm C18(2) 250 x 4,6 mm (Phenomenex), a witaminy C stosując kolumnę Onyx Monolithic C18, 100 x 4,6 (Phenomenex), przy przepływie 1 ml/min w temp. 25 °C. Fazę ruchomą przy oznaczaniu antocyjanów stanowiła mieszanina woda : acetonitryl : kwas mrówkowy (810:90:100; v/v/v), a przy oznaczaniu witaminy C 0,1 % H₃PO₄. Rejestrację antocyjanów prowadzono przy λ = 520 nm, zaś witaminy C przy 254 nm. Końcową zawartość antocyjanów przeliczano na cyjanidyno-3-glukozyd. Przed nastrzykiem na szczyt kolumny HPLC próbki oczyszczano używając minikolumn Sep-Pak C18 firmy Waters, z wykorzystaniem systemu Baker SPE 12G.

Wyznaczano również indeks degradacji antocyjanów metodą Francisa-Fuleki [1] i obliczano półokres rozpadu antocyjanów. Zawartość polifenoli ogółem oznaczano metodą Gao [2], wyrażając wynik w przeliczeniu na kwas galusowy, a zawartości katechin metodą Swaina i Hillisa [15]. Parametry barwy oznaczano w świetle przechodzącym, używając kolorymetru Konica Minolta CM-3600d, w kuwetach szklanych o grubości 1 cm. Pomiary prowadzono w systemie CIE L*a*b*, stosując typ obserwatora 10° oraz iluminant D65. Pomiar właściwości przeciwutleniających soków prowadzono wobec rodników 2,2 difenyl-1-pikrylohydrazylowych (DPPH) metodą Yena oraz

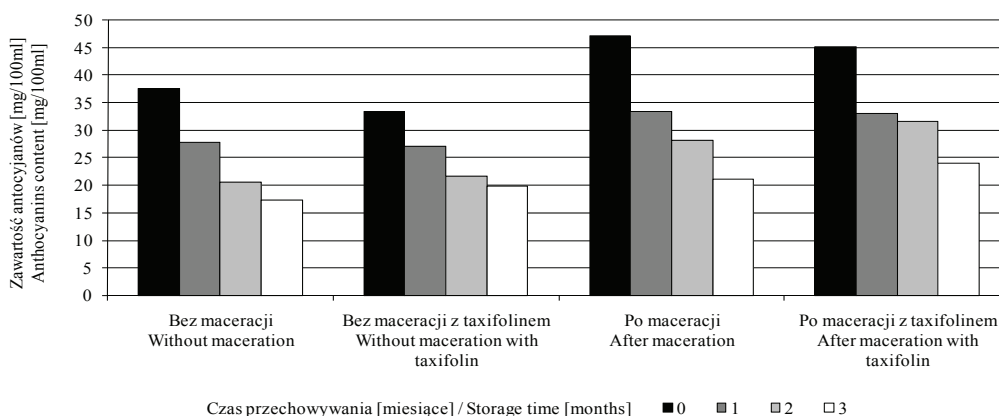
Chena, a ubytek rodników DPPH obliczano na podstawie krzywej wzorcowej względem troloxu [19].

Uzyskane wyniki poddano analizie wariancji. Istotność różnic określano za pomocą testu t-Tukey'a przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Uwzględniając analizę regresji oraz szybkość reakcji I rzędu wyliczano półokres rozpadu antocyjanów.

Wyniki i dyskusja

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki stanowią część eksperymentu nad możliwością ochrony substancji bioaktywnych w surowcach poprzez dodatek substancji pochodzenia roślinnego.

Jednoznacznie wykazano, że obróbka enzymatyczna miazgi nie tylko zwiększyła wydajność procesu, ale także znacząco podniosła wydobycie substancji biologicznie aktywnych z surowca. Stwierdzono statystycznie istotne różnice zawartości antocyjanów między sokami tłoczonymi z miazgi niemacerowanej a podawanej obróbce enzymatycznej (p -Value = 0,0012). W sokach uzyskanych bez maceracji miazgi w wariancie bez dodatków i przy wzbogacaniu soku w taxifolin początkowa zawartość antocyjanów wynosiła odpowiednio 37,6 oraz 33,4 mg/100ml (rys. 1).



Rys. 1. Zmiany zawartości antocyjanów w sokach z truskawek w trakcie ich przechowywania.

Fig. 1. Changes in the content of anthocyanins in strawberry juices during their storage.

Obróbka enzymatyczna miazgi przyczyniła się do wzrostu wydobycia antocyjanów z surowca do poziomu 47,1 mg/100 ml w soku kontrolnym i 45,2 mg/100 ml w soku z taxifolinem. Nieznacznie mniejsze zawartości antocyjanów w początkowych sokach wzbogacanych wynikają z zabiegów związanych z dozowaniem i mieszaniem z preparatem. Należy jednak zaznaczyć, że półokres rozpadu barwników antocyjanowych w sokach z taxifolinem był 1,5-krotnie niższy w porównaniu z sokami wzboga-

canyami (odpowiednio półokres rozpadu barwników antocyjanowych wyniósł 90 ± 1 dzień i 134 ± 2 dni) (tab. 1).

Tabela 1

Zawartość katechin, indeks degradacji antocyjanów oraz półokres ich rozpadu w sokach truskawkowych w trakcie ich przechowywania.

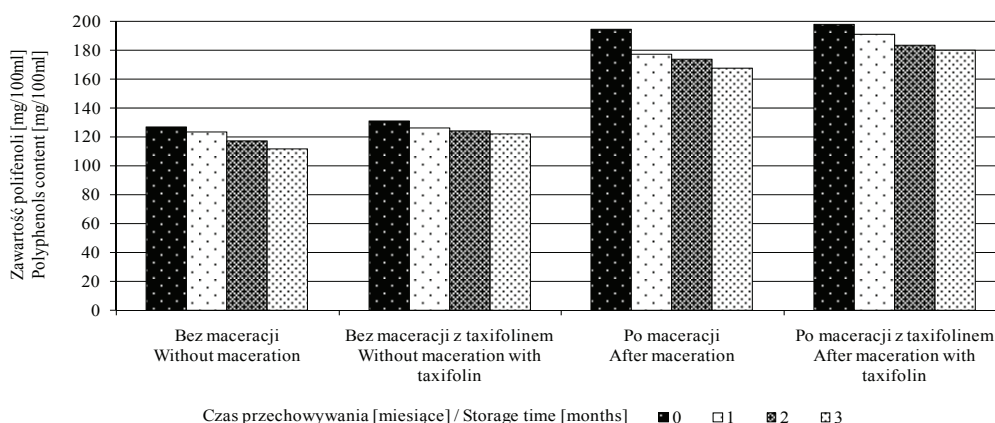
Content of catechins, index degradation of anthocyanins, and semi-period of their disintegration in strawberry juices during storage.

Rodzaj próbki Kind of sample	Parametry / Parameters	Czas przechowywania [miesiące] Storage times [months]			
		0	1	2	3
Bez maceracji Without maceration	Katechiny / Catechins [mg %]	12,2	7,4	5,9	4,8
	Indeks degradacji antocyjanów Degradation index of anthocyanins	1,14	1,20	1,24	1,28
	Półokres rozpadu antocyjanów [dni] Semi-period of the disintegration of anthocyanins [days]	89			
Bez maceracji z taxifolinem Without maceration with taxifolin	Katechiny / Catechin [mg %]	11,8	10,3	7,9	5,2
	Indeks degradacji antocyjanów Degradation index of anthocyanins	1,15	1,20	1,22	1,23
	Półokres rozpadu antocyjanów [dni] Semi-period of the disintegration of anthocyanins [days]	136			
Po maceracji After maceration	Katechiny / Catechin [mg %]	17,3	15,9	11,2	9,0
	Indeks degradacji antocyjanów Degradation index of anthocyanins	1,14	1,21	1,25	1,31
	Półokres rozpadu antocyjanów [dni] Semi-period of the disintegration of anthocyanins [days]	91			
Po maceracji z taxifolinem After maceration with taxifolin	Katechiny / Catechin [mg %]	17,9	16,5	15,0	12,3
	Indeks degradacji antocyjanów Degradation index of anthocyanins	1,16	1,24	1,25	1,27
	Półokres rozpadu antocyjanów [dni] Semi-period of the disintegration of anthocyanins [days]	132			

Wykazano, że proces przechowywania soków istotnie wpłynął na zmniejszenie zawartości antocyjanów wraz z wydłużaniem okresu składowania. Największe ubytki oraz zmiany degradacyjne badanych związków odnotowano po pierwszym miesiącu

składowania. Zależności te potwierdził także wzrost indeksu degradacji, szczególnie dynamiczny na początku przechowywania uzyskanego produktu. Po 4 miesiącach w badanych sokach pozostało jedynie od 17 % (sok bez obróbki enzymatycznej miazgi bez dodatków) do 24 % (sok po obróbce enzymatycznej miazgi z taxifolinem) wyjściowej zawartości antocyjanów. Ubytki barwników antocyjanowych w czasie są przede wszystkim spowodowane niską stabilnością dominujących w składzie truskawek pelargonidyn, które stanowiły 97 ± 1 % ogólnej ilości barwników w badanym produkcie. Jak podają Oszmiański i wsp. [10], wynika to bezpośrednio z budowy chemicznej (jedna grupa hydroksylowa w pierścieniu B) i wysokiej reaktywności tych związków.

Barwniki antocyjanowe stanowią jedną z grup związków polifenolowych, dlatego oznaczano również zawartość polifenoli ogółem (rys. 2) oraz katechin (tab. 1). Wyjściowe soki truskawkowe zawierały polifenole w ilości 126,8 (sok bez maceracji bez dodatków) 130,6 (sok bez maceracji z taxifolinem), 194,1 (sok po maceracji bez dodatków) i 197,4 mg/100 ml (sok po maceracji z taxifolinem).



Rys. 2. Zmiany zawartości polifenoli ogółem w sokach z truskawek w trakcie ich przechowywania.

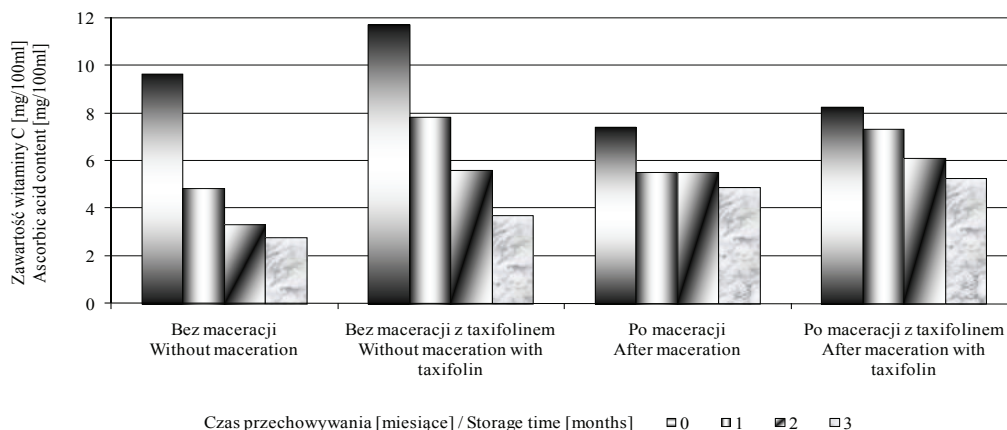
Fig. 2. Changes in contents of polyphenols in strawberry juices during storage.

Po 4-miesięcznym przechowywaniu soków w warunkach chłodniczych pozostało od 86 % (sok po maceracji bez dodatków) do 93 % (sok bez maceracji z taxifolinem) początkowej zawartości badanych związków. Podczas składowania soków zaobserwowano statystycznie istotne zmiany zawartości polifenoli (p -Value = 0,0005) i, analogicznie jak w przypadku polifenoli, najwyższą dynamikę ubytku ich ilości stwierdzono po pierwszym miesiącu. Próbkę soków uzyskanych z miazgi niepoddanej obróbce enzymatycznej stanowiły grupę homogenną. Produkty wytworzone w wariacie z maceracją miazgi bez i z dodatkiem przeciwutleniacza tworzyły dwie odrębne grupy

statystyczne, co potwierdza tezę, że większej zawartości polifenoli sprzyjała zarówno obróbka enzymatyczna miazgi, jak i dodatek taxifolinu. Pozytywny wpływ zastosowania preparatów enzymatycznych wykazali m.in. Szajdek i wsp. [16], a korzystny efekt wzbogacania soków w inne związki odnotowano zarówno w literaturze, jak i w licznych badaniach własnych prowadzonych w tym zakresie [9, 18]. We wcześniejszych pracach eksperymentalnych autor obserwował stosunkowo małe wahania całkowitej zawartości polifenoli, efekt ten stwierdzony był także przez innych badaczy [3]. Należy dodać, że powszechnie wykorzystywana przez eksperymentatorów metoda z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a, z uwagi na możliwość reagowania z witaminą C, białkami i innymi związkami, utrudnia precyzyjne określenie zmian związków polifenolowych [13].

W grupie badanych związków polifenolowych oznaczano również katechiny (tab. 1). Wykazano, że próbki soków tłoczonych z miazgi poddanej obróbce enzymatycznej statystycznie różniły się od próbek otrzymanych z miazgi niemacerowanej. W sokach wyjściowych bez obróbki miazgi oznaczono 12,2 i 11,8 mg/100 ml tych związków (wariant bez i z dodatkiem taxifolinu). Natomiast w sokach z miazgi traktowanej enzymem początkowa zawartość katechin wynosiła 17,3 oraz 17,9 mg/100 ml (wariant bez i z dodatkiem taxifolinu). Podczas przechowywania chłodniczego nastąpiło zmniejszenie zawartości katechin, a szczególnie istotne różnice w tym zakresie odnotowano w środkowym okresie przechowywania. Zawartość katechin jest szczególnie istotna z uwagi na fakt, że uważa się je za najsilniejsze zmiatacze rodników ponadtlenkowych wśród opisanych flawonoidów. Ponadto, jak podaje Steward [14], szacuje się że związki te w 40 ÷ 50 % kształtują właściwości przeciwutleniające truskawek. Pozostały wkład w potencjał przeciwutleniający wnoszą inne związki polifenolowe oraz witamina C. Jak podają Sembratowicz i Czech [12], kwas askorbinowy stanowi pierwszą linię obrony przed rodnikami występującymi w fazie wodnej, uzupełniając ochronę przed stresem oksydacyjnym w organizmie.

Zawartość witaminy C w otrzymanych sokach kształtowała się od 7,45 mg/100 ml w wariacie bez maceracji miazgi bez dodatków do 11,73 mg/100 ml w wariacie z dodatkiem taxifolinu (rys. 3). Soki otrzymane bez i z enzymatyczną obróbką miazgi zasadniczo różniły się od siebie pod względem badanej cechy, stanowiąc dwie odrębne grupy jednorodne. Wynika to m.in. z faktu, że polifenole w sokach wykazują stabilizujące działanie wobec kwasu askorbinowego [11].



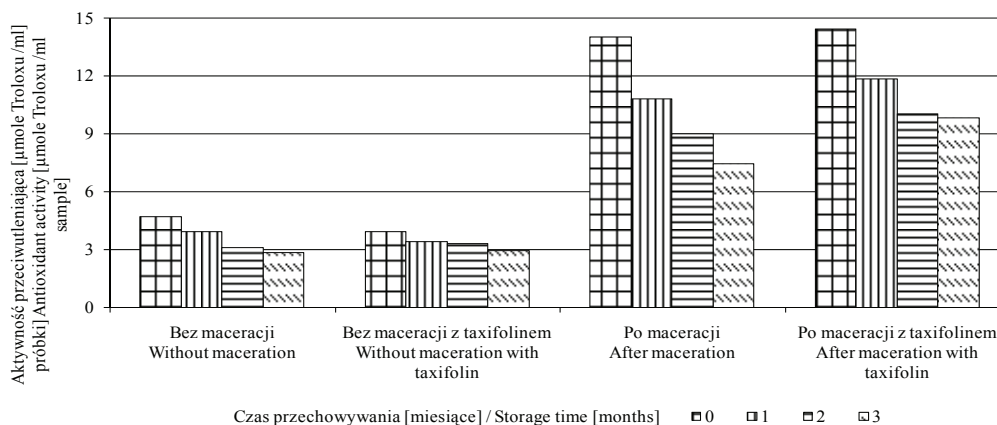
Rys. 3. Zmiany zawartości witaminy C w sokach z truskawek w trakcie ich przechowywania.
Fig. 3. Changes in contents of vitamin C in strawberry juices during storage.

Po 3 miesiącach przechowywania w sokach zostało odpowiednio około 30 i 60 % początkowej zawartości witaminy C. Wykazano, że przechowywanie powodowało zmniejszenie zawartości badanego składnika, przy czym najintensywniejsze zmiany odnotowano w pierwszym miesiącu. Zarówno sposób przygotowania miazgi, jak i czas przechowywania istotnie wpływały na zawartość witaminy C (p-Value = 0,0018).

Bezpośrednio po otrzymaniu aktywność przeciwutleniająca soków truskawkowych wynosiła 4,7 μ moli Troloxu/100 ml (sok bez maceracji, bez dodatków) 3,9 μ moli Troloxu/100 ml (sok bez maceracji, z taxifolinem), 14,0 μ moli Troloxu/100 ml (sok po maceracji, bez dodatków) i 14,4 μ moli Troloxu/100 ml (sok po maceracji, z taxifolinem) (rys. 3). Maceracja miazgi na skutek lepszego wydobycia składników istotnie zwiększyła aktywność wygaszania rodników DPPH. Soki te miały ponad 3-krotnie większy potencjał przeciwutleniający niż próbki uzyskane z miazgi niepoddanej obróbce enzymatycznej, co na analogicznym poziomie odnotowali również Szajdek i wsp [16]. W dużej mierze za aktywność przeciwutleniającą odpowiadają bowiem związki polifenolowe. Jednak ich właściwości przeciwutleniające wiążą się ściśle z budową chemiczną i zależą od liczby grup w pierścieniu fenolowym oraz ich połączenia z cukrami [6, 12, 14].

Przechowywanie soków wiązało się ze zmniejszeniem zawartości składników bioaktywnych i skutkowało istotnym obniżeniem aktywności przeciwutleniającej (p-Value = 0,0085). Analogicznie, jak w przypadku polifenoli, w tym antocyjanów oraz witaminy C, największe zmiany aktywności przeciwutleniającej zachodziły w czasie pierwszego miesiąca składowania, której wartości stanowiły statystycznie odrębną grupę homogenną. Przechowywane soki w porównaniu z próbkami kontrolnymi

mi zachowały swoje właściwości przeciwutleniające w 52,9 (sok bez maceracji z taxifolinem) do 74,4 % (sok po maceracji bez dodatków).



Rys. 3. Zmiany aktywności przeciwutleniającej w sokach z truskawek w trakcie ich przechowywania.

Fig. 3. Changes in antioxidant capacity in strawberry juices during storage.

Tabela 2

Parametry barwy soków z truskawek w systemie CIE L*a*b* w trakcie ich przechowywania.
Colour parameters of strawberry juices in the CIE LAB system during storage.

Czas przechowywania [miesiące] Storage time [months]	Parametry barwy / Colour parameters											
	Bez maceracji Without maceration			Bez maceracji z taxifolinem Without maceration with taxifolin			Po maceracji After maceration			Po maceracji z taxifolinem After maceration with taxifolin		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	36,32	63,97	62,43	36,49	64,00	62,75	28,26	60,15	48,50	26,98	59,48	46,48
1	36,04	62,54	61,78	35,69	62,11	60,96	26,67	57,72	45,93	26,78	58,10	42,68
2	34,86	61,06	59,57	35,57	61,49	60,89	23,51	54,63	40,18	24,78	56,38	40,14
3	34,40	60,27	58,84	35,14	61,12	60,11	23,19	53,91	35,78	22,13	52,13	36,52

Poziom zawartości i przemiany badanych związków pozostają nie bez znaczenia również na cechy sensoryczne, w tym barwę. Wykonano pomiary barwy soków w świetle przechodzącym metodą fotokolorymetryczną w systemie CIE L*a*b*. Uzyskane wyniki wykazały duże zróżnicowanie pomiędzy próbkami bez i z maceracją miążgi (tab. 2).

Obróbka enzymatyczna i zachodzące wraz z nią procesy spowodowały, że sok tłoczony z miazgi traktowanej preparatem enzymatycznym wykazywał mniejszą jasność. Nastąpiło zmniejszenie wartości parametrów a^* i b^* , co świadczy o obniżeniu w nim udziału barwy czerwonej oraz wzroście udziału barwy żółtej. Zmiany barwy wskazują na zachodzenie negatywnych procesów brązowienia produktu. Jednocześnie zauważono, że proces składowania skutkowało obniżeniem wartości wszystkich parametrów L^* , a^* , b^* , co świadczy o pogłębianiu się negatywnych zmian.

Wnioski

1. Soki wzbogacone w taxifolin, zadany w postaci preparatu Russlavitol TM, charakteryzowały się 1,5-krotnie dłuższym półokresem rozpadu antocyjanów w porównaniu z sokami wyjściowymi.
2. Sok po maceracji miazgi z taxifolinem, w porównaniu z pozostałymi, wykazywał największą zawartość polifenoli i katechin (194,1 mg/100 ml i 17,9 mg/100 ml).
3. Maceracja miazgi znacząco zwiększyła efektywność wydobycia substancji biologicznie czynnych z surowca.
4. Soki uzyskane z miazgi poddanej obróbce enzymatycznej statystycznie istotnie różniły się od soków tłoczonych z miazgi niemacerowanej w zakresie wszystkich badanych cech (zawartości polifenoli ogółem, w tym antocyjanów, katechin oraz zawartości witaminy C i aktywności przeciwutleniającej).
5. Soki z obróbką enzymatyczną miazgi wykazywały ponad 3-krotnie wyższy potencjał przeciwutleniający niż soki tłoczone z miazgi niemacerowanej.
6. Przechowywanie powodowało zmniejszenie zawartości składników bioaktywnych, a największe zmiany zachodziły w pierwszym miesiącu przechowywania.

Pracę zrealizowano w ramach projektu badawczego MNiSW Nr: N N312 2191 33. Była ona prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Fuleki T., Francis F.J.: Quantitative methods for anthocyanins. *J. Food Sci.*, 1968, **33**, 72.
- [2] 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.
- [3] Häkkinen S, Törrönen AR.: Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Res Int.*, 2000, **33 (6)**, 517-24.
- [4] Kusznierewicz B., Wolska L., Bartoszek A., Namieśnik J.: Charakterystyka polifenoli: występowanie, właściwości, przegląd metod analitycznych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, **1**, 81-92.
- [5] Macheix J.J., Fleuriet A., Billot J.: Fruit phenolics. CRC Press, 1990, pp. 41 – 43, 88, 117.

- [6] Mitek M., Gasik A.: Polifenole w żywności. Właściwości przeciwutleniające. *Przem. Spoż.*, 2007, **9**, 36-44.
- [7] Nawirska A, Sokół-Lętowska A., Kucharska A.: Właściwości przeciwutleniające wyłoków z wybranych owoców kolorowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **4 (53)**, 120-125.
- [8] Nosecka B., Mierwiński J., Smoleński T., Stępka G, Strojewska I., Szczepaniak I., Świetlik J.: Rynek owoców i warzyw. Stan i perspektywy. IERiGŻ, Warszawa, 2007, **31**, 8-16.
- [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., Wojdyło A., Matuszewski P.: Zmiany zawartości związków fenolowych podczas produkcji zagęszczonego soku truskawkowego w warunkach przemysłowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **1 (50)**, 94-104.
- [11] Rabovsky A., Cuomo J., Eich N.: Measurement of plasma antioxidant reserve after supplementation with various antioxidants in healthy subjects. *Clin. Chim. Acta*, 2006, **371**, 55-60.
- [12] Sembratowicz I., Czech A.: Naturalne przeciwutleniacze występujące w żywności. *Postępy Nauk Rolniczych*, 2005, **1**, 75-88.
- [13] Singh D., Srivastava B., Sahu A.: Spectrophotometric determination of ajmaline and brucine by Folin Ciocalteu's reagent, *J. Serb. Chem. Soc.*, 2003, **68**, 685-690.
- [14] Stewart D., Deighton N., Davies H. V.: Antioxidants in soft fruit. <http://www.scri.sari.ac.uk/Document/AnnReps/01Indiv/15Antiox.pdf>. *Plant Biochem. Cell Biol.*, 94-98.
- [15] Swain T., Hillis W.E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*, I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Food Sci. Technol.*, 1959, **10**, 63-67.
- [16] Szajdek A., Dąbrowska E, Borowska E.: Wpływ obróbki enzymatycznej miazgi owoców jagodowych na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą soku. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **4 (49)**, 59-67.
- [17] Walkowiak-Tomeczak D.: Wpływ procesu mrożenia na jakość restrukturyzowanych truskawek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **2 (51)**, 126-133.
- [18] Wojdyło A., Oszmiański J., Bober I.: The effect of addition of chokeberry, flowering quince fruits and rhubarb juice to strawberry jams on their polyphenol content, antioxidant activity and colour. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **227**, 1043-1051.
- [19] 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.

EFFECT OF PRODUCTION METHOD OF STRAWBERRY JUICES ON THE CONTENT OF ANTHOCYANINS AND COLOUR

Summary

The objective of the study was to determine quality changes in strawberry juices stored at 4 °C during a period of 1, 2, and 3 months. Four (4) juice variants were prepared: (1) without mash maceration; (2) without mash maceration and with the addition of taxifolin; (3) after mash maceration using a Panzym BE enzymatic preparation; and (4) after mash maceration using a Panzym BE enzymatic preparation with taxifolin.

In the juices studied, the contents of the following components were determined: total polyphenolic, anthocyanins, catechins, vitamin C; the antioxidant activity was also analysed. The juice after mash maceration and without any additions was characterized by the highest total content of anthocyanins (47.07

mg/100 ml); the juice after mash maceration and with the addition of taxifolin had the highest content level of vitamin C (11.73 mg/100 ml). Furthermore, this juice (after mash maceration and with taxifolin) had the highest content of polyphenols and catechin (194.1 mg/100 ml and 17.9 mg/100 ml, respectively). Among the juices studied, the highest antioxidant activity (14.4 $\mu\text{mol Troloxu/ml}$) was found in the juices after mash maceration and with taxifolin added.

While storing the juices analyzed for 3 months, it was also found that the contents of anthocyanins, catechins, vitamin C, and total polyphenols were reduced, and this fact had an effect of a lower antioxidant activity. The degradation rate of components and the decrease in the antioxidant properties were most intense during the first month of storing the juices.

Key words: strawberry, juices, polyphenols, antioxidant activity, taxifolin ☒

ANDRZEJ GASIK, MARTA MITEK, STANISŁAW KALISZ

**WPŁYW PROCESU MACERACJI ORAZ WARUNKÓW
PRZECHOWYWANIA NA AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ
I ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH SKŁADNIKÓW W SOKU
Z OWOCÓW DERENIA (*CORNUS MAS*)**

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian zawartości wybranych składników bioaktywnych oraz pojemności przeciwutleniającej podczas produkcji i przechowywania soków z owoców derenia. Stwierdzono, że wydłużenie czasu obróbki enzymatycznej miazgi z 15 min do 2 h spowodowało zmniejszenie w soku zawartości polifenoli ogółem o około 4 %, antocyjanów i witaminy C w granicach 12 %, a aktywności przeciwutleniającej (TEAC) o około 10 %. Podczas 4-miesięcznego okresu przechowywania soków obserwowano stopniowy ubytek zawartości wybranych składników bioaktywnych i zmniejszanie pojemności przeciwutleniającej. W odniesieniu do soków świeżych, po czterech miesiącach ich przechowywania w temp. 7 i 20 °C wykazano: straty witaminy C w sokach, odpowiednio o około 30 i 40 %; ubytek polifenoli ogółem, odpowiednio o około 15 i 20 %; ubytek antocyjanów, odpowiednio około 50 i 90 %; zmniejszenie aktywności przeciwutleniającej, odpowiednio o około 35 i 37 %.

Słowa kluczowe: dereń właściwy, polifenole, antocyjany, witamina C, pojemność przeciwutleniająca

Wprowadzenie

O prozdrowotnych właściwościach żywności w dużym stopniu decydują zawarte w niej przeciwutleniacze tj. witaminy, związki polifenolowe czy barwniki karotenoidowe. Niedobór bądź brak tych składników w diecie prowadzi do zaburzeń funkcjonowania organizmu, a nawet do rozwoju wielu chorób. Niestety, wiele procesów technologicznych przyczynia się do dużych strat substancji bioaktywnych, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia jakości żywieniowej i funkcjonalności produktów

końcowych. Obecnie dąży się do ciągłego udoskonalania stosowanych zabiegów technologicznych w kierunku większego zachowania cennych składników żywności.

Owoce derenia właściwego (*Cornus mas*) z uwagi na wysoką zawartość związków polifenolowych, w tym również antocyjanów oraz silne właściwości wygaszania aktywności wolnych rodników, mogą być wykorzystywane nie tylko do produkcji żywności o walorach prozdrowotnych, ale także jako dodatek podnoszący jakość żywnościową wielu produktów żywnościowych [9, 13].

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu obróbki enzymatycznej miazgi z owoców derenia na aktywność przeciwutleniającą i zawartość wybranych składników bioaktywnych z nią związanych tj. polifenoli ogółem, antocyjanów i witaminy C w sokach. Podjęto także próbę określenia wpływu przechowywania soków w różnych wartościach temperatury otoczenia na wymienione parametry.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiły soki z owoców derenia otrzymane w skali laboratoryjnej. Owoce derenia zostały zebrane na przełomie sierpnia i września 2006 r. w okolicach Puław. Owoce do badań przechowywano w temperaturze $-23\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Zamrożone owoce derenia podgrzewano do temp. około $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, a uzyskaną w ten sposób miazgę dzielono na dwie części, które następnie poddawano procesowi maceracji z zastosowaniem preparatu enzymatycznego Rohapect 10L (firmy AB Enzymes GmbH) o aktywności około 70000 AJDU/ml w dawce 0,5 g/kg owoców (temp. procesu około $45\text{ }^{\circ}\text{C}$). Stosowano różny czas maceracji: 15 min (minimalny czas depeptynizacji miazgi, umożliwiający wytłoczenie soku) oraz 2 (po tym czasie test alkoholowy nie wykazywał obecności pektyn). Po zakończeniu obróbki enzymatycznej miazgę poddawano procesowi tłoczenia w laboratoryjnej śrubowej prasie warstwowej, a uzyskany sok podgrzewano do temp. ok. $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ celem inaktywacji enzymów. Po schłodzeniu do około $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ sok filtrowano przez płytę filtracyjną K 7 i rozlewano do szklanych opakowań jednostkowych, które po zamknięciu pasteryzowano przez 20 min w temp. ok. $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Wyprodukowane w ten sposób soki przechowywano przez 4 miesiące w pomieszczeniach o kontrolowanej temperaturze; około ok. $7\text{ }^{\circ}\text{C}$ i $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Spośród wybranych składników biologicznie czynnych oznaczano:

- zawartość polifenoli ogółem (w przeliczeniu na kwas galusowy) metodą Folina-Ciocalteu'a w modyfikacji Gao i wsp. [2],
- zawartość witaminy C metodą spektrofotometryczną [8],
- zawartość antocyjanów metodą Fuleki i Francisa [1],
- właściwości przeciwutleniające soków z owoców derenia metodą polegającą na określaniu stopnia wygaszania wolnych rodników DPPH[•] przez zawarte w badanych próbkach, zgodnie z metodyką opracowaną przez Yen i Chen [14]. Aktyw-

ność przeciwrodnikową soków wyrażano jako TEAC (pojemność przeciwutleniająca w odniesieniu do Troloxu).

Otrzymane wyniki badań poddano analizie statystycznej obejmującej wyznaczenie współczynników korelacji pomiędzy zawartością składników bioaktywnych a pojemnością przeciwutleniającą soków z owoców derenia. Współczynniki korelacji wyznaczano w programie Statgraphics Plus 5.1., przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wyniki dotyczące wpływu procesu depektynizacji miazgi z owoców derenia oraz temperatury przechowywania soków na ich aktywność przeciwutleniającą, jak również na zawartość w nich takich składników biologicznie czynnych, jak: polifenole ogółem, antocyjany oraz witamina C przedstawiono w tab. 1, 2 i 3.

Tabela 1
Zawartość wybranych składników bioaktywnych oraz pojemność przeciwutleniająca soków z derenia.
Content of some selected bioactive components and the antioxidant capacity of the cornelian cherry juices.

Badana cecha Tested feature	Sok depektynizowany 15 min Enzyme-treated juice 15 min	Sok depektynizowany 2 h Enzyme-treated juice 2 h
Witamina C Vitamin C [mg/100 cm ³]	36,7	32,3
Polifenole ogółem Total polyphenols [mg/100 cm ³]	261,8	251,4
Antocyjany Anthocyanins [mg/100 cm ³]	54,0	46,8
Pojemność przeciwutleniająca Antioxidant capacity [μmol Troloxu/1 cm ³]	20,5	18,6

Wydłużenie czasu depektynizacji miazgi z 15 min do 2 h spowodowało zmniejszenie zawartości omawianych składników oraz obniżenie pojemności przeciwutleniającej soków (tab. 1). Najmniejsze różnice (około 4 %) pomiędzy badanymi sokami wystąpiły w przypadku zawartości polifenoli ogółem, natomiast największe pod względem zawartości antocyjanów (około 13 %) oraz witaminy C (około 12 %). Mniejsza zawartość badanych przeciwutleniaczy w soku otrzymanym z miazgi depektynizowanej przez 2 h mogła być spowodowana większym napowietrzeniem oraz wzmożonymi procesami enzymatycznego utleniania. Straty spowodowane działaniem

enzymów tkankowych były większe niż przyrost zawartości omawianych związków, wynikający z zastosowania enzymów macerujących, co może świadczyć o wysokiej aktywności enzymów rodzimych surowca. W wielu pracach wykazano, że straty polifenoli ogółem czy antocyjanów na etapie maceracji miazgi mogą dochodzić do 60 %. Autorzy przypisują to działaniu głównie polifenolooksydazie [4, 5, 10, 12].

Konsekwencją zmniejszenia zawartości składników bioaktywnych, takich jak: polifenole, antocyjany czy witamina C w soku otrzymanym z miazgi depektynizowanej przez 2 h, było obniżenie pojemności przeciwutleniającej o około 10 %.

Tabela 2

Zawartość wybranych składników biologicznie czynnych w sokach z owoców derenia oraz ich pojemność przeciwutleniająca podczas przechowywania przez 1 i 4 miesiące.

Content of the selected bioactive components in the cornelian cherry juice and their antioxidant capacity in during their one and four month storage.

Badana cecha Tested feature	Sok depektynizowany 15 min Enzyme-treated juice 15 min				Sok depektynizowany 2 h Enzyme-treated juice 2 h			
	1 miesiąc 1 month		4 miesiące 4 months		1 miesiąc 1 month		4 miesiące 4 months	
	7 °C	20 °C	7 °C	20 °C	7 °C	20 °C	7 °C	20 °C
Witamina C Vitamin C [mg/100 cm ³]	31,4	29,5	26,0	23,0	29,3	27,1	23,5	20,5
Polifenole ogółem Total polyphenols [mg/100 cm ³]	237,5	224,8	224,8	215,6	212,1	206,4	205,2	192,5
Antocyjany Anthocyanins [mg/100 cm ³]	46,6	16	26,4	5,9	32,8	13,0	22,5	3,7
Pojemność przeci- wutleniająca Antioxidant capacity [μmol Troloxu/1 cm ³]	14,6	14,2	12,9	12,4	14,5	13,3	12,6	12,3

Podczas 4-miesięcznego przechowywania soków z owoców derenia, zarówno w temp. 7, jak i 20 °C, następował stopniowy ubytek zawartości wybranych składników biologicznie czynnych, a także obniżanie się ich pojemności przeciwutleniającej (tab. 2). Wielkość tych strat uzależniona była od warunków magazynowania. Nie stwierdzono zdecydowanych różnic między otrzymanymi danymi a spotykanymi w literaturze, odnośnie wpływu temperatury przechowywania produktu na zachowanie

w nim składników bioaktywnych [3, 5, 7, 11]. W magazynowanych sokach straty witaminy C po miesiącu przechowywania w temp. 7 °C wynosiły około 15 %, a w temp. 20 °C około 20 %. Po czterech miesiącach przechowywania straty te wynosiły odpowiednio około 30 i 40 %.

W przypadku polifenoli ogółem straty tych związków po miesiącu przechowywania soków w temp. 7 °C wynosiły ok. 12 %, a w sokach magazynowanych w temp. 20 °C ok. 18 %. Po czterech miesiącach przechowywania straty polifenoli ogółem wynosiły ok. 15 % w sokach przechowywanych w temp. 7 °C i ok. 20 % w sokach przechowywanych w temp. 20 °C. Znacznie większe straty miały miejsce w przypadku antocyjanów. Po miesiącu przechowywania soków w temp. 7 °C straty antocyjanów wynosiły ok. 20 %, w sokach przechowywanych w temp. 20 °C ok. 70 %. Po czterech miesiącach przechowywania straty antocyjanów wynosiły odpowiednio 50 i 90 %.

Z przedstawionych danych wynika, że największe straty większości badanych składników miały miejsce w pierwszym miesiącu przechowywania soków. Powodem tego mogło być stopniowe obniżanie zawartości tlenu w środowisku, co prowadziło do spowolnienia tempa reakcji utleniania tych substancji pod koniec okresu przechowywania.

Stopniowe zmniejszanie pojemności przeciwutleniającej soków z owoców derenia podczas przechowywania było niejako konsekwencją zmniejszania się zawartości badanych przeciwutleniaczy w tych sokach. Może to dowodzić istnienia wysokiej korelacji pomiędzy pojemnością przeciwutleniającą soków a zawartością w nich antocyjanów, polifenoli ogółem oraz witaminy C (tab. 3).

Tabela 3

Współczynniki korelacji „r” między zawartością wybranych składników biologicznie czynnych a pojemnością przeciwutleniającą soków z owoców derenia.

Correlation coefficients: „r” between the content of the selected bioactive components and the antioxidant capacity of cornelian cherry juices.

Składniki bioaktywne Bioactive components	Współczynniki korelacji „r” Correlation coefficients: „r”
Polifenole / Polyphenols	0,98
Antocyjany / Anthocyanins	0,98
Witamina C / Vitamin C	0,93

Należy podkreślić, że temp. przechowywania soków nie wpływała tak różnicowanie na zmniejszenie ich aktywności przeciwutleniającej, jak to miało miejsce w przypadku strat badanych składników bioaktywnych. Po czterech miesiącach składowania pojemność przeciwutleniająca soków przechowywanych w temp. 7 °C

zmniejszyła się o około 35 %, a soków przechowywanych w temp. 20 °C o około 37 %. Spowodowane to może być tym, że nie tylko badane składniki bioaktywne decydują o aktywności przeciwutleniającej soków, ale również niektóre produkty ich degradacji mogą wykazywać pewną aktywność przeciwutleniającą [6, 15].

Wnioski

1. Stwierdzono negatywny wpływ wydłużenia czasu maceracji miazgi dereniowej zarówno na zawartość polifenoli, antocyjanów, witaminy C, jak i na pojemność przeciwutleniającą soku z owoców derenia.
2. Podczas magazynowania soków z owoców derenia obserwowano zmniejszanie zawartości badanych substancji, przy czym wielkość tych strat uwarunkowana była temperaturą składowania. Po 4 miesiącach przechowywania soków pozostało w nich średnio 10 – 50 % początkowej zawartości antocyjanów, 60 – 70 % wyjściowej zawartości witaminy C oraz 80 – 85 % polifenoli.
3. Stwierdzono wysoką korelację na poziomie 0,93 – 0,98, między zawartością polifenoli ogółem, antocyjanów i witaminy C a pojemnością przeciwutleniającą soków z owoców derenia.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura


- [1] Fuleki T., Francis F.: Quantitative methods for anthocyanins . 2. Determination of total anthocyanins and Degradation Index for cranberry juice. J. Food Sci. Technol., 1968, **33**, 78-83.
- [2] Gao X., Ohlander M., Jeppssen N., Björk L., Trajkovski V.: Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maceration. J. Agric. Food Chem., 2000, **48**, 1485-1490.
- [3] Kabasakalis V., Siopidou D., Moshatou E.: Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. Food Chem., 2000, **70**, 325-328.
- [4] Kader F., Rovel B., Girardin M., Matche M.: Mechanism of browning in fresh highbush blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L.). Role of blueberry polyphenol oxidase, chlorogenic acid and anthocyanins. J. Sci. Food Agric., 1997, **74**, 1, 31-34.
- [5] Lee J., Drust R., Wrolstad R.: Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics; comparison of two pre-treatments. J. Food Sci., 2002, **67**, 5, 1660-1667.
- [6] Manzocco L., Calligaris S., Mastrocola D., Nicoli M., Larici C.: Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. Trends Food Sci. Technol., 2001, **11**, 340-346.
- [7] Markowski J., Płocharski W.: Zmiany składu związków polifenolowych przy przerobieniu jabłek na soki i przeciera. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2006, **4**, 33-37.
- [8] PN-A-04019:1998. Oznaczenie zawartości witaminy C w produktach spożywczych.
- [9] Seeram N., Schutzki R., Chandra A., Nair M.: Characterization, quantification, and bioactivities of anthocyanins in *Cornus species*. Food Chem., 2002, **50**, 2519-2523.

- [10] Skrede G., Wrolstad R., Durst R.: Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). J. Food Sci., 2000, **2** (65), 357-364.
- [11] Sokół-Łętowska A., Kucharska A.: Zmiany barwy, zawartości polifenoli i właściwości przeciwnokowych soku z czarnej porzeczki podczas przechowywania. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2006, **1**, 24-26.
- [12] Ścibisz I., Mitek M., Serwinowska K.: Aktywność przeciwutleniająca soków i półkoncentratów otrzymanych z owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **3** (40) Supl., 196-203.
- [13] Vareed S., Reddy M., Schutzki R., Nair M.: Anthocyanins in *Cornus alternifolia*, *Cornus controversa*, *Cornus kousa* and *Cornus florida* fruits with health benefits. Life Sciences, 2006, **78**, 777-784.
- [14] 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.
- [15] Yilmaz Y., Toledo R.: Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products. Food Chem., 2005, **93**, 273-278.

**IMPACT OF THE MACERATION PROCESS AND STORAGE CONDITIONS
ON THE ANTIOXIDANT CAPACITY AND CONTENT OF SOME SELECTED
COMPONENTS IN THE CORNELIAN CHERRY JUICE**

S u m m a r y

The objective of this study was to assess changes in the content of some selected bioactive components and in the antioxidant capacity during the production process and storage of the cornelian cherry juice. The results showed that the time prolongation of the enzymatic treatment of pulp from 15 min to 2 h resulted in the decrease by about 4 % in the total polyphenol content in the juice, in the content of vitamin C by 12 % C, and in the antioxidant capacity (TEAC) by about 10 %. During the 4 month storage period, a gradual decrease in the content of the selected bioactive components was found, as well as the reduction of the antioxidant capacity. With regard to fresh juices, stored for 4 months at a temperature of 7 and 200 C, the losses of vitamin C were about 30 % and 40%, respectively; the losses of total polyphenols were 15 % and 20 %, respectively; the losses of anthocyanins were about 50 % and 90 %, respectively; and the reduction of the antioxidant capacity was about 35 % and 37 %.

Key words: cornelian cherry, polyphenols, anthocyanins, vitamin C, antioxidant capacity 

MAŁGORZATA PRZYBYT, JOANNA BIERNASIAK

ZASTOSOWANIE BIOSENSORÓW DO OZNACZANIA MLECZANÓW W OWOCOWYCH SOKACH KOMERCYJNYCH I KONCENTRATACH

Streszczenie

Celem projektu badawczego QUALI-JUICE finansowanego przez UE w ramach 6 Ramowego Programu Badań i Rozwoju Technologii (COLL-CT-2005-012461) jest rozwój systemu wczesnego ostrzegania o skażeniu mikrobiologicznym w europejskim przemyśle soków owocowych. Na potrzeby projektu wybrano cztery komercyjnie dostępne biosensory, tj. Senzytec 1 (Tectronic srl, Włochy), Biosen_C Line sport (EKF–diagnostic GmbH, Niemcy), LactatProfi 3000 (ABT GmbH, Niemcy) i Olga (Sensolytics, Niemcy). Celem badań własnych było oznaczanie stężenia L–mleczanów w komercyjnych sokach jabłkowych i koncentratkach za pomocą dwóch biosensorów, tj.: Biosen_C Line sport (EKF, Niemcy) i LactatProfi 3000 (ABT, Niemcy). Badaniom poddano dwanaście komercyjnych soków jabłkowych i dwanaście koncentratów dostarczonych przez firmę VINKON (Konin, Polska). Stężenia mleczanów mierzono przy użyciu biosensorów oraz za pomocą testów enzymatycznych Megazyme (Irlandia).

Stwierdzono, że testowane biosensory mogą być wykorzystywane do pomiaru stężenia L–mleczanów w sokach jabłkowych i koncentratkach, przy czym należy wprowadzić określone poprawki w instrukcji obsługi dołączonej przez ich producentów. Biosen_C Line sport charakteryzuje się wysoką odtwarzalnością i powtarzalnością wykonywanych pomiarów, ale jest typowym urządzeniem laboratoryjnym. Przy użyciu biosensora LactatProfi 3000 uzyskuje się mniejszą dokładność wykonywanych pomiarów, ale jest to urządzenie podręczne, które może być wykorzystywane na każdym etapie produkcji soków.

Słowa kluczowe: biosensory, bakterie fermentacji mlekowej

Wprowadzenie

Zgodnie z danymi opublikowanymi przez FAO [3] rocznie w Europie produkuje się ponad 50 mln t owoców. Największymi producentami owoców są Niemcy, Włochy i Francja, a ich roczna produkcja wynosi odpowiednio 9,8; 8,0; i 5,8 mln t. Ponadto istotne znaczenie w produkcji owoców mają również: Hiszpania (4,9 mln t), Polska (2,1 mln t), Rumunia (1,2 mln t) i Austria (1,0 mln t).

Dr inż. M. Przybyt, Instytut Podstaw Chemii Żywności, dr inż. J. Biernasiak, Instytut Chemicznej Technologii Żywności, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/9, 90 – 924 Łódź

W przybliżeniu 70 % tej rocznej produkcji przetwarzane jest m.in. na soki i koncentraty owocowe. Największymi producentami soków owocowych i warzywnych są Niemcy (42,5 %), Hiszpania (16,3 %), Włochy (14 %) i Francja (8,9 %). Produkcja soków owocowych jest bardzo ważną gałęzią gospodarki Unii Europejskiej obejmującą ponad 20000 przedsiębiorstw, przy czym 90 % z nich to małe i średnie firmy. Hiszpania i Włochy są największymi producentami soku pomarańczowego, a Niemcy i Polska soku jabłkowego. Ponadto Polska zaraz za Chinami (208 tys. t) jest drugim na świecie eksporterem soku jabłkowego (160 tys. t) [10].

Bakterie fermentacji mlekowej (LAB) stanowią grupę drobnoustrojów szeroko wykorzystywanych w przemyśle rolno-spożywczym do celów biotechnologicznych [7]. Z danych literaturowych wynika jednak, że mogą być również katalizatorami psucia żywności. Dla europejskich producentów soków owocowych czołowym problemem jest skażenie ich produktów przez bakterie kwasu mlekowego, powodujące niepożądane procesy fermentacyjne i przyczyniające się do olbrzymich strat finansowych dotkliwych dla firm [4]. Obecność LAB może być wykrywana bezpośrednio, tj. metodami mikrobiologicznymi i biologii molekularnej lub pośrednio, tj. przez pomiar stężenia kwasu mlekowego metodami chromatograficznymi i enzymatycznymi [2, 8]. Wymienione metody wymagają jednak wykwalifikowanego personelu, są drogie oraz czasochłonne i pracochłonne. Alternatywną metodą może być zastosowanie biosensorów do stworzenia systemu ostrzegania o skażeniach bakteriami kwasu mlekowego [6].

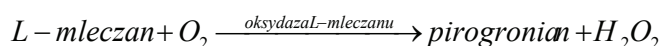
Celem projektu badawczego QUALI-JUICE finansowanego przez UE w ramach 6 Ramowego Programu Badań i Rozwoju Technologii (COLL-CT-2005-012461) jest rozwój systemu wczesnego ostrzegania o zakażeniu mikrobiologicznym dla europejskiego przemysłu soków owocowych. Na potrzeby projektu wybrano cztery komercyjnie dostępne biosensory, tj. Senzytec 1 (Tectronic srl, Włochy), Biosen_C Line sport (EKF-diagnostic GmbH, Niemcy), LactatProfi 3000 (ABT GmbH, Niemcy) i Olga (Sensolytics, Niemcy). W ramach projektu sprawdzono zdolność biosensorów do pomiaru stężenia mleczanów w sokach jabłkowych zarówno podczas ich produkcji, jak i w produktach końcowych.

Celem badań własnych było określenie stężenia L-mleczanów w komercyjnych sokach jabłkowych i koncentraty za pomocą dwóch biosensorów, tj.: Biosen_C Line sport (EKF, Niemcy) i LactatProfi 3000 (ABT, Niemcy). Wymienione biosensory są przeznaczone do badania stężenia L-mleczanów w ludzkiej krwi, a ich analityczne możliwości są dostosowane do tego rodzaju matrycy. Adaptowanie badanych biosensorów na potrzeby przemysłu soków owocowych wymagało zatem dokładnego ich przetestowania.

Material i metody badań

Badaniom poddano dwanaście komercyjnych soków jabłkowych i dwanaście koncentratów dostarczonych przez firmę VINKON (Konin, Polska). Koncentraty do pomiarów były rozcieńczone do 11,18°Brix, a następnie odwirowywane przy szybkości obrotowej 14 000 obr./min przez 15 min. Stężenia mleczanów mierzono przy użyciu dwóch biosensorów: BIOSEN_C Line sport (EKF, Niemcy) i LactatProfi 3000 (ABT, Niemcy) oraz w celu porównania za pomocą testów enzymatycznych Megazyme (Irlandia).

Testowane biosensory zawierają unieruchomioną (immobilizowaną) na powierzchni sensora oksydazę L-mleczanową. Zgodnie z reakcją L-mleczan w obecności tlenu zostaje przekształcony do pirogronianu i H_2O_2 . Wytworzony nadtlenek wodoru ulega redukcji na elektrodzie generując prąd, którego natężenie jest wprost proporcjonalne do stężenia L-mleczanu.



Próbki do oznaczeń enzymatycznych odbarwiano poliwinylpolipirolidonem (PVPP, Sigma). PVPP jest silnym adsorbentem często wykorzystywanym w przemyśle winiarskim i soków owocowych do usuwania polifenoli czy ciemnego zabarwienia z określonego produktu [1]. Do 1 ml próbki dodawano 100 mg PVPP, dokładnie mieszano i po upływie 5 min odwirowywano przy szybkości obrotowej 14 000 obr./min przez 15 min. Badanie stężenia mleczanów w tak przygotowanych próbach wykonywano zgodnie z instrukcją dołączoną do testów enzymatycznych. Absorbancję mierzono za pomocą spektrofotometru UV Nicolet Evolution 300 firmy, Thermo Electron Corporation (USA), przy długości fali 340 nm, stosując jednorazowe kuwety PMMA Plastibrand® (Sigma).

Oznaczanie stężenia mleczanów za pomocą biosensorów również wykonywano zgodnie z instrukcją dołączoną przez producenta wraz z niezbędnymi standardami i buforami. Wszystkie badania wykonywano w trzech powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Stężenie mleczanów we wszystkich badanych komercyjnych sokach jabłkowych nie przekraczało wartości dopuszczalnej przez Kodeks Praktyki AIJN (Stowarzyszenie Przemysłu Soków i Nektarów z Owoców i Warzyw Unii Europejskiej), tj. 0,5 g/l (tab. 1).

Wśród dwunastu badanych koncentratów tylko w trzech stężenie L-mleczanów było od 0,1 do 0,6 g/l wyższe w porównaniu z wymaganiami Kodeksu Praktyki AIJN (tab. 2).

Tabela 1

Stężenie L-mleczanów w komercyjnych sokach jabłkowych zmierzone za pomocą testów enzymatycznych i biosensorów.

L-lactate concentration in commercial apple juices as measured by enzyme kits and biosensors.

Stężenie L–mleczanów [g/l] / L–lactate concentration [g/l]		
Test enzymatyczny Enzyme kits	Biosen C_line sport	LactatProfi 3000
0,059 ± 0,026 ^a	0,111 ± 0,020 ^a	0,29 ± 0,01 ^a
0,035 ± 0,008	- ^b	- ^b
0,047 ± 0,009	0,035 ± 0,001	0,06 ± 0,01
0,092 ± 0,010	0,072 ± 0,002	0,10 ± 0,01
0,062 ± 0,001	0,057 ± 0,005	0,08 ± 0,01
0,128 ± 0,004	0,127 ± 0,001	0,17 ± 0,01
0,061 ± 0,021	0,092 ± 0,003	0,13 ± 0,01
0,018 ± 0,011 ^a	0,049 ± 0,003 ^a	0,14 ± 0,01 ^a
0,174 ± 0,036	0,254 ± 0,005	0,39 ± 0,01
0,092 ± 0,010 ^a	0,024 ± 0,002 ^a	0,06 ± 0,01 ^a
0,062 ± 0,001	0,016 ± 0,001	- ^b
0,128 ± 0,004 ^a	0,059 ± 0,001 ^a	0,20 ± 0,01 ^a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

^asok z dodatkiem witaminy C / juice with addition of vitamin C

^bstężenie niewykrywalne / undetectable concentration

Stwierdzono jednak, że stężenie L–mleczanów w większości badanych koncentratów, oznaczane za pomocą biosensorów, było mniejsze (Biosen_C Line sport) lub większe (LactatProfi 3000) w porównaniu z uzyskanymi w testach enzymatycznych (tab. 2). W przypadku komercyjnych soków jabłkowych istotne różnice odnotowano tylko w produktach z dodatkiem witaminy C (tab. 1). Z danych literaturowych wynika, że witamina C jest substancją utlenianą na elektrodzie o takim samym potencjale, co nadtlenek wodoru [5]. W badaniach własnych wykazano, że dodatek witaminy C (w postaci askorbinianu sodu) do soku jabłkowego wpłynął na znaczący wzrost stężenia L-mleczanów oznaczonych za pomocą testowanych biosensorów. Przy czym wskazania LactatProfi 3000 były istotnie wyższe w porównaniu z Biosen_C Line sport (rys. 3). Wynika to z faktu, że w pierwszym przypadku próbka do analizy nie była rozcieńczana, natomiast w drugim 20 µl próbki było rozcieńczane w 1 ml buforu.

Tabela 2

Stężenie L-mleczanów w koncentracie jabłkowym (11,18°Brix) zmierzone za pomocą testów enzymatycznych i biosensorów.

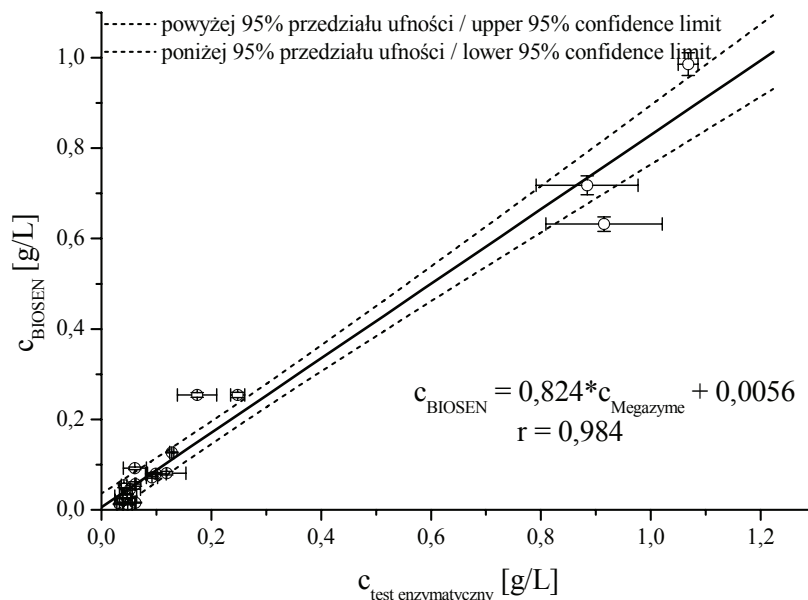
L-lactate concentration in apple juice concentrate (11.18°Brix) as measured by enzyme kits and biosensors.

Symbol koncentratu Sign of concentrate	Stężenie L-mleczanów [g/l] / L-lactate concentration [g/l]		
	Test enzymatyczny Enzyme kits	Biosen C_line sport	LactatProfi 3000
46/VII	0,052 ± 0,019	0,046 ± 0,002	0,08 ± 0,01
47/VII	0,099 ± 0,019	0,080 ± 0,002	0,11 ± 0,01
48/VII	0,119 ± 0,035	0,081 ± 0,004	0,14 ± 0,02
64/VII	0,248 ± 0,013	0,254 ± 0,006	0,39 ± 0,03
65/VII	0,884 ± 0,093	0,718 ± 0,021	0,83 ± 0,01
66/VII	0,915 ± 0,106	0,632 ± 0,016	0,73 ± 0,01
71/VII	0,044 ± 0,020	0,030 ± 0,003	0,17 ± 0,01
T 154	0,039 ± 0,015	0,021 ± 0,004	0,14 ± 0,02
T 156	0,041 ± 0,005	0,054 ± 0,005	0,10 ± 0,02
T 262	0,033 ± 0,005	0,013 ± 0,001	0,17 ± 0,01
T 348	0,048 ± 0,008	0,012 ± 0,001	0,13 ± 0,01
A1/FB/07	1,068 ± 0,018	0,986 ± 0,025	0,96 ± 0,04

Korelacja wyników otrzymanych dwoma metodami była odpowiednia (rys. 1 i 2).

Testowane biosensory scharakteryzowano także pod względem powtarzalności wykonywanych pomiarów, biorąc pod uwagę 15 kolejnych wyników. Do badań wykorzystano koncentrat 64/VII, w którym stężenie L-mleczanów oznaczone za pomocą Biosen_C Line sport i testów enzymatycznych było praktycznie takie samo. Dodatkowo wybrano dwa inne, tj. z niską (46/VII) i wysoką (65/VII) zawartością mleczanów (tab. 2).

Stężenia L-mleczanów oznaczone za pomocą Biosen_C Line sport wynosiły odpowiednio: 0,257 ± 0,015 g/l (RSD = 5,8 %); 0,054 ± 0,005 g/l (RSD = 9,3 %) i 0,716 ± 0,016 g/l (RSD = 2,2 %). Kalibrację aparatu wykonywano przed każdą serią 15 pomiarów. Stwierdzono, że przy każdym kolejnym pomiarze uzyskane wartości były nieznacznie wyższe, tj. początkowe stężenie L-mleczanów w koncentracie 64/VII równe 0,257 ± 0,015 g/l przy piętnastym pomiarze wzrosło do 0,271 ± 0,015 g/l.

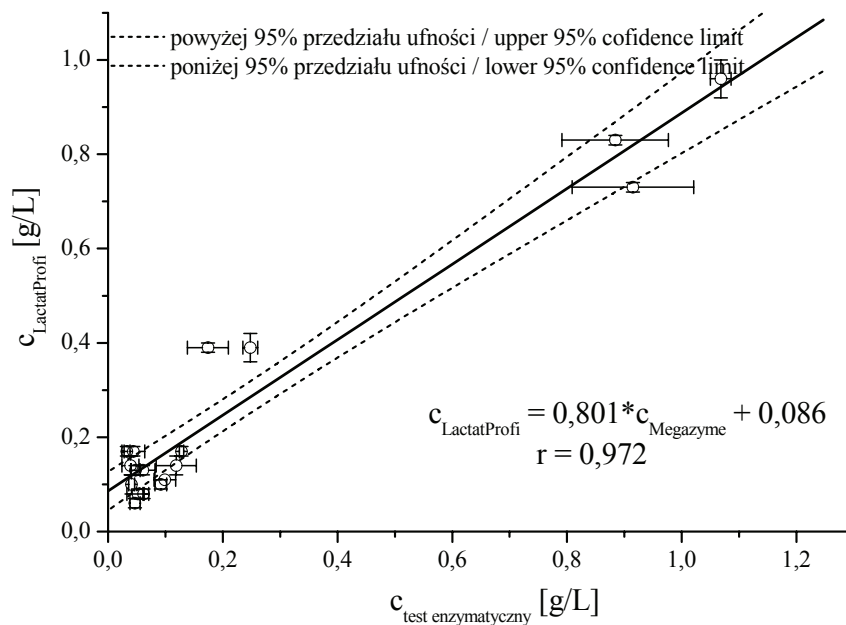


Rys. 1. Zależność pomiędzy stężeniem L-mleczanów oznaczonych w próbkach koncentratu jabłkowego za pomocą testów enzymatycznych Megazyme i biosensora Biosen_C Line sport.

Fig. 1. Correlation between the concentration rates of L-lactates in apple concentrate samples determined by Megazyme enzyme kits and BIOSEN_C line sport biosensor.

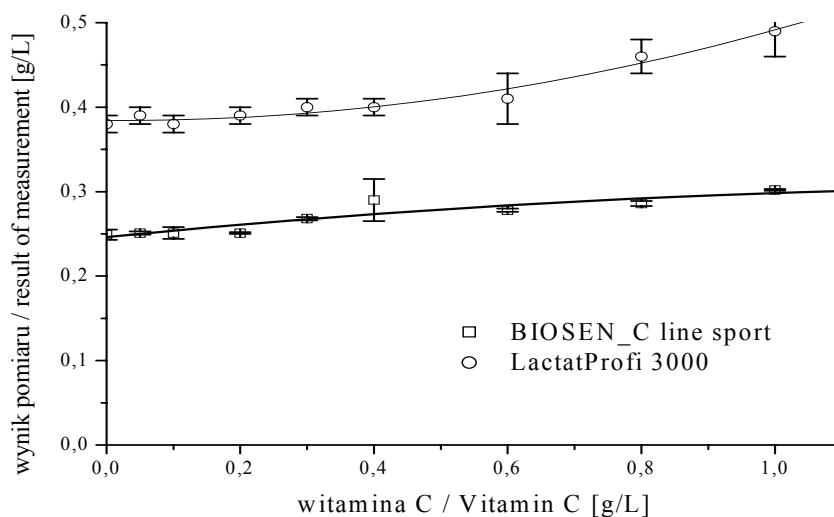
Stężenia L-mleczanów oznaczone za pomocą LactatProfi 3000 wynosiły odpowiednio: $0,33 \pm 0,01$ g/l (RSD = 3,0 %); $0,07 \pm 0,01$ g/l (RSD = 14,3 %) i $0,80 \pm 0,02$ g/l (RSD = 2,5 %). Zgodnie z zaleceniami producenta kalibrację aparatu należy wykonywać zaraz po zmianie sensora, tj.: po 1., 2. i 3. h pracy, a potem, co 8 h. Postępowanie zgodne z instrukcją spowodowało znaczne zmniejszenie stężenia L-mleczanów w kolejnych pomiarach, tj. początkowe stężenie L-mleczanów w koncentracie 64/VII równe $0,30$ g/l przy piętnastym pomiarze zmniejszyło się o połowę, natomiast w próbce 65/VII odpowiednio od $0,79$ do $0,09$ g/l. Stwierdzono zatem, że kalibrację aparatu należy wykonywać przed każdym pomiarem.

Zgodnie z informacją podaną przez producenta czas życia biosensora LactatProfi 3000 określany jest jako 15 dni lub 400 pomiarów. Stabilność sensora była testowana przez 15 dni w 10 kolejnych seriach pomiarowych. Wykazano, że uzyskane wartości były nieznacznie niższe, tj. na starcie stężenie L-mleczanów w koncentracie 64/VII wynosiło $0,36 \pm 0,01$ g/l, natomiast pod koniec doświadczenia zmniejszyło się jedynie do $0,32 \pm 0,02$ g/l. W porównaniu z LactatProfi 3000 czas życia biosensora Biosen_C



Rys. 2. Zależność pomiędzy stężeniem L-mleczanów oznaczonych w próbkach koncentratu jabłkowego za pomocą testów enzymatycznych i biosensora LactatProfi 3000.

Fig. 2. Correlation between the concentration rates of L-lactates in apple concentrate samples determined by enzyme kits and LactatProfi 3000 biosensor.



Rys. 3. Wpływ dodatku witaminy C (w postaci askorbinianu sodu) do soku jabłkowego na wskazania biosensurów.

Fig. 3. Impact of vitamin C (applied in the form of sodium L-ascorbate) added to apple juice on the biosensor responses.

Line sport wynosi 50 dni lub 6000 pomiarów. Test na stabilność sensora wykazał, że jedynie w ciągu pierwszych 10 dni wskazania sensora mogą nieistotnie wzrastać.

W ramach badań sprawdzono odtwarzalność pomiarów wykonywanych przez biosensory, tj. do próbki 64/VII o znanym stężeniu L-mleczanów dodano kwas mlekowy o różnym stężeniu i następnie za pomocą biosensorów określano jego końcowe stężenie. Stwierdzono, że wskazania Biosen_C Line sport bardzo dokładnie odwzorowywały stężenie dodanego kwasu mlekowego. W przypadku LactatProfi 3000 wskazania obarczone były dużym błędem w kierunku zawyżania rzeczywistego stężenia L-mleczanów (tab. 3).

Tabela 3

Test odtwarzalności w przypadku próby 64/VII.
Repeatability test for the sample No. 64/VII.

Dodany kwas mlekowy Lactic acid added [g/l]	LactatProfi 3000			Biosen_C Line sport		
	Wynik pomiaru Measurement result [g/l]	Kwas mlekowy oznaczany Lactic acid determined [g/l]	Błąd Error [%]	Wynik pomiaru Measurement Result [g/l]	Kwas mlekowy oznaczany Lactic acid determined [g/l]	Błąd Error [%]
0	0,30 ± 0,01	-	-	0,254 ± 0,008	-	-
0,1	0,43 ± 0,01	0,13	30	0,369 ± 0,012	0,115	15
0,2	0,58 ± 0,02	0,28	40	0,472 ± 0,020	0,218	9
0,4	0,80 ± 0,01	0,50	25	0,689 ± 0,034	0,435	8,8
0,6	1,07 ± 0,05	0,77	28,3	0,905 ± 0,035	0,651	8,5
0,8	1,24 ± 0,02	0,94	17,5	1,075 ± 0,025	0,821	2,6
1	1,46 ± 0,01	1,16	16	1,293 ± 0,032	1,039	3,9

Zgodnie z deklaracjami producentów granica wykrywalności L-mleczanów w przypadku biosensora Biosen_C line sport wynosi od 0,5 do 2,20 g/l, a LactatProfi 3000 od 0,5 do 3,60 g/l. Jeżeli zatem stężenie mleczanów w określonych próbach przekracza górną granicę, wówczas należy odpowiednio rozcieńczyć próbki. W przeciwnym razie można zastosować metodę wzorca wewnętrznego. W badaniach własnych zastosowano dwa standardy, tj. czysty kwas mlekowy lub w postaci soli litu, o stężeniu 0,5 g/l. Standardy przygotowywano w wodzie i 0,1 M buforze fosforanowym o pH = 7, a następnie dodawano do soku jabłkowego w stosunku 1:1. Stężenie L-mleczanów wskazane przez Biosen_C Line sport było zgodne z odnotowanym w testach enzymatycznych niezależnie od rodzaju zastosowanego standardu. W przypadku LactatProfi

3000 porównywalne wartości uzyskano tylko ze standardami przygotowanymi w buforze, w drugim przypadku wskazania były prawie dziesięciokrotnie wyższe.

Wnioski

1. Biosensory Biosen_C Line sport i LactatProfi 3000 mogą być wykorzystywane do pomiaru stężenia L-mleczanów w sokach jabłkowych i koncentratkach, przy czym należy wprowadzić określone poprawki w instrukcji obsługi dołączonej przez ich producenta,
2. Biosen_C Line sport charakteryzuje się wysoką odtwarzalnością i powtarzalnością wykonywanych pomiarów, ale jest typowym urządzeniem laboratoryjnym,
3. LactatProfi 3000 daje mniejszą dokładność wykonywanych pomiarów, tj. często zawyża rzeczywiste stężenie L-mleczanów, ale jest to urządzenie podręczne, które może być wykorzystywane na każdym etapie produkcji soków owocowych.

Badania wykonano w ramach projektu QUALI – JUICE finansowanego przez UE w ramach 6 Ramowego Programu dla Badań i Rozwoju Technologii (FPG) COLL-CT-2005-012461 oraz SPUB-246. Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Borneman Z., Gökmen V., Nijhuis H.H.: Selective removal of polyphenols and brown colour in apple juices using PES/PVP membranes in a single ultrafiltration process. *Sep. Purif. Tech.*, 2001, **22-23**, 53-61.
- [2] Czajkowska D.: Nowoczesne metody diagnostyczne w mikrobiologii żywności. *Mat. Konf. Nauk. „Bezpieczeństwo mikrobiologiczne w produkcji żywności” PTTŻ, Warszawa 1997*, 83-93.
- [3] FAO World markets for organic fruit and vegetables: opportunities for developing countries in the production and export of organic horticultural products, Rome, Italy, 2001.
- [4] Huis in't Veld J.H.J.: Microbiological and biochemical spoilage of foods: an overview. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **33/1**, 1-18.
- [5] Ledru S., Boujtita M.: Electrocatalytic oxidation of ascorbate by heme-Fe^{III}/heme-Fe^{II} redox couple of the HRP and its effect on the electrochemical behaviour of an-lactate biosensor. *Bioelectrochemistry*, 2004, **64**, 71-78.
- [6] Nikolaus N., Strehlitz B.: Amperometric lactate biosensors and their application in (sports) medicine, for life quality and wellbeing. *Microchimica Acta*, 2008, **160 (1-2)**, 15-55.
- [7] Oberman H.: Klasyfikacja bakterii mlekowych. W: *Bakterie fermentacji mlekowej. Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie – pod red. Z. Libudzisz, P. Walczaka i J. Bardowskiego. Wyd. PŁ, Łódź 1998*, 98-121.
- [8] Trifiro A., Saccani G., Gherardi S., Vicini E., Spotti E., Previdi M.P., Ndagijimana M., Cavallis S., Reschiotto C.: Use of ion chromatography for monitoring microbial spoilage in the fruit juice industry. *J Chromat.*, 1997, **770**, 243-252.
- [9] Wang K., Xu J.J., Chen H.Y.: Biocomposite of cobalt phthalocyanine as an eliminator of ascorbic acid interference. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2006, **114 (2)**, 1052-1058.


- [10] World apple juice situation: global apple juice production continues to set new record, trade to remain strong in market year 2004/2005. Horticultural and Tropical Products Division, 2005, 1-6.

APPLICATION OF BIOSENSORS TO L-LACTATE ASSAY IN COMMERCIAL JUICES AND CONCENTRATES

Summary

The objective of the QUALI-JUICE Collective Research Project financed by the European Union under the 6th Framework Programme for Research and Technological Development (FP6) (COLL-CT-2005-012461) is to develop an early warning system alerting to microbiological contamination for use in the European fruit juice industry. For the purpose of this Project, four commercially available biosensors were selected, i.e. Senzytec 1 (Tectronic srl., Italy), Biosen_C Line sport (EKF-Diagnostic GmbH, Germany), LactatProfi 3000 (ABT GmbH, Germany), and Olga (Sensolytics GmbH, Germany). The objective of the research conducted by the authors of this paper was to determine the concentration rate of L – lactates in the commercial apple juices and in concentrates using two biosensors: Biosen_C Line sport (EKF, Germany) and LactatProfi 3000 (ABT, Germany). Twelve commercial apple juices and twelve concentrations supplied by the VINKON company (Konin, Poland) were analysed. The concentration rates of L-lactates were measured using both the biosensors and Megazyme enzyme kits (Ireland).

It was found that the biosensors tested could be applied to measure the concentration rates of L-lactates in apple juices and concentrates provided that specific corrections be incorporated into the instruction manuals attached by their manufacturers. The Biosen_C Line sport biosensor is characterized by a high reproducibility and repeatability of measurements taken; however, it is a typical laboratory device. With the LactatProfi 3000 biosensor applied, the accuracy of measurements taken is lower, but this instrument is very practical and can be used at any stage of the fruit juice production.

Key words: biosensors, lactic acid fermentation bacteria 

KAROLINA LENTAS, DOROTA WITROWA-RAJCHERT

WPLYW WSTĘPNEGO NASYCANIA JONAMI WAPNIA NA WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI SUSZU JABŁKOWEGO

Streszczenie

Podczas procesów technologicznych ilość składników odżywczych w surowcach ulega zmniejszeniu, co zmusza technologów do opracowywania metody uzupełniania tych strat. Wzbogacanie żywności w substancje odżywcze dotyczy zarówno substancji naturalnie w niej występujących oraz składników naturalnie w niej nieobecnych. Nasycanie jest jedną z metod wzbogacania żywności w składniki odżywcze. Celem pracy było zbadanie możliwości modyfikacji właściwości teksturalnych suszu jabłka, poprzez wstępne nasycanie tkanki jonami wapnia. Nasycanie prowadzono pod atmosferycznym oraz obniżonym ciśnieniem, przy użyciu 1, 3 i 5 % roztworu mleczanu wapnia. Następnie materiał suszono konwekcyjnie do stałej masy w temperaturze 70 °C. Właściwości teksturalne określono na podstawie testu łamania próbek suszu jabłka oraz testu ściskania rehydrowanego materiału. Przeprowadzono również ocenę sensoryczną suszy, podczas której oceniano barwę, zapach, smak, twardość i ogólne wrażenia sensoryczne odbierane przy ocenie próbki, obejmujące wszystkie oceniane wyróżniki. Test łamania dowiódł, że nasycanie oraz zwiększenie zawartości wapnia w próbkach nie wpłynęło w istotny sposób na właściwości mechaniczne suszu. Na podstawie testu ściskania stwierdzono, że materiał nasycany pod zmniejszonym ciśnieniem, charakteryzujący się większą zawartością wapnia, wykazał większe wartości pracy ściskania. Obecność jonów wapnia w tkance spowodowała uzyskanie niższych ocen za zapach i smak i mimo wyższych ocen za barwę i twardość, susze nasycane pod obniżonym ciśnieniem uzyskały niższe oceny ogólne. Ocena sensoryczna nie potwierdziła pomiarów instrumentalnych tekstury, które nie wychwyciły istotnych zmian następujących w mierzonych parametrach.

Słowa kluczowe: nasycanie, suszenie, jabłko, test łamania, test ściskania, wapń

Wprowadzenie

Jednym z makroelementów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu jest wapń. Jest on podstawowym materiałem budulcowym struktury kości i szkliwa, prócz tego jest wykorzystywany do przenoszenia impulsów nerwowych, regulacji układu krzepnięcia, rytmu serca oraz wchłaniania witaminy B₁₂. Prawidłowy

Mgr inż. K. Lentas, prof. dr hab. D. Witrowa-Rajchert, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

poziom tego pierwiastka zmniejsza ryzyko występowania chorób serca, udarów, raka jelita grubego oraz kamieni nerkowych [6]. Jego niedobory mogą prowadzić między innymi do rozwoju chorób układu krążenia, nerwowego oraz kostnego. Według Flis i Konaszewskiej [4] oraz Śmigielskiej i wsp. [23] produkty roślinne mogą być źródłem wapnia, lecz jest on trudno przyswajalny. Do takich produktów pochodzenia roślinnego należą: suche nasiona roślin strączkowych, suszone owoce, natka pietruszki, kapusta, szpinak [5]. Koniecznością staje się uzupełnianie diety o brakujące lub występujące w niedostatecznej ilości witaminy, składniki mineralne, błonnik pokarmowy, nienasycone kwasy tłuszczowe i inne składniki [12, 13].

Podczas procesów technologicznych ilość składników odżywczych w surowcach ulega zmniejszeniu, co zmusza technologów do opracowywania metod uzupełniania tych strat. Wzbogacanie żywności w substancje odżywcze dotyczy zarówno substancji naturalnie w niej występujących, utraconych podczas obróbki termicznej, mechanicznej, bądź innej oraz składników naturalnie w niej niewystępujących, np.: batony czekoladowe z kwasami tłuszczowymi omega 3, obecnymi głównie w olejach rybich [2, 14, 20, 21]. Według źródeł literaturowych jony wapnia mogą wpływać na spójność, twardość oraz jędrność struktury tkanki owoców czy warzyw [9]. Właściwości te są związane z reakcjami, jakie zachodzą między jonami wapnia a protopektyną oraz pektynometyloesterazą, obecną w blaszce środkowej tkanek roślinnych [19]. Proces ten stabilizuje strukturę ścian komórkowych. Nasycanie surowców składnikami odżywczymi, m.in. wapniem, wpływa na poprawę tekstury i właściwości sensorycznych owoców i warzyw [11].

Tekstura jest bardzo ważną cechą żywności. Jest to zbiór właściwości, związanych z elementami struktury i ich wzajemnym uporządkowaniem oraz sposobem, w jaki są one odbierane i rejestrowane przez aparat zmysłowy człowieka [22]. Lewicki i Sitkiewicz [16] stwierdzili, że właściwości mechaniczne produktów suszonych zależą między innymi od zastosowanej obróbki wstępnej. Jedną z nich jest proces nasycania. Podstawowym celem nasycania, jako obróbki wstępnej przed innymi operacjami, jest wprowadzenie odpowiedniej ilości substancji aktywnej do produktu [15]. Nasycanie może być przeprowadzone pod ciśnieniem atmosferycznym, pod obniżonym ciśnieniem oraz przy zastosowaniu podwyższonego ciśnieniem.

Obecnie dąży się do rozszerzanie asortymentu produktów dostępnych na rynku. Suszenie jest jedną z najstarszych metod utrwalania żywności, ale produkty przetworzone w ten sposób muszą spełniać oczekiwania konsumentów, a jedną z najważniejszych cech jest podobieństwo do surowca nieprzetworzonego. Między innymi nasycanie, przed procesem suszenia, może prowadzić do otrzymania produktów suszonych o wyższej jakości.

Celem pracy było określenie możliwości modyfikacji właściwości teksturalnych suszu jabłka poprzez nasycenie tkanki jabłka jonami wapnia pod atmosferycznym i obniżonym ciśnieniem.

Material i metody badań

Surowcem do badań było jabłko odmiany Idared. Materiał myto, a następnie krojono w plastry o średnicy 3 cm i grubości 5 mm. Jabłka bezpośrednio po krojeniu zanurzano w 1 % roztworze kwasu cytrynowego, w celu zminimalizowania procesów brązowienia enzymatycznego, a następnie osuszano na bibule.

Nasywanie jabłka prowadzono dwoma metodami: pod atmosferycznym i obniżonym ciśnieniem. Nasywanie pod ciśnieniem atmosferycznym prowadzono zanurzając materiał badawczy w 1, 3 lub 5 % roztworze mleczanu wapnia przez 30 min, a następnie odsączano na sicie i osuszano na bibule. Nasywanie pod obniżonym ciśnieniem prowadzono w 1, 3 i 5 % roztworze mleczanu wapnia, przy ciśnieniu $0,4 \cdot 10^5$ Pa, które utrzymywano przez 10 min. Po tym czasie redukowano stopniowo podciśnienie przez doprowadzenie powietrza (około 10 min). Po nasyceniu próbki odsączano na sicie i osuszano na bibule.

Nasycone próbki układano na sicie laboratoryjnej suszarki konwekcyjnej o wymuszonym obiegu powietrza, w pojedynczej warstwie i suszono konwekcyjnie w temp. powietrza 70 °C przy prędkości przepływu powietrza 1,8 m/s. Proces suszenia prowadzono do uzyskania stałej masy. Poszczególne suszenia powtarzano 2-krotnie.

Właściwości mechaniczne oceniano na podstawie testu łamania suszonych plastrów i ściskania suszu po jego rehydracji. W celu przeprowadzenia testu łamania próbki wysuszone konwekcyjnie poddawano dosuszaniu próżniowemu przez 24 h w temp. 50 °C. Do przeprowadzenia testu użyto 10 plastrów każdego z suszy o zmierzonej grubości, które łamano za pomocą teksturometru Texture Analyzer TA-TX2 firmy Stable Micro Systems Ltd. Prędkość głowicy wynosiła 55 mm/min. Obliczanym parametrem było odkształcenie niszczące suszonych plastrów jabłka, które wyznaczano z zależności:

$$\varepsilon_n = \frac{6 \cdot t \cdot Y}{L^2}$$

gdzie:

ε_n – odkształcenie niszczące [-],

t – grubość próbki [mm],

Y – przesunięcie głowicy, przy którym materiał pęka [mm],

L – odległość między podporami [mm].

Testowi ściskania, w teksturometrze Texture Analyzer TA-TX2 firmy Stable Mikro Systems, poddawano plastry jabłka suszone konwekcyjnie, a następnie rehydrowane w wodzie destylowanej w temp. pokojowej przez 30 min. Po upływie tego czasu mierzono średnicę oraz grubość każdego plastra. Test prowadzono z prędkością przesuwu głowicy 0,3 mm/s do 20 % odkształcenia wysokości próbek. Obliczanym parametrem była praca ściskania rehydrowanych suszonych plastrów jabłka, którą obliczo-

no jako pole pod krzywą obrazującą zmiany siły w funkcji wymiaru próbki w przeliczeniu na 1 g suszu.

Ocenę sensoryczną przeprowadził 5-osobowy zespół, po 24 h od wyprodukowania suszy, na podstawie następujących wyróżników: barwa, zapach, zapach obcy, twardość, smak, smak słodki, smak obcy oraz ogólna ocena jakości suszu, stosując skalę ocen od 0 – 10 punktów [17].

Oznaczenie zawartości wapnia wykonano w Centrum Analitycznym SGGW.

Wyniki poddano analizie statystycznej, przy zastosowaniu jednoczynnikowej analizy wariancji w programie Statgraphics. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Studenta-Newmana-Keulsa, przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Doświadczenia przeprowadzono w dwóch powtórzeniach, natomiast testom wytrzymałościowym poddawano 10 próbek z każdego powtórzenia doświadczenia.

Wyniki i dyskusja

Zawartość suchej substancji w świeżym jabłku wynosiła $15,12 \pm 0,17$ %, natomiast po procesie nasycania poziom ten zmniejszył się do ok. 12,86 - 12,19 % w próbkach nasycanych pod ciśnieniem atmosferycznym oraz do ok. 11,52 - 11,25 % w materiale nasycanym pod obniżonym ciśnieniem. Nasycanie pod obniżonym ciśnieniem spowodowało więc statystycznie istotne zwiększenie zawartości wody w próbkach. Zawartość wapnia w roztworach nie wpłynęła znacząco na zmiany zawartości suchej substancji w nasycanych jabłkach.

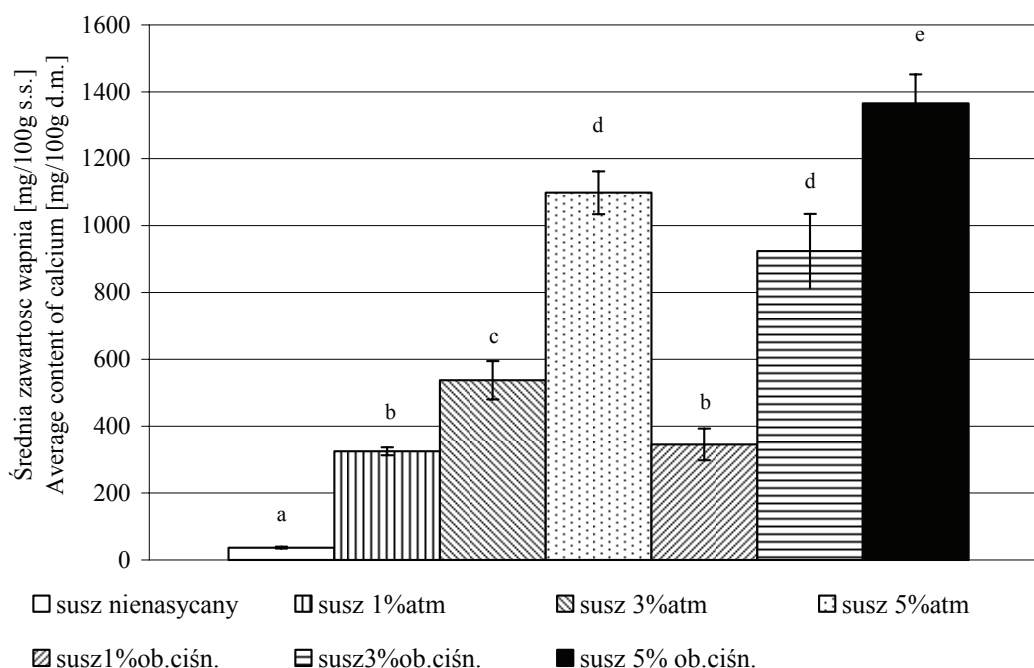
Zawartość suchej substancji w suszach wstępnie nasycanych pod ciśnieniem atmosferycznym uległa podwyższeniu w stosunku do zawartości suchej substancji w suszach nienasycanych roztworem mleczanu wapnia, z poziomu $90,23 \pm 0,18$ do 92,36 – 91,14 %. W suszach uzyskanych po nasycaniu próbek pod obniżonym ciśnieniem poziom zawartości suchej substancji zwiększyła się do 93,24 – 93,04 %. Wzrost ten mógł mieć związek z obecnością jonów wapnia w tkance jabłka. Nasycanie pod obniżonym ciśnieniem spowodowało statystycznie istotne zmiany zawartości suchej substancji w suszach. Można było również zaobserwować, że im więcej wody miała tkanka jabłka po nasyceniu, tym osiągnano większe zawartości suchej substancji po suszeniu.

Badając wpływ nasycania próbek jabłka na przebieg suszenia stwierdzono, że zwiększenie stężenia mleczanu wapnia w roztworze nasycającym z 1 do 5 % skróciło czas osiągnięcia u/u_0 (stosunek zawartości wody w suszu do zawartości wody w jabłku świeżym) równej 0,03 o 10 min. Tendencję tę obserwowano zarówno w próbkach nasycanych pod ciśnieniem atmosferycznym, jak i pod obniżonym ciśnieniem. Czas osiągnięcia $u/u_0 = 0,03$ jabłek nienasycanych wyniósł średnio 125 min, nasycanych pod ciśnieniem atmosferycznym 1 % roztworem - 116 min, 3 % roztworem 109 – min oraz 5 % roztworem - 105 min. W próbkach nasycanych pod obniżonym ciśnieniem czas

osiągnięcia poziomu $u/u_0 = 0,03$ wyniósł 112, 105 i 103,5 min, w przypadku materiału nasycanego odpowiednio w 1, 3 i 5 % roztworze mleczanu wapnia.

Analizując czas suszenia do osiągnięcia $u/u_0 = 0,03$ zauważono tendencję, że im więcej wody znajdowało się w jabłku na początku suszenia, tym krócej trwał proces suszenia. Jednocześnie skróceniu czasu suszenia sprzyjało większe stężenie mleczanu wapnia w roztworze. Jednak statystycznie istotnych różnic między czasem suszenia w poszczególnych doświadczeniach nie stwierdzono.

Wysuszone próbki jabłka nienasyconego charakteryzowały się zawartością wapnia wynoszącą 37 ± 3 mg/100 g ss. (rys. 1). W jabłku suszonym po wstępnym nasycaniu zdecydowanie zwiększyła się zawartość wapnia, a im wyższe stężenie roztworu zastosowano, tym więcej jonów wapnia wnikało do tkanki jabłka. Nasycanie pod obniżonym ciśnieniem spowodowało większe przyrosty zawartości wapnia, aniżeli nasycanie pod ciśnieniem atmosferycznym. Jedynie gdy nasycanie prowadzono w 1 % roztworze wartości te były porównywalne.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

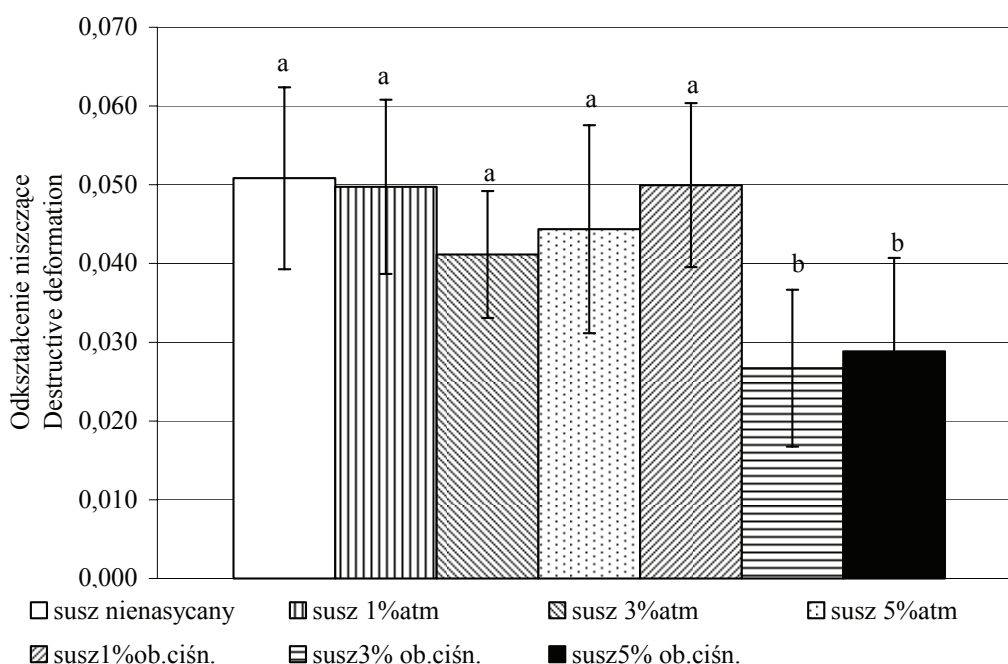
atm – nasycanie pod ciśnieniem atmosferycznym / infusion at an atmospheric pressure; ob. ciśn. – nasycanie pod obniżonym ciśnieniem / infusion at a decreased pressure.

Rys. 1. Średnia zawartość wapnia w suszu jabłkowym.

Fig. 1. Average content of calcium in dried apples.

Tak wysokie zawartości wapnia po nasycaniu świadczą o tym, że tkanka jabłka, charakteryzująca się dużą porowatością, jest bardzo dobrym materiałem do wprowadzania do jej wnętrza różnych związków czy substancji, dzięki którym można osiągnąć określone właściwości funkcjonalne produktu.

Duża zawartość wapnia nie wpływała na właściwości mechaniczne materiału. Nie obserwowano znaczących zmian wartości odkształcenia niszczącego w poszczególnych próbkach (rys. 2). Analiza wariancji dowiodła, że jedynie próbki nasycane pod obniżonym ciśnieniem w 3 i 5 % roztworze mleczanu wapnia mają inne właściwości, objawiające się istotnie mniejszymi wartościami odkształcenia niszczącego.



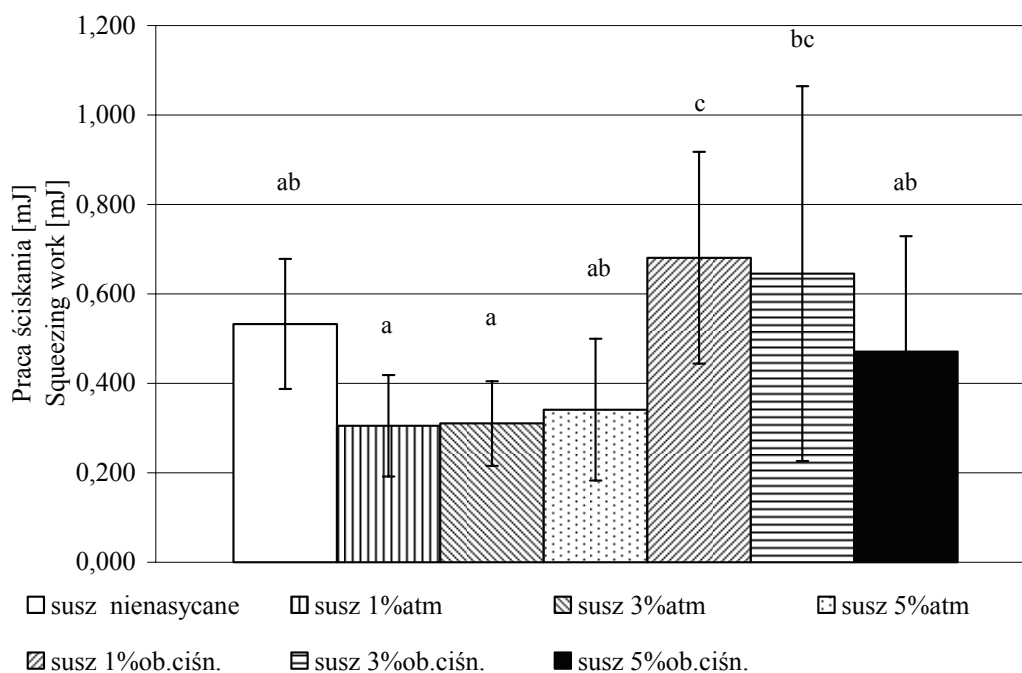
Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 2. Odkształcenie niszczące suszu jabłkowego

Fig. 2. Destructive deformation of dried apples

Według danych literaturowych wprowadzenie jonów wapnia w strukturę świeżej tkanki wpływa na wzrost jędrności i sztywności tkanki roślinnej. Jony wapnia wchodzi w połączenia z materiałem pektynowym blaszki środkowej, będącej czynnikiem spajającym komórki [1, 7, 8, 18]. Dodatek soli wapnia do tkanki roślinnej wpływa na stabilizację struktur ścian komórkowych [3]. Otrzymane w niniejszych badaniach wyniki są zaskakujące, gdyż spodziewano się, na podstawie analizy literatury, że wraz ze zwiększoną zawartością wapnia nastąpi wzmocnienie tekstury suszu, powstanie żelu z pek-

tyń przy udziale jonów wapnia również powodować będzie usztywnienie struktury [21]. Jednak w większości dane dotyczące wpływu wapnia na teksturę dotyczą surowej tkanki roślinnej. Być może nieobecność wody w suszach spowodowała, że instrumentalny pomiar właściwości mechanicznych nie wykazał różnic tekstury. Z drugiej strony, brak istotnych zmian właściwości suszonych jabłek, mimo wprowadzenia dodatkowej substancji, może świadczyć o możliwości stosowania nasycania jako metody wzbogacania żywności.



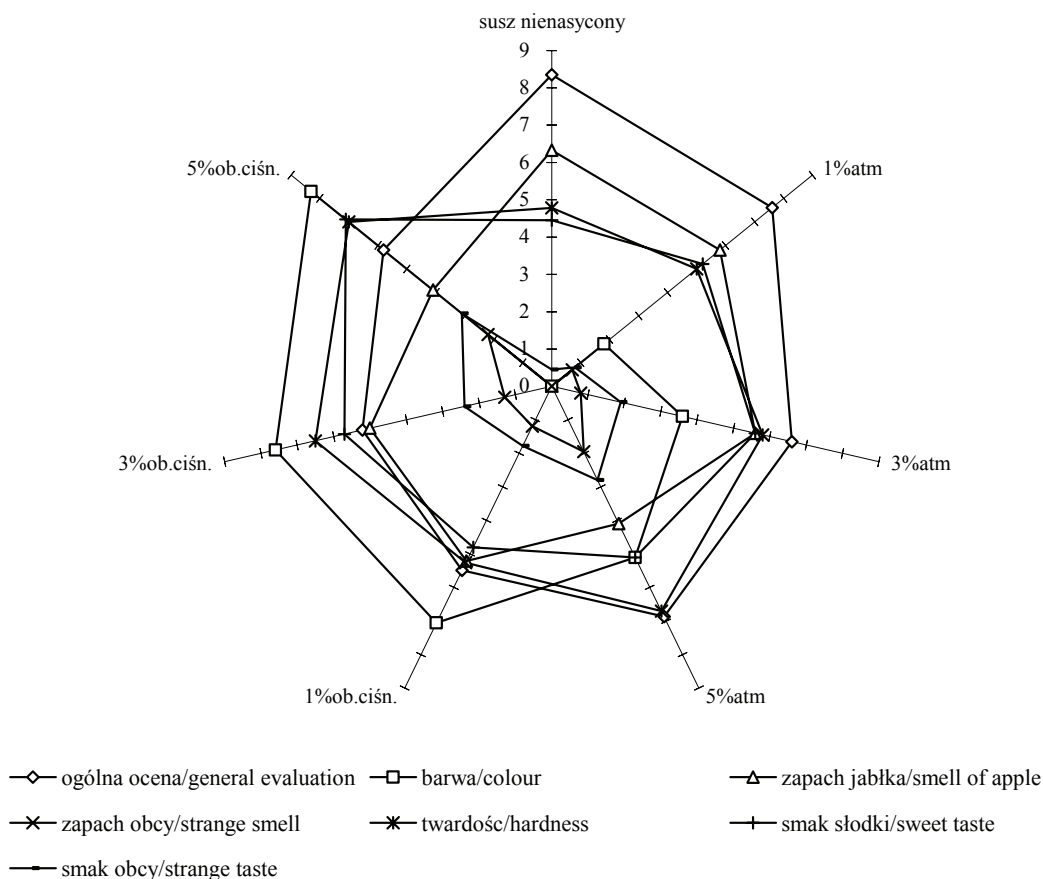
Objaśnienia, jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 3. Praca ściskania rehydrowanego suszu jabłkowego.

Fig. 3. Squeezing work of rehydrated dried apples.

Częściowym potwierdzeniem przypuszczenia o udziale wody we wzmacnianiu tekstury przez jony wapnia są wyniki pracy ściskania materiału po jego rehydracji. Praca potrzebna do ściśnięcia plastrów jabłka po uwodnieniu była zróżnicowana (rys. 3). Jej wartość oscylowała w granicach 0,34 - 0,70 mJ, przyjmując istotnie większe wartości w przypadku jabłek nasycanych pod obniżonym ciśnieniem. Może to wynikać z większej zawartości wapnia w jabłkach nasycanych w tych warunkach. Wydaje się natomiast, że nie zależy od przebiegu rehydracji. Względny przyrost masy podczas uwadniania próbek różnił się nieznacznie. W suszu nienasyconym względny przyrost masy wyniósł 2,4, natomiast po nasycaniu pod ciśnieniem atmosferycznym wyniósł

2,16; 2,13 i 2,07 odpowiednio w próbach uwadnianego suszu nasycanego w 1, 3 i 5 % roztworze mleczanu wapnia. W próbkach nasycanych pod obniżonym ciśnieniem względny przyrost masy wyniósł 2,28; 2,35 i 2,44 odpowiednio w próbkach nasycanych w 1, 3 i 5 % roztworze nasycającym. Pomędzy wartościami względnego przyrostu masy nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic.



Objaśnienia, jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 4. Ocena sensoryczna suszonych jabłek.

Fig. 4. Sensory assessment of dried apples

Ocena sensoryczna suszu nie potwierdziła pomiarów instrumentalnych twardości, które nie wychwyciły istotnych zmian następujących w mierzonych parametrach pod wpływem obecności wapnia w tkance suszonego jabłka. Oceniający stwierdzili natomiast, że susze zawierające wapń były zdecydowanie twardsze (rys. 4). Susz nienasy-

cony otrzymał ocenę twardości wynoszącą 4,8 pkt. Natomiast próbki nasycane pod ciśnieniem atmosferycznym 5; 5,8 i 6,7 pkt, a nasycane pod obniżonym ciśnieniem 5,3; 6,5 i 7pkt, gdy stosowano roztwory odpowiednio 1, 3 i 5 %.

Interesujące są wyniki oceny barwy. Oceniający najniżej ocenili próbki nienasycone, których barwa po suszeniu pociemniała, mimo wstępnego moczenia w roztworze kwasu cytrynowego. Natomiast wraz ze wzrostem zawartości wapnia oceny barwy były wyższe, w przypadku obu stosowanych metod. Próbki jabłka nasycane pod obniżonym ciśnieniem uzyskały najwyższe oceny.

W ocenie ogólnej najwyższe noty osiągnęły susze jabłek nienasyconych oraz nasycanych pod ciśnieniem atmosferycznym. Obecność jonów wapnia w tkance spowodowała uzyskanie niższych ocen za zapach i smak, i mimo wyższych ocen za barwę i twardość, susze nasycane pod obniżonym ciśnieniem otrzymały niższe oceny ogólne. Wynosiły one 7,6; 6,6 i 6,8 pkt – susz nasycany pod ciśnieniem atmosferycznym – i 5,5; 5,2 i 5,8 pkt – próbki przetrzymywane pod obniżonym ciśnieniem w roztworze, odpowiednio 1, 3 i 5 %. Susz, którego nie poddano obróbce wstępnej osiągnął oceną ogólną równą 8,4 pkt. Podobne wyniki uzyskano podczas oceny sensorycznej odwadnianej osmotycznie marchwi z dodatkiem jonów wapnia – niżej oceniono smak marchwi nasycanej jonami wapnia w porównaniu z marchwią odwadnianą osmotycznie bez nasączania wapniem [10].

Wnioski

1. Nasycanie pod obniżonym ciśnieniem wpłynęło w znacznym stopniu na wzrost zawartości jonów wapnia w suszu jabłka. Metoda ta jest efektywniejsza niż nasycanie pod ciśnieniem atmosferycznym. Może być wykorzystywana do modyfikowania właściwości funkcjonalnych produktów spożywczych.
2. Zawartość jonów wapnia w suszach zależała również od stężenia roztworu zastosowanego do nasycania. Im było ono większe, tym więcej wapnia wnikało do tkanki, niezależnie od metody nasycania.
3. Analiza właściwości teksturalnych suszy, badanych podczas testu łamania, nie wykazała znaczącego wpływu jonów wapnia na zmiany tych właściwości. Praca ściskania rehydrowanych plastrów była istotnie większa w przypadku materiału nasycanego pod obniżonym ciśnieniem, aniżeli pozostałych próbek. Nie stwierdzono natomiast różnic tego parametru w próbkach nienasyconych i nasycanych pod ciśnieniem atmosferycznym.
4. Obecność jonów wapnia w tkance spowodowała uzyskanie niższych ocen za zapach i smak i mimo wyższych ocen za barwę i twardość, susze nasycane pod obniżonym ciśnieniem uzyskały niższe oceny ogólne. Ocena sensoryczna nie potwierdziła pomiarów instrumentalnych tekstury, które nie wychwyciły istotnych zmian następujących w mierzonych parametrach.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Ahmed E.M., Mirza S., Arreola A.G.: Ultrastructural and textural changes in processed carrot tissue. *J. Food Quality* 1991, **14**, 321-330.
- [2] Cygan P., Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F.: Żywność funkcjonalna Przyszłość, perspektywy, trendy. *Przem. Spoż.* 2003, **3**, 12-15 i 46.
- [3] Demarty M., Morvan C., Thellier M.: Calcium and the cell wall. *Plant, Cell Envir.*, 1984, **7**, 441-448.
- [4] Flis K., Konaszewska W.: *Zasady żywienia*. WSiP, Warszawa 1976.
- [5] Gaman P. M., Sherrington K.B.: *The science of food in introduction to food science nutrition and microbiology*. Pergamon Press, Oxford 1978.
- [6] Gawęcki J., Hryniewiecki L.: *Żywnienie człowieka. Podstawy nauki o żywieniu*. PWN, Warszawa 1998.
- [7] Glen G., Poovaiah B.W.: Calcium-mediated post-harvest changes in texture and wall composition in Golden Delicious apples. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1990, **115** (6), 962-968.
- [8] Izumi H., Watada A.E.: Calcium treatments affect storage quality of shredded carrots. *J. Food Sci.*, 1994, **59** (1), 106-109.
- [9] Izumi H., Watada A.E.: Calcium treatment to maintain quality of zucchini squash slices. *J. Food. Sci.* 1995, **60**, 789-793.
- [10] Kowalska H., Wyrozębska M.: Wpływ jonów wapnia na właściwości sensoryczne marchwi odwadnianej osmotycznie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1(46) Supl.**, 44 – 51.
- [11] Kowalska H.: Nasycanie marchwi chlorkiem wapnia w czasie odwadniania osmotycznego. *Inż. Roln.* 2006, **3**, 135-142.
- [12] Kowalska H.: Wpływ witaminy C na przebieg odwadniania osmotycznego jabłek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4** (45), Supl., 109-119.
- [13] Kowalska H., Lenart A.: Znaczenie wymiany masy w tworzeniu żywności nowej generacji. *Post. Techn. Przetwórstwa. Spoż.*, 2003, **2**, 12-17.
- [14] Krygier K.: Żywność funkcjonalna – żywność XXI wieku. *Przem. Spoż.*, 2002, **4**, 2 - 4 i 26.
- [15] Kuntz L.A.: *Flavoring Confections. Food Product Design. Applications*, 1995.
- [16] Lewicki P.P., Sitkiewicz, I.: Wpływ obróbki wstępnej przed suszeniem konwekcyjnym na właściwości reologiczne suszonej cebuli. *Zesz. Prob. Post. Nauk Roln.*, 1998, **454**, 447-454.
- [17] Lentas K.: Wpływ wstępnego nasycania wapniem tkanki roślinnej na teksturę, właściwości rekonstrukcyjne oraz oceną sensoryczną suszu. *Praca magisterska*, SGGW, Warszawa 2007.
- [18] Moledina K.H., Haydar M., Ooraikul B., Hadziyev D.: Pectin changes in the pre-cooking step of Rehydrated mashed potato production. *J. Sci. Food Agric.*, 1982, **32**, 1091-1102.
- [19] Nissreen A., Crowely H.: The effect of low temperature blanching on the texture of whole processed new potatoes. *J. Food Eng.*, 2005, **74**, 335-344.
- [20] Praca zbiorowa: *Żywność wygodna i funkcjonalna – pod red. F. Świdorskiego*. WNT, Warszawa 2003.
- [21] Pijanowski E., Dłużewski M., Dłużewska A., Jarczyk A.: *Ogólna technologia żywności*. WNT, Warszawa 2004.
- [22] Sherman P.: *Industrial Rheology*. Acad. Press, London 1970, pp. 14-20.
- [23] Śmigielska H., Lewandowicz G., Gawęcki J.: Biopierwiastki w żywności. *Przem. Spoż.*, 2005, **7**, 28-32.

EFFECT OF INITIAL INFUSION WITH CALCIUM IONS ON SOME SELECTED PROPERTIES OF DRIED APPLES

Summary

During technological processes, the quantity of nutrients in raw materials decreases, thus, technologists are forced to develop a method to adjust those losses. Enriching food with nutrients refers both to the substances naturally occurring in it and to the components naturally absent in it. Infusion is one of the methods of enriching food with nutrients. The objective of the study was to research into the possibility of modifying textural properties of dried apple fruits using initial tissue infusion with calcium ions. The infusion process was carried out at an atmospheric and a decreased pressure, using a 1, 3, and 5 % solution of calcium lactate. Then, the material was convectively dried to get a constant mass at a temperature of 70°C. Textural properties were determined based on a braking test of dried apples and a squeezing test of rehydrated material. The dried apples were sensory analyzed; the analysis comprised the assessment of colour, smell, taste, hardness, and general sensory impressions received whilst assessing all the above indicated parameters of the samples. The braking test proved that the infusion and the increased content of calcium in the samples did not significantly impact the mechanical properties of the dried material. Based on the squeezing test, it was found that the material infused at a decreased pressure with a higher content of calcium showed a higher value of squeezing work. The presence of calcium ions in the tissue caused the smell and taste to be lower rated, and, although the colour and hardness were higher rated, the general rating of the dried materials infused at a reduced pressure was lower. The sensory evaluation did not confirm the texture measurements taken using measuring instruments, which did not detect significant changes occurring in the parameters measured.

Key words: infusion, drying, apple, braking test, squeezing test, calcium ☒

DOROTA ZARĘBA

PRZEŻYWALNOŚĆ PROBIOTYCZNEGO SZCZEPU *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* W MLEKU NIEFERMENTOWANYM I FERMENTOWANYM

Streszczenie

Funkcjonalna żywność probiotyczna powinna zawierać żywe komórki bakterii probiotycznych. Ważna jest też ich liczebność. W wytycznych FAO/ WHO, dotyczących przeżywalności bakterii probiotycznych w produktach spożywczych, w tym szczepów *Lb. acidophilus*, zdefiniowano minimum terapeutyczne (liczbę żywych komórek bakterii mlekowych) na poziomie 10^6 jtk/cm³ produktu. Jak wynika z wielu badań, kryterium minimum terapeutycznego nie zawsze jest spełniane przez wszystkie szczepy probiotyczne.

Celem pracy było określenie zmian liczby żywych komórek bakterii *Lb. acidophilus* w mleku niefermentowanym i fermentowanym, w ciągu czterech tygodni chłodniczego przechowywania i określenie czynników wpływających na zmniejszenie tej liczby. Wykazano wpływ procesu fermentacji, środowiska inkubacji oraz natleniania środowiska na przeżywalność *Lb. acidophilus* w czasie odpowiadającym okresowi przydatności do spożycia mlecznych produktów probiotycznych.

Słowa kluczowe: *Lb. acidophilus*, mleko fermentowane, mleko niefermentowane, przeżywalność, minimum terapeutyczne

Wprowadzenie

Lactobacillus acidophilus jest to grupa pałeczek termofilnych, gram dodatnich (z łac. *lactis* - mleko, *bacillus* - pałeczka, *acidophilus* - lubiący kwas), powszechnie stosowanych w produkcji fermentowanych napojów mlecznych. Ich obecność jest stwierdzana w wielu produktach żywnościowych, głównie mlecznych fermentowanych, zbożowych oraz mięsnych. *Lb. acidophilus* występują naturalnie w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt, jamie ustnej i drogach rodnych. Niektóre szczepy tego gatunku mają potwierdzone właściwości probiotyczne [8, 15]. Do właściwości probio-

tycznych tego gatunku zalicza się: zmniejszanie efektu nietolerancji laktozy, wiązanie cholesterolu, aktywność antynowotworową w stosunku do raka okrężnicy oraz stymulację układu immunologicznego. Do przykładowych szczepów probiotycznych tego gatunku należą *Lb. acidophilus* NCFB 1748, *Lb. acidophilus* NCFM, *Lb. acidophilus* La-5 [3, 8, 15]. Ponadto do cech probiotycznych zaliczana jest zdolność do kolonizacji przewodu pokarmowego. Szczepy *Lb. acidophilus* produkują kwasy organiczne, nadtlenek wodoru i/lub bakteriocyny (np. acidofilinę, acidolinę), przez co zapobiegają rozwojowi niepożądanego mikroflory. Produkują również witaminy z grupy B (niacynę, kwas foliowy, witaminę B₆), istotne dla zdrowia organizmu ludzkiego [1, 4, 5, 15].

Miara gwarancji aktywności prozdrowotnej i tym samym zapewnienia probiotyczności zastosowanych bakterii jest liczba żywych komórek w oferowanym produkcie. Zgodnie z wytycznymi FIL/IDF i FAO/WHO, dotyczącymi zarówno mikroflory podstawowej (np. bakterii jogurtowych) i dodatkowej (mikroflory probiotycznej), liczba żywych komórek bakterii mlekowych w ostatnim dniu przydatności do spożycia nie powinna być niższa od 10^6 jtk/cm³. Wartość tę uznaje się jako tzw. minimum terapeutyczne. Kontrola liczby żywych komórek bakterii probiotycznych, w produktach spożywczych jest utrudniona ze względu na obecność w finalnym produkcie mieszanki mikroflory podstawowej (jogurtowej) i dodatkowej (probiotycznej) [6, 11]. Określanie ogólnej liczby bakterii mlekowych na koniec okresu przydatności do spożycia produktu nie daje gwarancji obecności wymaganej liczby żywych komórek bakterii probiotycznych w tym czasie.

Celem pracy było określenie przeżywalności szczepu *Lb. acidophilus* (La-5), w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania, w mleku fermentowanym przez ten szczep i w mleku niefermentowanym z dodatkiem wymienionego szczepu.

Material i metody badań

W badaniach użyto liofilizowanej szczepionki probiotycznego szczepu *Lb. acidophilus* La-5 (Chr. Hansen) [3].

Badania przeprowadzono w trzech układach modelowych. W pierwszym z nich dwie porcje jałowego mleka (50 cm³) zaszczepiano liofilizatem La-5. Jedną porcję poddawano fermentacji w temp. 37 °C przez 18 h, drugą po zaszczepieniu schładzano, obie próbki przechowywano przez cztery tygodnie w temp. 6 °C. Bezpośrednio po zaszczepieniu mleka, po fermentacji oraz po 2 i 4 tygodniach chłodniczego przechowywania wykonywano analizę mikrobiologiczną oraz mierzono pH próbek.

Drugi analogiczny model mleka fermentowanego i niefermentowanego różnił się od pierwszego tym, że porcji mleka nie mieszano, co skutkowało nierozbitym skrzepem mleka fermentowanego i w związku z tym zmniejszonym natlenieniem obu porcji, na wzór metody zbiornikowej.

Trzeci układ modelowy różnił się od poprzednich środowiskiem inkubacji bakterii, którym był bulion MRS (Merck) zaszczipiony liofilizatem La-5. Model w bulionie także wykonywano w dwóch wersjach: fermentowanej (18 h w temp. 37 °C) i niefermentowanej, w którym sprawdzano liczbę żywych komórek bakterii w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania.

Próby wykonano w dwóch powtórzeniach, oddzielnych dla każdego modelu. W przypadku modeli niemieszanych próbki były w oddzielnych butelkach do każdego oznaczenia, w celu wyeliminowania mieszania poprzedzającego pobór próbek do oznaczenia.

Oznaczanie liczby żywych komórek *Lb. acidophilus* wykonywano metodą płytkową kropelkową, z wykorzystaniem podłoża agarowego MRS (Merck) [9]. Płytki z posiewami inkubowano w anaerostatach zapewniających warunki beztlenowe, w temp. 37 °C przez 48 h.

Wyniki i dyskusja

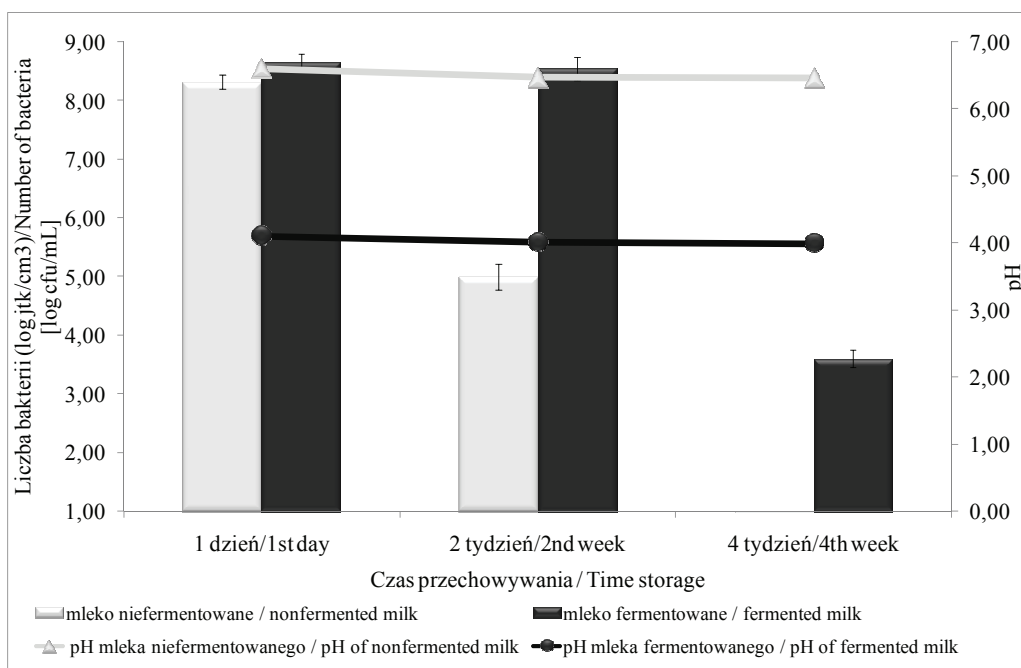
Jak już wspomniano, przy wykorzystaniu probiotycznych szczepów bakterii w produkcji żywności funkcjonalnej istotna jest kontrola przeżywalności tych bakterii w finalnym produkcie. Ważna jest też kontrola ich wzrostu i przeżywalności w czasie procesu fermentacji oraz w czasie przechowywania przypadającego na okres przydatności do spożycia produktu. Jak wynika z niniejszych badań zdolność bakterii probiotycznych gatunku *Lb. acidophilus* do wysokiej przeżywalności w produkcji zależy od wielu czynników. W celu wyznaczenia tych czynników przeprowadzono badania modelowe z użyciem monokultury *Lb. acidophilus*. Zastosowane dwa środowiska inkubacji (mleko i bulion) pozwoliły wyznaczyć wpływ środowiska oraz dostępu składników odżywczych na przeżywalność omawianego gatunku probiotycznego. Z kolei zastosowanie procesu fermentacji pozwoliło zaobserwować istotność wpływu tego procesu, oraz metabolitów fermentacji na przeżywalność *Lb. acidophilus*. Dodatkowa symulacja metody termostatowej i zbiornikowej miała na celu określenie wpływu natleniania i związanej z tym produkcji nadtlenu wodoru, typowej dla tego gatunku, na poziom liczby żywych komórek tych bakterii.

Na rys. 1. zobrazowano wpływ procesu fermentacji na zmianę pH i liczbę komórek *Lb. acidophilus* w próbkach modelowych. Zaobserwowano istotne zmniejszenie liczby bakterii *Lb. acidophilus* w mleku niepoddanym procesowi fermentacji. W mleku niefermentowanym już w 2. tygodniu przechowywania w chłodniczych warunkach nastąpiło obniżenie liczby komórek bakterii o 3 cykle logarytmiczne, do poziomu 5 log jtk/cm³. Po kolejnych 2 tygodniach nie stwierdzono obecności żywych komórek *Lb. acidophilus* w mleku niefermentowanym.

Wpływ fazy wzrostu na przeżywalność komórek bakterii gatunku *Lb. acidophilus* badali Lorca i wsp. [10]. Cytowani badacze stwierdzili najsłabszą przeżywalność ko-

mórek tego gatunku w fazie wykładniczego wzrostu. W czasie tej fazy następuje intensywna produkcja kwasów i nadtlenu, najprawdopodobniej przyczyniających się do śmierci komórek *Lb. acidophilus*.

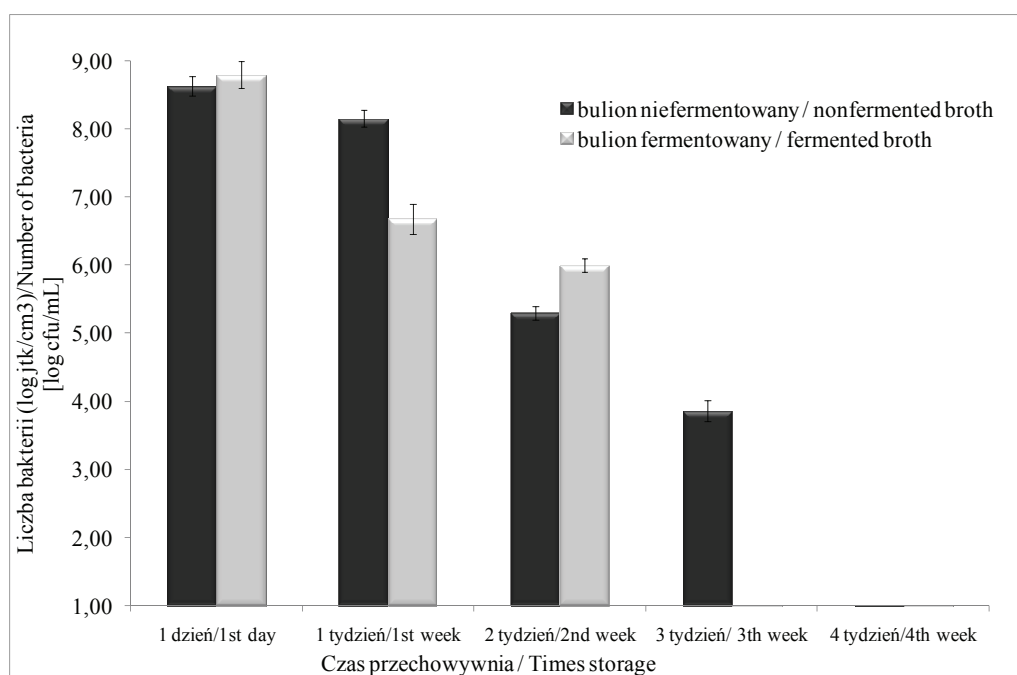
W niniejszej pracy, wyższą przeżywalność komórek *Lb. acidophilus* stwierdzono w mleku fermentowanym niż niefermentowanym. Przez pierwsze 2 tygodnie liczba żywych komórek utrzymywała się na wysokim poziomie zapewniającym spełnienie wymogów minimum terapeutycznego. Dopiero w 4. tygodniu zaobserwowano redukcję populacji pałeczek o 5 cykli logarytmicznych do $3,6 \log \text{ jtk/cm}^3$. Wartość pH po procesie fermentacji ustabilizowała się na poziomie 4, natomiast w próbce niefermentowanej wartość nie zmieniła się i wynosiła 6,5 przez cały okres przechowywania (rys. 1). Jak można wnioskować, na przeżywalność probiotyku istotny wpływ ma proces fermentacji, w czasie którego okres adaptacji z formy liofilizowanej odbywa się w warunkach zbliżonych do optymalnych do wzrostu komórek bakteryjnych. Jednak spadek przeżywalności komórek w 4. tygodniu przechowywania informuje o konieczności skrócenia okresu przydatności do spożycia produktów zawierających *Lb. acidophilus* lub zwiększenia początkowej liczby tych pałeczek w produkcji.



Rys. 1. Przeżywalność *Lb. acidophilus* oraz zmiana pH próbek mleka fermentowanego i niefermentowanego w czasie chłodniczego przechowywania.

Fig. 1. Viability of *Lb. acidophilus* and change in pH of fermented and non-fermented milk samples during the refrigerated storage.

Przeżywalność przechowalnicza gatunku *Lb. acidophilus* zależy także od użytego szczepu, co udowodnili Bolin i wsp. [2]. Cytowani badacze stwierdzili najniższą przeżywalność kultury (La-5) *Lb. acidophilus*, spośród badanych kultur. Jednocześnie potwierdzili zwiększenie przeżywalności kultury La-5 przy zastosowaniu mieszanki kultur, co wykazali także Martensson i wsp. [12]. Warto podkreślić, że badania producenta kultury La-5, prowadzone w ciągu 21 dni (3 tygodnie) także wskazują na słabą przeżywalność (na poziomie 10 – 20 %) tego szczepu w porównaniu z innymi probiotykami [3].

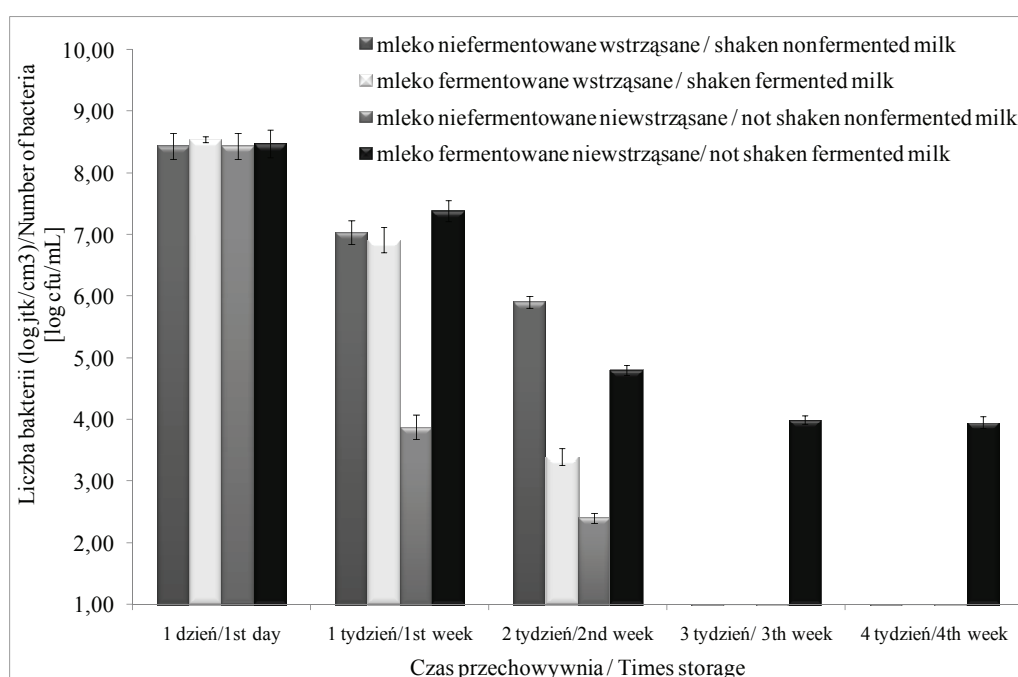


Rys. 2. Przeżywalność *Lb. acidophilus* w bulionie MRS w czasie chłodniczego przechowywania.

Fig. 2. Viability of *Lb. acidophilus* in MRS broth during the refrigerated storage.

Na podstawie uzyskanych wyników można wykluczyć wpływ środowiska na przeżywalność *Lb. acidophilus* w warunkach chłodniczych (rys. 2). Zaobserwowano spadek przeżywalności omawianego szczepu probiotycznego na pożywkę dostosowanej do wzrostu pałeczek mlekowych (bulion MRS). Avonts i wsp. [1] także nie wykazali wpływu dodatkowych źródeł składników odżywczych na przeżywalność *Lb. acidophilus*, za to stwierdzili zwiększoną produkcję bakteriocyn przez ten gatunek. W niniejszych badaniach stwierdzono różnice szybkości obumierania populacji *Lb. acidophilus* w bulionie MRS w wersjach fermentowanych i niefermentowanych. W przypadku modelu w bulionie MRS w wersji fermentowanej już w 3. tygodniu nie

stwierdzono żywych komórek bakterii, z kolei w wersji niefermentowanej w tym samym czasie nastąpił spadek populacji poniżej wymaganego minimum terapeutycznego. W 4. tygodniu nie stwierdzono żywych komórek *Lb. acidophilus* w żadnej z wersji bulionu MRS. Istotnymi czynnikami redukującymi liczbę komórek bakterii były: czas przechowywania oraz niskie pH. Brak białek mleka buforujących niskie pH potęgował i przyspieszał efekt wymierania komórek bakterii w bulionie w wersji fermentowanej. Słabą przeżywalność *Lb. acidophilus* w czasie przechowywania zaobserwowali również Medina i Jordano [13] oraz Kosikowska i wsp. [7].



Rys. 3. Przeżywalność *Lb. acidophilus* w mleku fermentowanym i niefermentowanym w wersji wstrząsanej (natlenianej) i niewstrząsanej, w czasie chłodniczego przechowywania.

Fig. 3. Viability of *Lb. acidophilus* in fermented and non-fermented, shaken (oxygenated) and not shaken milk samples, during the refrigerated storage

Wpływ natlenienia mleka w procesie produkcji, na wzór metody zbiornikowej, sprawdzono porównując przeżywalność *Lb. acidophilus* w modelu "wstrząsanym" i „niewstrząsanym” (rys. 3). Modele mleka fermentowanego i niefermentowanego przez *Lb. acidophilus* z uwzględnieniem natlenienia środowiska potwierdzają większą przeżywalność *Lb. acidophilus* w mleku fermentowanym niewstrząsanym niż w pozostałych próbkach. Jednak nawet ta przeżywalność w mleku fermentowanym niewstrząsanym nie gwarantuje spełnienia wymagań minimum terapeutycznego w całym okresie

4 tygodni chłodniczego przechowywania. Najszybsze zmniejszenie liczby komórek bakterii zaobserwowano w przypadku próbki niefermentowanej i niewstrząsanej. Jednak największą intensyfikację wymierania żywych komórek bakterii zaobserwowano w próbkach regularnie napowietrzanych. Proces napowietrzania (wstrząsanie) próbek miał wpływ na populację pałeczek w próbce niefermentowanej, bo już w 2 tygodniu spowodował redukcję komórek o 3 cykle logarytmiczne poniżej wymaganego minimum terapeutycznego.

Nadtlenek wodoru, który może być produkowany przez *Lb. acidophilus* w warunkach tlenowych ma wpływ na ich przeżywalność. Jak wykazały badania Lorca i wsp. [10] obecność nadtlenku wodoru istotnie wpływa na populację omawianego gatunku w przypadku fermentacji w temp. niższej niż 37 °C.

W niniejszej pracy, w 3. tygodniu chłodniczego przechowywania w mleku fermentowanym i niefermentowanym w wersji wstrząsanej (natlenianej) i niewstrząsanej tylko w jednej próbce (mleka fermentowanego niewstrząsanego) stwierdzono jeszcze żywe komórki *Lb. acidophilus*, jednak poniżej wymaganego progu spełniającego minimum terapeutyczne.

Jak wykazały niniejsze badania, prowadzone na monokulturze *Lb. acidophilus*, przeżywalność tego probiotyku nie spełnia minimum terapeutycznego w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania mleka, co potwierdzają także badania innych naukowców [2, 14, 12].

Wnioski

1. Proces fermentacji wpływa pozytywnie na zwiększenie przeżywalności bakterii probiotycznych z gatunku *Lb. acidophilus* zarówno w mleku, jak i w bulionie MRS.
2. Podczas czterotygodniowego przechowywania zaszczerpionych porcji bulionu MRS i mleka, stwierdzono lepszą przeżywalność komórek *Lb. acidophilus* w mleku niż w bulionie MRS.
3. Zabieg mieszania wykorzystywany w systemie zbiornikowej produkcji napojów fermentowanych może mieć negatywny wpływ na przeżywalność *Lb. acidophilus* ze względu na zjawisko natleniania produktu.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Avonts L., Van Uytven E., De Vuyst L.: Cell growth and bacteriocin production of probiotic. *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 947–955.
- [2] Bolin Z., Libudzisz Z., Moneta J.: Viability of *Lactobacillus acidophilus* in fermented milk products during refrigerated storage. *Pol. J. Food. Nutr. Sci.*, 1998, **3**, 466-471.


- [3] Chr. Hansen: Materiały informacyjne i ofertowe.
- [4] Klewicka E., Libudzisz Z., Czajka D., Kuc K.: Antagonistyczna aktywność bakterii fermentacji mlekowej *Lactobacillus acidophilus*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1999, **4** (21) Supl., 168-175.
- [5] Klewicka E., Libudzisz Z.: Bakteriocynogenne właściwości *Lactobacillus acidophilus*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2001, **3** (28) Supl., 90-98.
- [6] Kosikowska M., Jakubczyk E.: Metody oznaczania bakterii probiotycznych w produktach mlecznych. Przegl. Mlecz., 2007, **12** (57), 12-17.
- [7] Kosikowska M., Merlak D., Gawel J., Stefaniuk A.: Przeżywalność komórek *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* w biomasach zagęszczanych metodą filtracji membranowej lub baktofugacji. Przegl. Mlecz., 1996, **45** (7), 196-199.
- [8] Libudzisz Z.: Probiotyki i prebiotyki w fermentowanych napojach mlecznych. Pediatria Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka, 2002, **4** (1), 19-25.
- [9] Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z.: Mikrobiologia techniczna. Tom I. Wyd. Politechniki Łódzkiej 2007, s.118-119.
- [10] Lorca L.G., Font de Valdez G.: The effect of suboptimal growth temperature and growth phase on resistance of *lactobacillus acidophilus* to environmental stress. Cryobiology, 1999, **39**, 144-149.
- [11] Markiewicz L., Biedrzycka E., Bielecka M.: Różnicowanie mleczarskich szczepów *Lactobacillus* metodą PFGE. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2006, **2** (47) Supl., 216-222.
- [12] Martensson O., Oste R., Holst O.: The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products. Food Res. Int., 2002, **35**, 775-784.
- [13] Medina L.M., Jordano R.: Population dynamics of constitutive microbiota in BAT type fermented milk products. J. Food Prot., 1995, **58**, 70-76.
- [14] Shah N.P., Lankaputhra W.E.V., Britz M.L., Kyle W.E.A.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. Int. Dairy J., 1995, **5**, 515-521.
- [15] Ziarno M.: Prozdrowotne właściwości bakterii mlekowych. Przegl. Mlecz., 2004, **54** (11), 4-10.

VIABILITY OF PROBIOTIC STRAIN OF *LB. ACIDOPHILUS* IN NON-FERMENTED AND FERMENTED MILK

S u m m a r y

Functional probiotic food products should contain live cells of probiotic strains. Their count is also important. In the FAO/WHO guidelines on the viability of probiotic bacteria in food products, including *Lb. acidophilus* strains, the therapeutic minimum has been defined (the count of live *Lactobacillus* bacteria) as 10^6 cfu/cm³ of the product. Based on numerous investigations, it can be concluded that not all the probiotic strains meet the criterion of therapeutic minimum.

The objective of this paper was to determine changes in the count of *Lb. acidophilus* in the non-fermented and fermented milk during four weeks of its refrigerated storage and to determine factors impacting the reduction of the bacteria count. The impact of fermentation process, environment of incubation, and oxygenation of the environment on the viability of *Lb. acidophilus* was proved during a period corresponding to the expiry period of fermented milk products.

Key words: *Lb. acidophilus*, fermented milk, non-fermented milk, viability, therapeutic minimum 

DOROTA ZARĘBA, MAŁGORZATA ZIARNO, BEATA STRZELCZYK

PRZEŻYwalNOŚĆ BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ W WARUNKACH MODELOWYCH JELITA CIENKIEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie czy komórki bakterii fermentacji mlekowej, wchodzące w skład komercyjnych mleczarskich kultur starterowych, są zdolne do przeżycia w środowisku symulującym warunki panujące w jelicie cienkim i czy obecność cholesterolu wpływa na ich przeżywalność. Materiałem do badań było siedem szczepów bakterii fermentacji mlekowej (*Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus* i *Bif. animalis* subsp. *lactis*), trzy jogurtowe kultury starterowe, sześć serowarskich kultur starterowych oraz trzy kefirowe kultury starterowe. Badania polegały na hodowli szczepów bakterii fermentacji mlekowej w modelowym soku jelitowym: bez i z dodatkiem cholesterolu w temp. 37 °C przez 5 h oraz oznaczeniu metodą płytkową liczby żywych komórek przed i po inkubacji. Bakterie wchodzące w skład mezofilnych szczepionek mleczarskich wykazały podobną oporność na warunki modelowego soku jelitowego, co termofilne bakterie fermentacji mlekowej, w tym badane szczepy probiotyczne. Dodatek cholesterolu do modelowego soku jelitowego nie wpływał istotnie na przeżywalność badanych bakterii. Nie stwierdzono również istotnej różnicy pomiędzy przeżywalnością *Lactococcus* sp., *Str. thermophilus* i *Lactobacillus* sp.

Słowa kluczowe: bakterie fermentacji mlekowej, kultury starterowe, przeżywalność, sok jelitowy

Wprowadzenie

Od wielu lat realizowane są badania nad przeżywalnością różnych szczepów bakterii fermentacji mlekowej w układzie trawiennym człowieka i ich zdolnością do adhezji do nabłonka jelit [2, 3, 4, 5, 10, 11]. Wiadomo, że jednym z istotnych zagrożeń dla bakterii są warunki panujące w jelicie cienkim, m.in. obecność soli żółciowych, toksycznie działających na komórki bakteryjne [1, 2, 13, 20]. Czas przebywania pokarmu w jelicie cienkim szacuje się średnio na 3 h. Lankaputhra i Shah [8] zaobserwowali różną przeżywalność szczepów rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, które zawieszono w podłożu zawierającym do 1,5 % żółci. Z kolei Noh i wsp. [14] stwierdzili

Mgr inż. D. Zaręba, dr inż. M. Ziarno, mgr inż. B. Strzelczyk, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

uszkodzenia komórek szczepów *Lb. acidophilus* i lizę tych komórek podczas hodowli w środowisku zawierającym dodatek 0,3 % żółci.

Jak wiadomo, wiele czynników wpływa na żywotność komórek bakteryjnych w warunkach jelitowych: kwasowość, obecność soli żółciowych, obecność składników pokarmowych, czas pasażu bakterii przez układ pokarmowy i ich liczba początkowa. Nieliczne dane literaturowe wskazują, że także cholesterol może zwiększać przeżywalność komórek bakteryjnych w jelitach [16]. Obecność cholesterolu sprawia, że bakterie mlekowe stają się bardziej odporne na lizę niż te rosnące przy jego braku. Związek ten powoduje także zmianę chemicznego składu i funkcjonowania ściany i błony komórkowej bakterii fermentacji mlekowej, tym samym powodując zwiększenie tolerancji na czynniki środowiskowe [16, 19].

Celem pracy było określenie czy komórki bakterii fermentacji mlekowej, wchodzące w skład komercyjnych mleczarskich kultur starterowych, są zdolne do przetrwania w środowisku symulującym warunki panujące w jelicie cienkim i czy obecność cholesterolu wpływa na ich przeżywalność.

Materiał i metody badań

Materiałem do badań było siedem szczepów bakterii fermentacji mlekowej (dwa szczepy *Lb. acidophilus*, dwa szczepy *Lb. casei*, jeden szczep *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, jeden szczep *Str. thermophilus* i jeden szczep *Bif. animalis* subsp. *lactis*), trzy jogurtowe kultury starterowe (zawierające *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Str. thermophilus*), sześć serowarskich kultur starterowych (zawierających mezofilne paciorkowce mlekowe *Lactococcus*) oraz trzy kefirowe kultury starterowe. Przed doświadczeniami kultury były namnażane w bulionie MRS (w przypadku pałeczek lub bifidobakterii) lub bulionie M17 (w przypadku paciorkowców i kultur kefirowych). Hodowle prowadzono przez 18 h w temp. 37 °C (w przypadku termofilnych bakterii) lub w temperaturze 30 °C (w przypadku kultur mezofilnych).

Modelowy sok jelitowy składał się z NaCl (5,0 g/dm³), KCl (0,6 g/dm³), CaCl₂ (0,25 g/dm³) i żółci wołowej (8,5 g/dm³) rozpuszczonych w 1M NaHCO₃ [10]. Wartość pH modelowego soku jelitowego wynosiło 7,2. Po sterylizacji w autoklawie w temperaturze 121 °C przez 20 min, do 50 cm³ modelowego soku jelitowego dodawano zawartość dwóch kapsułek farmaceutycznego preparatu Kreon® 10 000 (Solvay Pharmaceuticals). Jedna kapsułka preparatu zawiera 150 mg pankreatyny z trzustek wołowych o aktywności 10 000 jednostek FIP lipazy, 8 000 jednostek FIP amylazy, 600 jednostek FIP proteazy. Cholesterol (Sigma-Aldrich) o czystości chemicznej >99 % rozpuszczono w mieszaninie 99 % etanolu i Tweenu 80, wymieszanych w proporcji 3:1. Dodatek cholesterolu wynosił 0,5 - 0,7 g/dm³.

Badania polegały na inkubacji szczepów bakterii fermentacji mlekowej w modelowym soku jelitowym: bez i z dodatkiem cholesterolu w temp. 37 °C przez 5 h oraz

oznaczeniu metodą płytkową liczby żywych komórek przed i po inkubacji. Liczbę pałeczek mlekowych oznaczano w podłożu MRS agar (Merck), zaś liczbę paciorkowców mlekowych w podłożu M17 agar (Merck). Płytki z posiewami inkubowano w temp. 37 °C przez 72 h (w przypadku termofilnych pałeczek mlekowych) lub w temp. 37 °C przez 48 h (w przypadku termofilnych paciorkowców) albo w temp. 30 °C przez 72 h (w przypadku bakterii mezofilnych), w warunkach tlenowych (rodzaju *Lactococcus*, gatunku *Str. thermophilus*) lub beztlenowych (rodzajów *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*). Wynik podawano w jednostkach tworzących kolonie (jtk) w przeliczeniu na 1 cm³ hodowli.

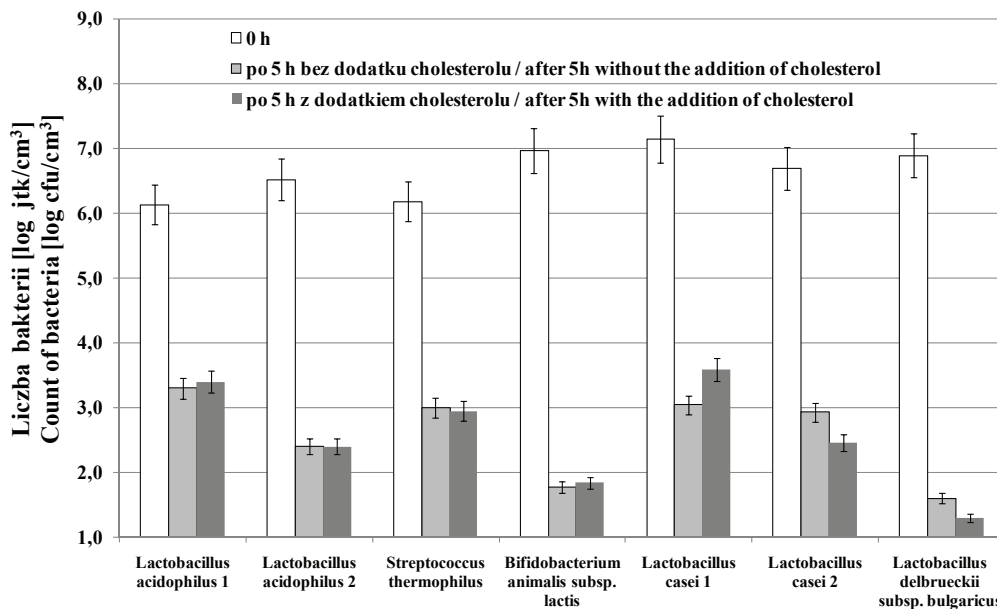
Badania przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Analizę statystyczną (wieloczynnikową ANOVA przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$) otrzymanych wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu komputerowego Statgraphics Plus 4.1.

Wyniki i dyskusja

Początkowa liczba żywych komórek bakterii fermentacji mlekowej w modelowym soku jelitowym wyniosła $1,0 \times 10^6 - 1,6 \times 10^7$ jtk/cm³ i po 5 h inkubacji zmniejszyła się do $2,0 \times 10^1 - 4,0 \times 10^3$ jtk/cm³, bez względu na obecność cholesterolu (rys. 1). Zarówno w modelowym soku jelitowym z dodatkiem cholesterolu, jak i modelowym soku jelitowym bez tego dodatku, najlepiej przeżyły komórki *Lb. acidophilus* 1, chociaż różnice w przeżywalności nie zależały od gatunku badanych bakterii fermentacji mlekowej (p-Value = 0,5207). Wykazano także, że dodatek cholesterolu do modelowego soku jelitowego nie wpłynął statystycznie istotnie (p-Value = 0,5729) na przeżywalność badanych szczepów *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus* i *Bif. animalis* subsp. *lactis*.

Bakterie fermentacji mlekowej tradycyjnie stosowane do wyrobu mlecznych produktów fermentowanych są najczęściej uważane za słabo tolerujące warunki panujące w przewodzie pokarmowym. Jednak w dostępnej literaturze są przytaczane wyniki badań odnoszących się tylko do pojedynczych szczepów bakterii fermentacji mlekowej, szczególnie szczepów probiotycznych [2, 5, 11, 12, 19]. Przeżywalność omawianych komórek bakterii jest ograniczona głównie niskimi wartościami pH środowiska, w jakim komórki bakterii się znajdują [9, 15]. Może to sugerować, że komórki bakterii fermentacji mlekowej powinny dobrze znieść warunki panujące w modelowym soku jelitowym, którego pH jest bliska wartości neutralnej [11]. Jednak sole żółciowe obecne w jelitach mogą być toksyczne dla komórek bakteryjnych. Taranto i wsp. [16] wykazali, że komórki bakteryjne rosnące w obecności cholesterolu są bardziej odporne na lizę niż rosnące przy braku tego związku. Cytowani autorzy stwierdzili, że dodatek cholesterolu do hodowli spowodował wzrost zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych w ścianie komórkowej *Lb. reuteri* CRL 1098 z 44,3 do 56,5 % łącznej ilości

kwasów, oraz kwasów nienasyconych z 1,26 do 43,5 % łącznej ilości kwasów tłuszczowych.



Rys. 1. Kształtowanie się liczby żywych komórek bakterii mlekowych po 5 h inkubacji w modelowym soku jelitowym z i bez dodatku cholesterolu (wartości średnie i odchylenia standardowe).

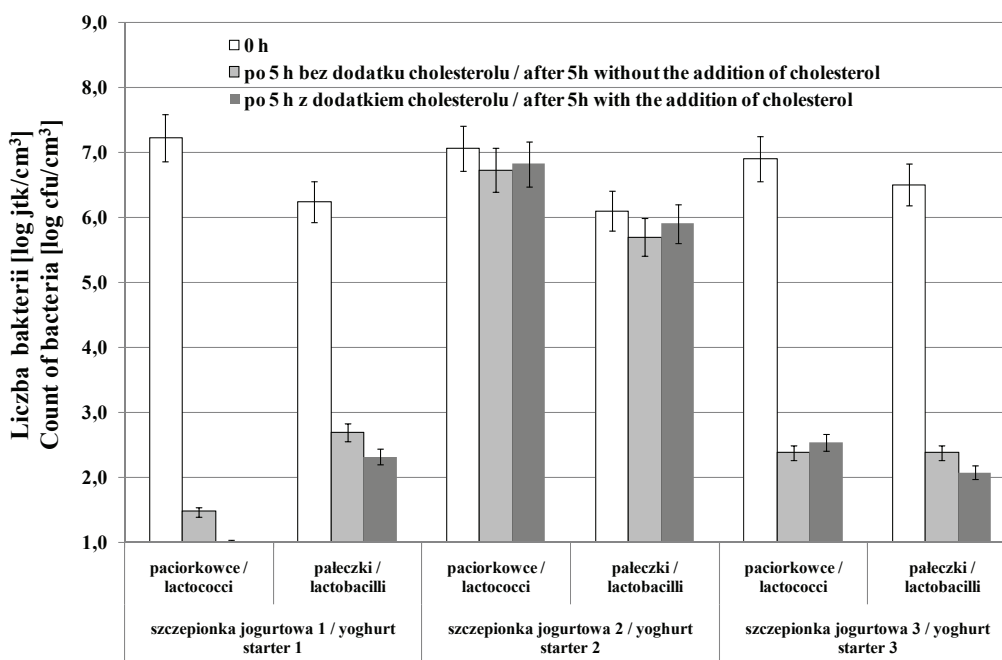
Fig. 1. Count of live lactic bacteria cells after 5 h incubation in model intestine juice with and without the addition of cholesterol (mean values and standard deviation).

Niewiele jest publikacji na temat wpływu cholesterolu na przeżywalność komórek bakterii fermentacji mlekowej w warunkach symulujących układ pokarmowy człowieka [7, 20]. Kimoto i wsp. [7] zaobserwowali, że obecność cholesterolu stymulowała wzrost komórek szczepu *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* N7. Cytowani badacze stosowali podłoże płynne GM17-THIO zawierające dodatkowo 0,2% taurocholalanu sodu, który mógł wpłynąć na uzyskane wyniki. Z kolei, jak wykazali Ziarno i Bartosz [18], przeżywalność kultur bakterii jogurtowych proporcjonalnie zależy od początkowej liczby komórek bakteryjnych zawieszonych w modelowym soku jelitowym.

Również po 5 h inkubacji jogurtowych kultur starterowych w modelowym soku jelitowym nie wykazano wpływu dodatku cholesterolu na przeżywalność (p-Value = 0,9727) (rys. 2). Stwierdzono brak statystycznie istotnej różnicy pomiędzy przeżywalnością *Str. thermophilus* i *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (p-Value = 0,2198). Początkowa liczba żywych komórek paciorkowców wyniosła $7,9 \times 10^6 - 2,0 \times 10^7$ jtk/cm³, zaś pałeczek mlekowych $1,3 \times 10^6 - 4,0 \times 10^6$ jtk/cm³. Po zakończeniu inkubacji w soku

jelitowym odnotowano zmniejszenie liczby żywych paciorkowców do $1,0 \times 10^1 - 6,3 \times 10^6$ jtk/cm³ oraz komórek pałeczek mlekowych do $1,3 \times 10^2 - 7,9 \times 10^5$ jtk/cm³.

Wykazano więc, że bakterie jogurtowe są wrażliwe na modelowy sok jelitowy, ale istnieje duże zróżnicowanie pomiędzy badanymi szczepami, co potwierdziła analiza statystyczna wyników (p-Value = 0,0004). Bakterie wchodzące w skład kultury starterowej 2 najlepiej tolerowały warunki panujące w modelowym soku jelitowym.



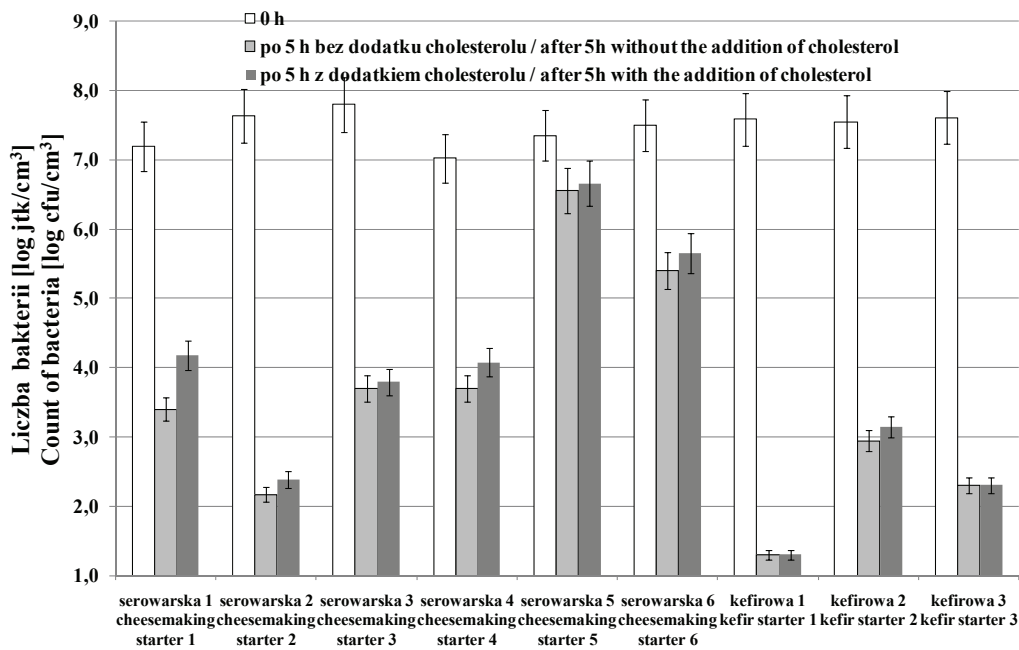
Rys. 2. Kształtowanie się liczby żywych komórek bakterii jogurtowych po 5 h inkubacji w modelowym soku jelitowym z i bez dodatku cholesterolu (wartości średnie i odchylenia standardowe).

Fig. 2. Count of live yoghurt bacteria cells after 5 h incubation in model intestine juice with and without the addition of cholesterol (mean values and standard deviation).

Ziarno i Bartosz [18] wykazali, że szczepy *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* lepiej przeżywały w środowisku modelowego soku jelitowego niż szczepy *Str. thermophilus*. Badacze nie stwierdzili żywych komórek *Str. thermophilus* w 1 cm³ modelowego soku jelitowego po 5 h inkubacji, mimo że początkowa liczba żywych komórek streptokoków wynosiła średnio $2,5 \times 10^7$ jtk/cm³. Również inne dane literaturowe dowodzą, że bakterie te nie wykazują oporności na sok jelitowy [6]. Elli i wsp. [4] wykrywali żywe komórki *Str. thermophilus* w końcowej części przewodu pokarmowego oraz odchodach pobieranych od ohotników, którym podawano jogurt zawierający żywe bakterie fermentacji mlekowej. Jednak badania Ziarno [20] dowiodły, że stopień

przeżycia bifidobakterii, *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, *Lactococcus lactis* i *Streptococcus thermophilus* w modelowym soku z dwunastnicy zależał od początkowej liczby badanych bakterii. Im wyższa była początkowa liczba wprowadzonych bakterii, tym więcej ich przeżywało w modelowym soku z dwunastnicy.

Zaobserwowano, że bakterie wchodzące w skład szczepionki serowarskiej nr 5 znacznie lepiej tolerowały sok jelitowy niż komórki pozostałych szczepionek serowarskich (rys. 3). Po 5 h inkubacji w modelowym soku jelitowym liczba żywych komórek bakterii wyniosła średnio $4,1 \times 10^6$ jtk/cm³, niezależnie od dodatku cholesterolu. Dla porównania, po 5 h inkubacji pozostałych kultur serowarskich liczba żywych bakterii obniżyła się do $1,6 \times 10^2$ - $4,0 \times 10^5$ jtk/cm³. Otrzymane wyniki są potwierdzeniem badań *in vitro* prowadzonych przez Madureira i wsp. [9].



Rys. 3. Kształtowanie się liczby żywych komórek paciorkowców po 5 h inkubacji w modelowym soku jelitowym z i bez dodatku cholesterolu (wartości średnie i odchylenia standardowe).

Fig. 3. Count of *Lactococcus* cells after 5h incubation in simulated duodenal fluid with and without cholesterol addition (mean values and standard deviation).

Analiza statystyczna potwierdziła, że dodatek cholesterolu do modelowego soku jelitowego nie wpłynął istotnie na przeżywalność komórek bakterii (p-Value = 0,3025). Liczba żywych bakterii badanych szczepionek przetrzymywanych w modelowym soku jelitowym zmniejszyła się statystycznie istotnie po 5 h (p-Value = 0,0001).

Nie zaobserwowano także żadnego wpływu dodatku cholesterolu na przeżywalność kultur kefirowych, która wyniosła średnio 0,0001 %.

Lactococcus są typowymi kulturami starterowymi wykorzystywanymi do produkcji serów, maślanki i kefiru. Pomimo tego, dane literaturowe na temat badań przeżywalności tych bakterii w warunkach przewodu pokarmowego człowieka są skromne. Vinderola i Reinheimer [17] wykazali, że *L. lactis* są odporne na działanie soli żółciowych, bowiem rosły w ich obecności, mimo że nie zaobserwowano zdolności do ich dekonjugacji.

Wyniki niniejszej pracy potwierdziły, że zarówno bakterie probiotyczne, jak i mezofilne oraz termofilne wchodzące w skład szczepionek mleczarskich w podobnym stopniu tolerują modelowy sok jelitowy. Zdolność ich przeżycia była jednak zależna od szczepu bakterii.

Wnioski

1. Bakterie jogurtowe *Str. thermophilus* i *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* oraz bakterie mezofilne wchodzące w skład mezofilnych szczepionek mleczarskich są zdolne do przeżycia w środowisku symulującym warunki panujące w jelicie cienkim.
2. Stopień przeżywalności bakterii fermentacji mlekowej jest specyficzną cechą szczepu, a nie gatunku bakterii i jego profilu temperaturowego.
3. Dodatek cholesterolu do modelowego soku jelitowego nie wpływa istotnie na przeżywalność komórek bakterii fermentacji mlekowej.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Bezkorovainy A.: Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, **73** (2 suppl), 399-405.
- [2] Brink M., Todorov S.D., Martin J.H., Senekal M., Dicks L.M.T.: The effect of prebiotics on production of antimicrobial compounds, resistance to growth at low pH and in the presence of bile, and adhesion of probiotic cells to intestinal mucus. *J. Appl. Microbiol.*, 2006, **100**, 813-820.
- [3] Czaczyk K., Olejnik A., Mięzał P., Grajek W.: Poszukiwanie prostych modeli do badania adhezji bakterii probiotycznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **1** (42) 84-96.
- [4] Elli M., Callegari M.L., Ferrari S., Bessi E., Cattivelli D., Soldi S., Morelli L., Feuillerat N.G., Antoine J.M.: Survival of yoghurt bacteria in human gut. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, **7**, 5113-5117.
- [5] Galdeano C.M., Perdigon G.: Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation. *J. Appl. Microbiol.*, 2004, **97**, 673-681.

- [6] Kailasapathy K., Chin J.: Survival and therapeutic potential of probiotic organism with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immun. Cell Biol.*, 2000, **78**, 80-88.
- [7] Kimoto H., Ohmomo S., Okamoto T.: Cholesterol removal from media by lactococci. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 3182-3188.
- [8] Lankaputhra W.E.V., Shah N.P.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* in the presence of acid and bile salts. *Cult. Dairy Prod. J.*, 1995, **30**, 2-6.
- [9] Madureira A.R., Pereira C.I., Truszkowska K., Gomes A.M., Pintado M.E., Malcata F.X.: Survival of probiotic bacteria in a whey cheese vector submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 921-927.
- [10] Marteau P., Minekus M., Havenaar R., Huis In't Veld J.H.: Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile. *J. Dairy Sci.*, 1997, **80**, 1031-1037.
- [11] Masco L., Crockaert C., Van Hoorde K., Swings J., Huys G.: *In vitro* assessment of the gastrointestinal transit tolerance of taxonomic reference strains from human origin and probiotic product isolates of *Bifidobacterium*. *J. Dairy Sci.*, 2007, **90** (8), 3572-3578.
- [12] Moser A., Savage D.C.: Bile salt hydrolase activity and resistance to toxicity of conjugated bile salts are unrelated properties in lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, **67**, 3476-3480.
- [13] Neumann M., Goderska K., Grajek K., Grajek W.: Modele przewodzenia pokarmowego *in vitro* do badań nad biodostępnością składników odżywczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1** (46), 30-45.
- [14] Noh D.O., Kim S.H., Gilliland S.E.: Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *J. Dairy Sci.*, 1997, **80**, 3107-3113.
- [15] Oozeer R., Leplingard A., Mater D., Mogenet A., Michelin R., Seksek I., Marteau P., Dors E. J., Bresson J. L., Corthier G.: Survival of *Lactobacillus casei* in human digestive tract after consumption of fermented milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, **8**, 5615-5617.
- [16] Taranto M.P., Murga M.L.F., Lorca G., Valdez G.F.: Bile salts and cholesterol induce changes in the lipid membrane of *Lactobacillus reuteri*. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, **95**, 86-91.
- [17] Vinderola C.G., Reinheimer J.A.: Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative *in vitro* study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Res. Int.* 2003, **36**, 895-904.
- [18] Ziarno M., Bartosz P.: Badania nad wiązaniem cholesterolu przez bakterie jogurtowe w modelowym soku jelitowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **4** (53), 126-138.
- [19] Ziarno M.: Mechanizmy obniżania poziomu cholesterolu przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. *Żywność Człowieka i Metabolizm*, 2004, **31**, 172-180.
- [20] Ziarno M.: Survival of lactic acid bacteria in simulated duodenal fluid depending on the cholesterol presence. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57** (4C), 625-631.

VIABILITY OF LACTIC ACID BACTERIA UNDER THE MODEL CONDITIONS OF SMALL INTESTINE

S u m m a r y

The objective of this study was to determine whether or not cells of the lactic acid bacteria, contained in the commercial dairy starter cultures, were able to survive in the environment simulating the conditions in small intestine and whether or not the presence of cholesterol impacted their viability. The material studied were seven strains of lactic acid bacteria (*Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus* i *Bif. animalis* subsp. *lactis*), three yoghurt starter cultures, six cheese starter cul-

tures, and three kefir starter cultures. The study consisted in culturing strains of lactic acid bacteria in model intestine juice without and with the addition of cholesterol, at 37°C for 5 h, and in determining the count of lactic acid bacteria using a plate method prior to and after the incubation. Bacteria contained in the mesophilic, diary starter cultures showed a similar resistance to the conditions of the model intestine juice as thermophilic lactic acid bacteria, including the probiotic strains studied. The addition of cholesterol to the model intestine juice did not significantly impact the viability of lactic acid bacteria under investigation. No significant difference between the viability of *Lactococcus* sp., *Str. thermophilus*, and *Lactobacillus* sp. was reported.

Key words: lactic acid bacteria, starter cultures, viability, intestine juice ☒

EMILIA JANISZEWSKA, DARIUSZ CUPIAŁ, DOROTA WITROWA-RAJCHERT

WPLYW PARAMETRÓW SUSZENIA ROZPYŁOWEGO NA JAKOŚĆ HYDROLIZATU BIAŁKOWEGO

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań suszenia rozpyłowego hydrolizatu białkowego oraz mieszaniny hydrolizatu i nośników. Jako nośników użyto maltodekstryny średniosukrzonowej oraz białka serwatkowego. Stosowano temperaturę powietrza wlotowego 160 °C oraz trzy strumienie zasilania surowca: 0,9; 1,16 i 1,28 cm³/s. Największą zawartość wody w proszkach, powyżej 5 %, uzyskano przy dodatku maltodekstryny jako nośnika, najmniejszą, przekraczającą nieznacznie 2 %, zawierały proszki samego hydrolizatu. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem strumienia podawania surowca zwiększała się zawartość wilgoci w proszkach, co było związane ze spadkiem temperatury powietrza opuszczającego suszarkę. Wartości gęstości nasypowej luźnej i utręzionej złoża nie zależały od strumienia podawania surowca, ale istotnie zależały od zastosowanego nośnika. Najmniejsze wartości tych gęstości wykazywały proszki samego hydrolizatu, a wartości największe proszki zawierające maltodekstrynę. Następował wzrost wartości gęstości utręzionej w porównaniu z gęstością luźną o około 50 %. Gęstość pozorną uzyskanych proszków była największa, gdy suszono sam hydrolizat, a najmniejsza w przypadku materiałów zawierających białko serwatkowe. Częstki proszku samego hydrolizatu charakteryzowały się więc najmniejszą porowatością wewnętrzną. Nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu strumienia podawania na gęstość pozorną. Współczynniki Hausnera świadczą o tym, że otrzymane proszki miały właściwości proszków spójnych. Badania barwy proszków w układzie L*a*b* wykazały, że dodatek nośników powodował zmniejszenie udziału barwy żółtej i czerwonej oraz wzmacniał jasność proszków. W samym hydrolizacie oraz hydrolizacie z dodatkiem maltodekstryny zaobserwowano wzrost udziału barwy żółtej i czerwonej oraz zmniejszenie jasności proszków wraz ze wzrostem strumienia podawania. Wartości nasycenia były zbliżone do wartości otrzymanych dla barwy żółtej, gdyż w przypadku otrzymanych proszków ta barwa przeważała i to ona zdeterminowała wartość nasycenia.

Słowa kluczowe: hydrolizat białkowy, nośniki, suszenie rozpyłowe, strumień podawania, gęstość, porowatość, barwa

Wprowadzenie

Hydrolizaty białkowe są szeroko stosowane w przemyśle spożywczym. Nadają produktom spożywczym określony bukiet smakowo-zapachowy oraz uwypuklają

Dr inż. E. Janiszewska, mgr inż. D. Cupiał, prof. dr hab. D. Witrowa-Rajchert, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa

i polepszają ich smak. Hydrolizaty po dodaniu do produktu wykazują właściwości stabilizujące i pianotwórcze. Ponadto wykazują właściwość obniżania aktywności wody, a niektóre z nich mają właściwości emulgujące i żelujące. Są również powszechnie stosowane przez sportowców, w celu dostarczenia zbilansowanych aminokwasów; w czasie karmienia małych dzieci, szczególnie narażonych na alergię pokarmową. Hydrolizaty białkowe otrzymuje się z surowców białkowych poprzez hydrolizę z udziałem katalizatorów chemicznych (tj. zasad lub kwasów) bądź enzymów [5, 2]. Są one dostępne na rynku w postaci gotowych mieszanek przyprawowych w proszku, płynie, w postaci past, a także granulatów przeznaczonych do określonych grup produktów. Dodatek hydrolizatów stosuje się na poziomie 0,5 – 2 %, a czasem nawet 3 % w stosunku do masy gotowego produktu [6, 7, 8, 19].

Suszenie rozpyłowe jest jedną z najczęściej stosowanych metod suszenia wykorzystywaną w przemyśle spożywczym. Dzięki występowaniu dogodnych warunków wymiany ciepła i masy, metoda ta znakomicie nadaje się do suszenia substancji termolabilnych. Dzięki zastosowaniu metody suszenia rozpyłowego uzyskuje się produkt sypki, który w porównaniu z produktem płynnym charakteryzuje się dłuższym okresem trwałości, łatwością dozowania oraz mniejszą objętością, co jest istotne podczas transportu, jak i składowania [10].

Celem pracy było określenie wpływu strumienia podawania surowca oraz dodatku nośnika (maltodekstryna i białko serwatkowe) na wybrane właściwości fizyczne otrzymanego proszku hydrolizatu białkowego.

Materialy i metody badań

Do badań zastosowano hydrolizat białkowy w płynie, Maggi firmy Nestle Polska SA, zakupiony na rynku detalicznym. Jako nośników użyto maltodekstryny średnio scukrzonej o $DE = 19$ (firmy Roquete, Francja) oraz białka serwatkowego BIPRO (firmy Davisco Food Internatinoal, USA).

Suszeniu poddawano roztwory o stężeniu 20 % (m/m) nośnika i 80 % (m/m) hydrolizatu oraz sam hydrolizat bez dodatku nośników. Zawartość wody w roztworach do suszenia wynosiła 70 % w hydrolizacie oraz 50 % w mieszaninie nośnika z hydrolizatem. Zastosowano temperaturę powietrza wlotowego wynoszącą 160 °C oraz trzy strumienie podawania surowca: 0,9; 1,16 i 1,28 cm³/s. Suszenie prowadzono współprądowo przy prędkości dysku 39000 obr./min w suszarce typu Lab S1, firmy Anhydro (Niemcy). Suszenia powtarzano dwukrotnie.

W otrzymanych proszkach oznaczano zawartość suchej masy zgodnie z normą PN-A-79011-3 [14] w trzech powtórzeniach.

Gęstość nasypową luźną ρ_L i utręsioną przy 1250 utręsieniach ρ_T oznaczano z wykorzystaniem objętościomierza wstrząsowego STAV 2003/Engelsmann AG (Niemcy), w trzech powtórzeniach [18]. Gęstość pozorną ρ proszku oznaczano w pik-

nometrze helowym Stereopycnometr [2, 10]. Na podstawie gęstości luźnej i pozornej obliczano porowatość złoza zgodnie z równaniem:

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_L}{\rho} \quad (1)$$

oraz wyróżnik syropkości, współczynnik Hausnera I_H [-] z równania [15]:

$$I_H = \rho_T \rho_L \quad (2)$$

Lepkość roztworów oznaczano w wiskozymetrze firmy Anton Paar, model Physica MCR 301, z zastosowaniem układu dwóch cylindrów (nr seryjny DG26.7/TI).

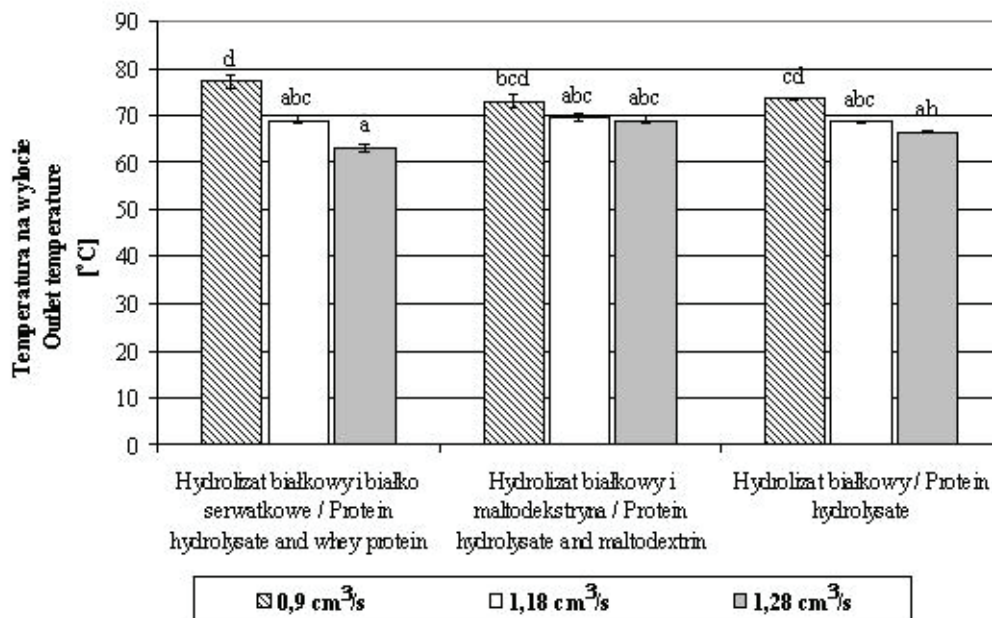
Barwę proszku i roztworów określano za pomocą chromometru typu CR-300, firmy Minolta. Barwę mierzono w systemie CIE $L^*a^*b^*$ w oświetleniu standardowym. Obliczano nasycenie barwy [11]:

$$C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (3)$$

Analizę statystyczną wykonywano w programie Statgraphics Plus 5.1. Zastosowano analizę porównawczą wartości średnich przy użyciu jednoczynnikowej analizy wariancji w układzie losowym przy niskiej istotności (HSD). Wnioskowanie statystyczne prowadzono przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wraz ze wzrostem strumienia podawania, niezależnie od zastosowanego nośnika, zmniejszała się temperatura powietrza na wylocie (rys. 1), co wpłynęło na większą zawartość wody w proszku (tab. 1). Wzrost strumienia podawania surówki powodował zmniejszenia czasu kontaktu pomiędzy rozpylonymi kroplami a medium suszącym, w wyniku czego transport ciepła był mniej efektywny, co doprowadziło do większej wilgotności proszku. Uzyskane wyniki są zgodne z obserwacjami Ersusa i Yurdagela [5], którzy suszyli rozpyłowo barwniki czarnej marchwi. Wykazali, że przy wzroście strumienia podawania z 5 do 6,37 cm³/min nastąpiło obniżenie temperatury powietrza wlotowego od 107 do 102 °C. Spadek temperatury na wylocie spowodowany był zintensyfikowaniem procesów odparowania, wynikających z dostarczania większych ilości roztworu w jednostce czasu. Największą zawartość wody, na poziomie powyżej 5 %, uzyskano przy dodatku maltodekstryny średnioscukrzanej jako nośnika. Najmniejszą zawartością wody, przekraczająca nieznacznie 2 %, charakteryzowały się proszki samego hydrolizatu (tab. 1). Wpływ wielkości strumienia na zawartość wody w proszkach badali również Rattes i Oliveira [17]. Przy zwiększaniu strumienia od 3 do 9 g/min, przy zastosowaniu temp. wlotowej 150 °C, osiągnęli wzrost zawartości wody w proszkach od 0,036 do 0,064 kg/kg.



a, b - wartości oznaczone różnymi indeksami różnią się między sobą statystycznie istotnie ($\alpha < 0,005$) / Values denoted by different letters vary among themselves statistically significant at $\alpha < 0.005$.

Rys. 1. Wpływ strumienia podawania i rodzaju nośnika na wartość temperatury powietrza na wylocie.
Fig. 1. Impact of feed flux and type of carrier on the air temperature at outlet.

Otrzymane zależności potwierdzają także Adamiec i Marciniak [1], według których nastąpił wzrost zawartości wody od 2,5 do 4 % w suszonym rozpyłowo proszku maltodekstrynowym przy dwukrotnym wzroście strumienia podawania w temp. suszenia wynoszącej 200 °C.

Gęstość nasypowa proszków zwiększa się wraz z rosnącym upakowaniem materiału sypkiego, stąd wzrost wartości gęstości utręzionej w porównaniu z gęstością luźną. Gęstość nasypowa luźna hydrolyzatu białkowego suszonego bez dodatku nośnika wynosiła ok. 300 kg/m³. Suszenie z dodatkiem nośników spowodowało zwiększenie gęstości luźnej mieszaniny z maltodekstryną do wartości ok. 470 kg/m³ i mieszaniny z białkiem serwatkowym do ok. 39 kg/m³. Gęstość nasypowa utręciona wzrosła o około 50 % w stosunku do gęstości nasypowej luźnej, do wartości 410-460 kg/m³, gdy suszono sam hydrolyzaty. Wartości gęstości nasypowej luźnej i utręzionej złożyły w małym stopniu zależały od strumienia podawania surowca, a istotnie od zastosowanego nośnika (tab. 1). Goula i Adamopoulos [9] wykazali, że gęstość nasypowa luźna jest silnie związana z wilgotnością proszku. Im większa jest wilgotność proszku, tym więcej cząstek łączy się w większe skupiska, powodując pozostawianie między nimi

wolnych przestrzeni, a w rezultacie zmniejszenie gęstości nasypowej luźnej. Wyniki otrzymane w badaniach potwierdzają to stwierdzenie.

Tabela 1

Charakterystyka proszków otrzymanych w trakcie suszenia rozpyłowego hydrolizatu białkowego z dodatkiem nośników.
Profile of powders produced during the spray drying process of protein hydrolysate with the additions of carriers.

Suszony materiał Dried material	Prędkość podawania Feed flux [cm ³ /s]	Wilgotność proszku Moisture content [%] x ± SD	Gęstość pozorna Apparent density [kg/m ³] x ± SD	Gęstość luźna Loose density [kg/m ³] x ± SD	Gęstość utrząsiona Tapped density [kg/m ³] x ± SD	Porowatość Porosity [-] x ± SD
Hydrolizat białkowy Protein hydrolysate	0,9	2,14 ± 0,0007 ^a	1770 ± 16 ^c	297 ± 9 ^a	463 ± 14 ^b	0,833 ± 0,0013 ^c
	1,18	2,23 ± 0,0005 ^a	1780 ± 28 ^c	298 ± 4 ^a	454 ± 0,1 ^{ab}	0,835 ± 0,002 ^c
	1,28	2,49 ± 0,0004 ^{ab}	1850 ± 4 ^{cd}	296 ± 7 ^a	411 ± 6 ^a	0,843 ± 0,0034 ^c
Maltodekstryna i hydrolizat białkowy Maltodextrin and protein hydrolysate	0,9	5,40 ± 0,002 ^d	1290 ± 1 ^b	477 ± 15 ^c	7104 ± 2 ^c	0,654 ± 0,011 ^a
	1,18	5,28 ± 0,002 ^d	1280 ± 2 ^b	465 ± 20 ^{bc}	707 ± 9 ^e	0,662 ± 0,0137 ^{ab}
	1,28	5,67 ± 0,003 ^d	1300 ± 9 ^b	456 ± 13 ^{bc}	692 ± 1 ^e	0,659 ± 0,0113 ^{ab}
Białko serwatkowe i hydrolizat białkowy Whey protein and protein hydrolysate	0,9	2,29 ± 0,001 ^a	1010 ± 13 ^a	391 ± 11 ^{bc}	537 ± 0,1 ^c	0,682 ± 0,0008 ^{ab}
	1,18	3,16 ± 0,0004 ^b	1070 ± 3 ^a	384 ± 65 ^{ab}	560 ± 1 ^{cd}	0,680 ± 0,0084 ^{ab}
	1,28	4,14 ± 0,001 ^c	1120 ± 4 ^a	405 ± 1 ^{bc}	597 ± 6 ^d	0,688 ± 0,0055 ^b

a, b, c, d- wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi indeksami różnią się między sobą statystycznie istotnie $\alpha < 0,005$ / Mean values in the same columns denoted by different letters vary among themselves statistically significant at $\alpha < 0.005$.

Tak odbiegające od siebie wartości gęstości różnych proszków mogły być spowodowane różnicą w lepkości roztworów poddanych suszeniu rozpyłowemu. Lepkość samego hydrolizatu białkowego była na poziomie 2 mPa·s, z dodatkiem maltodekstryny wynosiła 23 mPa·s oraz z dodatkiem białka serwatkowego – 38 mPa·s. Im roztwór ma mniejszą lepkość, tym większe krople tworzą się podczas jego rozpylania, co wiąże

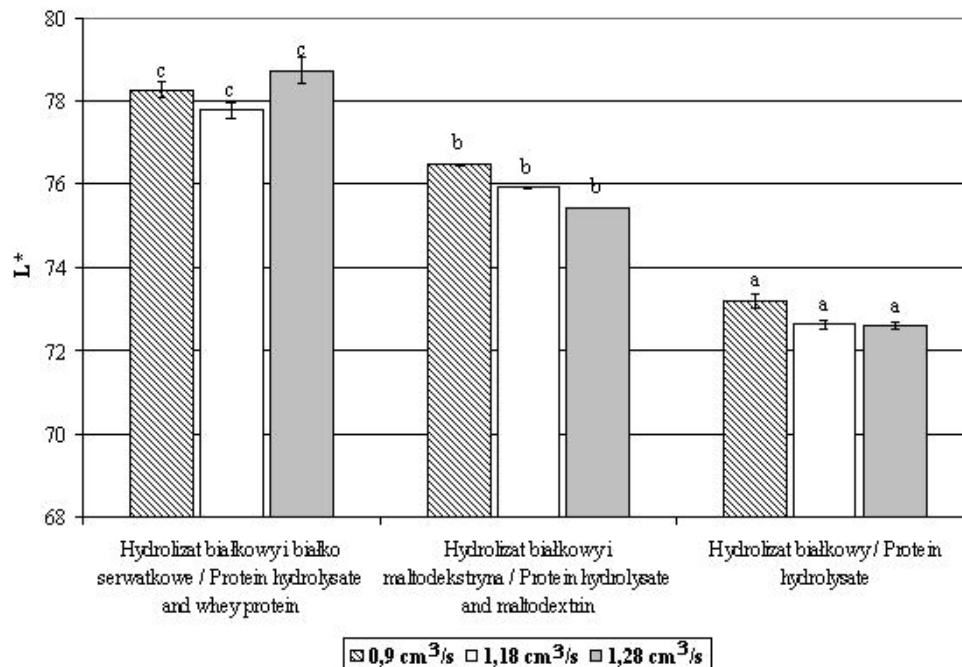
się z otrzymaniem większych cząstek proszków. Złoże cząstek proszku o większych wymiarach charakteryzuje się większą ilością pustych przestrzeni, a to z kolei wpływa na spadek gęstości luźnej złoża.

Dodatkowo, wzrost gęstości luźnej mógł być spowodowany większym zróżnicowaniem wymiarów cząstek proszku, a to spowodowało „ciaśniejsze” upakowanie złoża, zmniejszenie jego porowatości i gęstości luźnej. Potwierdza to także Peleg [13], uzależniając taką sytuację od różnorodności wielkości cząstek i ich upakowania w złożu. Im większa różnorodność wielkości cząstek, tym większa gęstość luźna.

Gęstość pozorna uzyskanych proszków była największa, gdy suszono sam hydrolyzaty i wynosiła ok. 1800 kg/m^3 , a najmniejsza w przypadku materiałów zawierających białko serwatkowe jako nośnik (ok. 1070 kg/m^3) (tab. 1). Wartości te świadczą o tym, że cząstki proszku samego hydrolyzatu, charakteryzujące się największymi wielkościami cząstek, były jednocześnie najbardziej „zbite”, miały najmniejszą porowatość wewnętrzną. Tak jak w przypadku gęstości nasypowych, nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu strumienia podawania na gęstość pozorną.

Porowatość złoża proszków wykazała zbliżone wartości w przypadku proszków z dodatkiem nośników, z dodatkiem maltodekstryny przyjmowała wartości 0,65 - 0,67, z dodatkiem białka serwatkowego 0,68 - 0,69. Największą porowatością, która mieściła się w granicach 0,83 - 0,84, charakteryzowały się proszki otrzymane w wyniku suszenia samego hydrolyzatu. Porowatość jest parametrem zależnym od gęstości luźnej i pozornej proszku. Im większa gęstość luźna złoża, tym porowatość niższa. Jest to związane z mniejszą liczbą porów między cząstkami proszków. Taka rozbieżność w wynikach była spowodowana wielkością otrzymanych cząstek. Im większe cząstki proszku, które jednocześnie mają mało zróżnicowany rozkład granulometryczny, tym większą porowatość będzie wykazywało złoże. Na wielkość cząstek proszku miał wpływ strumień podawania. Im większy strumień podawania, przy stałej prędkości obrotowej dysku rozpyłowego, tym cząstki otrzymywane są większe, stąd też można się spodziewać większej porowatości.

Uzyskane współczynniki Hausnera, w zdecydowanej większości przekraczające wartość 1,4 (mieszczące się w przedziale 1,37 - 1,55), świadczą o tym, że otrzymane proszki charakteryzowały się złą sypkością i wykazywały właściwości proszków spójnych [2, 3]. Nie zanotowano w tym zakresie istotnych statystycznie różnic pomiędzy proszkami. Przy suszeniu rozpyłowym soku jabłkowego na bazie maltodekstryny i przy różnych prędkościach podawania współczynnik Hausnera był niższy niż 1,3, co świadczyło o dobrej sypkości [2]. Tak więc mała sypkość badanych proszków wynikała prawdopodobnie z obecności hydrolyzatu białkowego.

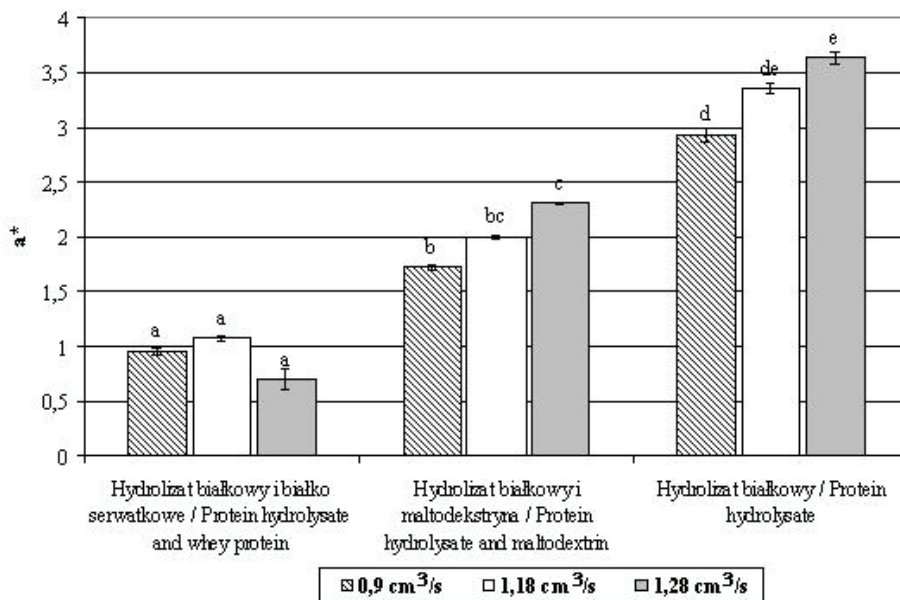


Objaśnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes - see Fig. 1.

Rys. 2. Wpływ strumienia podawania surowca i rodzaju nośnika na jasność proszków.

Fig. 2. Impact of feed flux and type of carrier on the brightness of powders.

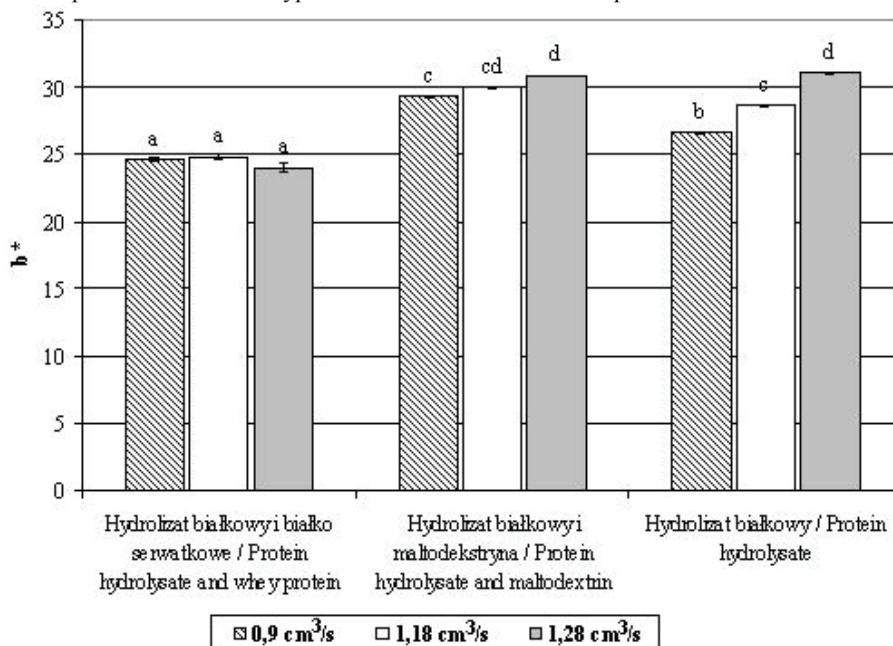
Proszki na bazie mieszaniny hydrolyzatu z białkiem serwatkowym odznaczały się większą jasnością (wartość parametru L^* około 78 %) oraz mniejszym udziałem barwy czerwonej (wartość parametru a^* 0,7 - 1) i żółtej (wartość parametru b^* 24 - 24,8), w porównaniu z proszkami na bazie mieszaniny z maltodekstryną, które osiągnęły wartość L^* w przedziale 75,4 - 76,5 %, a^* - 1,7 - 2,3 i b^* - 29,3 - 31. Proszki bez dodatku nośnika charakteryzowała najniższa jasność, na poziomie 73 %, najwyższy udział barwy czerwonej (2,9 - 3,6) oraz zbliżony do pozostałych proszków udział barwy żółtej (26,5 - 31). Zaobserwowano wzrost udziału barwy żółtej i czerwonej oraz zmniejszenie jasności proszków samego hydrolyzatu oraz hydrolyzatu z dodatkiem maltodekstryny wraz ze wzrostem strumienia podawania (rys. 2, 3 i 4). W hydrolyzacie z dodatkiem białka serwatkowego nie zaobserwowano wpływu strumienia podawania na wartości parametru jasności i parametry chromatyczności. Parametry barwy były w dużej mierze uzależnione od rodzaju nośnika, który został dodany do roztworu przed suszeniem. Proszki otrzymane po suszeniu samego hydrolyzatu nie były rozjaśniane poprzez dodatek nośników, stąd ich niższa jasność i wyższe wartości parametrów barwy czerwonej.



Objaśnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes see Fig. 1.

Rys. 3. Wpływ strumienia podawania surowca i rodzaju nośnika na barwę czerwoną proszków.

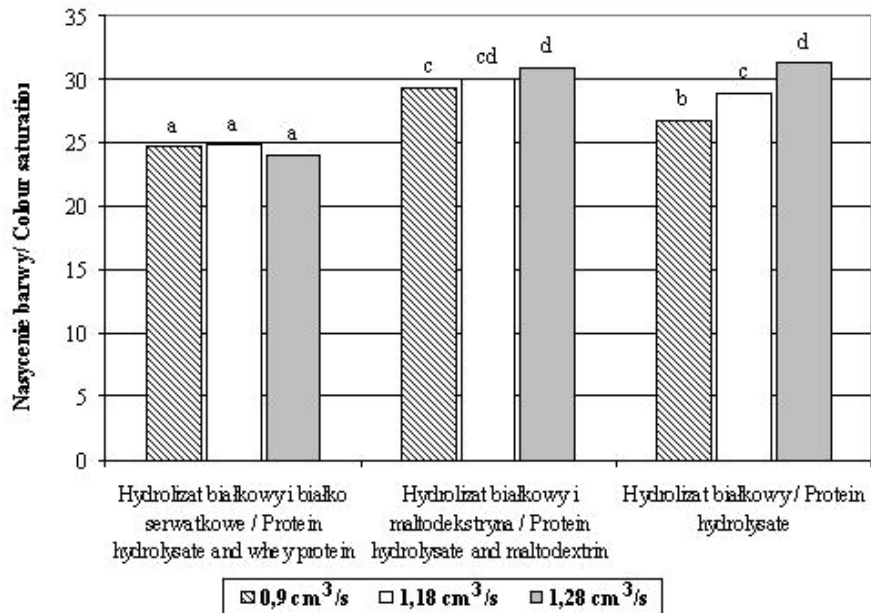
Fig. 3. Impact of feed flux and type of carrier on the red colour of powders.



Objaśnienia jak na rys. 1 / Explanatory notes - see Fig. 1.

Rys. 4. Wpływ strumienia podawania surowca i rodzaju nośnika na barwę żółtą proszków.

Fig. 4. Impact of feed flux and type of carrier on the yellow colour of powders.



Objaśnienia jak na rys. 1 / Explanatory notes - see Fig. 1.

Rys. 5. Wpływ strumienia podawania surowca i rodzaju nośnika na nasycenie barwy proszków.

Fig. 5. Impact of feed flux and type of carrier on the colour saturation of powders.

Podobne zależności opisali Quek i wsp. [16] podczas suszenia soku z arbuza. Dodatek maltodekstryny w ilości większej niż 10 % skutkowało utratą charakterystycznej, a zarazem pożądanej, czerwono-pomarańczowej barwy (proszek wykazywał wyższe wartości jasności). Także Papadakis i wsp. [12], obniżając udział procentowy maltodekstryny w roztworze z sokiem z rodzynek zaobserwowali obniżenie jasności oraz parametru b^* otrzymanego proszku.

Nasycenie barwy w przypadku dodatku maltodekstryny i samego hydrolizatu białkowego wzrastało wraz ze wzrostem prędkości strumienia podawania, a było stałe w przypadku dodatku białka serwatkowego (rys. 5). Zależności otrzymane w przypadku nasycenia były zbliżone do otrzymanych w odniesieniu do barwy żółtej, gdyż to wartość parametru b^* przeważała i to ona zdeterminowała nasycenie.

Wnioski

1. Wraz ze wzrostem strumienia podawania surowca wzrastała zawartość wilgoci w proszkach, co było związane ze spadkiem temperatury powietrza opuszczającego suszarkę. Największą zawartość wody, na poziomie powyżej 5 %, uzyskano

- przy dodatku maltodekstryny jako nośnika, najmniejszą, przekraczającą nieznacznie 2 %, charakteryzowały się proszki samego hydrolizatu.
2. Wartości gęstości nasypowej luźnej i utręsionej złoża nie zależały od strumienia podawania surowca, ale istotnie zależały od zastosowanego nośnika. Były najmniejsze w przypadku proszków samego hydrolizatu, a największe dotyczyły proszków zawierających maltodekstrynę.
 3. Gęstość pozorna uzyskanych proszków była największa, gdy suszono sam hydrolizat, a najmniejsza w przypadku materiałów zawierających białko serwatkowe. Cząstki proszku samego hydrolizatu charakteryzowały się więc najmniejszą porowatością wewnętrzną. Nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu strumienia podawania na gęstość pozorną.
 4. Uzyskane współczynniki Hausera, w zdecydowanej większości przekraczające wartość 1,4, świadczą o tym, że proszki charakteryzowały się nieodpowiednią sypkością i wykazywały właściwości proszków spójnych.
 5. W samym hydrolizacie oraz w hydrolizacie z dodatkiem maltodekstryny zaobserwowano wzrost udziału barwy żółtej i czerwonej oraz zmniejszenie się jasności proszków wraz ze wzrostem strumienia podawania.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura


- [1] Adamiec J., Marciniak E.: Microencapsulation of oil/matrix/water system during spray drying process, Proc. 11th Int. Drying Symp., 22-25 VIII 2004, Sao Paulo, CD-rom, vol C, 2043-2050.
- [2] Domian E., Bialik E.: Wybrane właściwości fizyczne soku jabłkowego w proszku. Acta Agroph., 2006, **8 (4)**, 803-814.
- [3] Domian E., Janowicz M., Kowalska H., Lenart A.: Sypkość białkowo-węglowodanowych mieszanin proszków spożywczych aglomerowanych w złożu fluidalnym. Inżynieria Rolnicza, 2005, **11 (71)**, 59-67.
- [4] Dzwolak W., Ziajka S., Kierunki wykorzystania hydrolizatów białkowych. Przem. Spoż., 1993, **11**, 298-300.
- [5] Ersus S., Yurdagel U.: Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. J. Food Eng., 2007, **3 (80)**, 805-812.
- [6] Flaczyk E.: Zalety technologiczne i żywieniowe hydrolizatów białkowych. Cz.1: Otrzymywanie i charakterystyka chemiczna. Przem. Spoż., 1997, **3 (51)**, 6-8, 31.
- [7] Flaczyk E.: Zalety technologiczne i żywieniowe hydrolizatów białkowych. Cz.2. Technologiczne i żywieniowe zalety hydrolizatów białkowych. Przem. Spoż., 1997, **4 (51)**, 43-45.
- [8] Flaczyk E., Korczak J.: Wielofunkcyjne właściwości hydrolizatów białkowych w produktach mięsnych. Gosp. Mięs., 1997, **12**, 30-33.
- [9] Goula A. M., Adamopoulos K. G.: Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. The effect on powder properties. J. Food Eng., 2005, **66**, 35-42.

- [10] Janiszewska E., Witrowa-Rajchert D.: Mikrokapsulacja aromatu rozmarynowego podczas suszenia rozpyłowego. *Postępy Techniki Przetw. Spoż.*, 2007, **2 (17)**, 33-36.
- [11] Klepacka M.: *Analiza żywności*. Wyd. Fundacja "Rozwój SGGW", Warszawa 2002.
- [12] Papadakis S. E., Gardeli Ch., Tzia C.: Spray drying of raisin juice concentrate. *Drying Technol.*, 2006, **24**, 173-180.
- [13] Peleg M.: Mixtures of food powders and particulates. In: *Encapsulated and powdered foods*. Ed. Ch. Onwulata, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2005, pp. 27-37.
- [14] PN-A-79011/3:1998. Koncentraty żywnościowe – metody badawcze – zawartość wody.
- [15] Poszytek K., Lenart A.: Wpływ aglomeracji na właściwości fizyczne kaszek mleczno-zbożowych w proszku dla dzieci. *Żywność. Nauka. Technol. Jakość*, 2005, **2 (43) Supl.**, 156-163.
- [16] Quek S. Y., Chok N. K., Swedlund P.: The physicochemical properties of spray-drying watermelon powders. *Chem. Eng. Proc.*, 2007, **46**, 386-392.
- [17] Rattes A.L.R., Oliviera W.P.: Spray drying conditions and encapsulating composition effects on formation and properties of sodium diclofenac microparticles. *Powder Technol.*, 2007, **171**, 7-14.
- [18] Szulc K., Lenart A.: Wpływ aglomeracji na właściwości użytkowe sproszkowanych modelowych odżywek dla dzieci. *Żywność. Nauka. Technol. Jakość*, 2007, **5 (54)**, 312-320.
- [19] Vallejo-Cordoba, B., Nakai, S., Powrie, W.D., Beveridge, T.: Extended shelf life of frankfurters and fish frankfurter-analogs with added soy protein hydrolysates. *J. Food Sci.*, 1987, **52**, 1133-1136.

IMPACT OF SPRAY DRYING PARAMETERS ON THE QUALITY OF PROTEIN HYDROLYSATE

S u m m a r y

In the paper, the results are presented of the spray drying process of protein hydrolysate, its mixture, and carriers. A maltodextrin (DE = 19) and whey protein were used as carriers. One value of the inlet air temperature (160 °C) and three raw material feed fluxes (0.9, 1.16, and 1.28 cm³/s) were applied. The highest moisture content in powders, above 5 %, was obtained when maltodextrin was added as a carrier, and the lowest, slightly exceeding 2 %, was found in the powders of the protein hydrolysate. It was found that the moisture content in powders increased with the rise in the feed flux. This was connected with the decrease in temperature of air leaving the dryer. The values of loose and tapped bed density did not depend on the feed flux, but they significantly depended on the carrier applied. The powders of the same hydrolysate showed the lowest values of those densities, whereas the powders containing maltodextrin – the highest. The increase in the density of tapped beds was about 50 % compared to loose bed density. The apparent density of powders was the highest when the protein hydrolysate was dried solo, and it was the smallest in the case of materials containing whey protein. Thus, the powder particles of protein hydrolysate were characterized by the lowest internal porosity. No statistically significant impact of the feed flux on the apparent density was reported. The Hausner coefficients obtained proved that the powders produced possessed the properties of coherent powders. The research into the colour of powders using L*a*b system showed that the addition of carriers caused the decrease in the content rates of yellow and red colours, and it strengthened the brightness of powders. In the sole hydrolysate and in the hydrolysate with maltodextrin added, it was found that the yellow and red colour content rates increased and the brightness of powders decreased with the increasing feed flux. The values of saturation were close to the values as obtained for the yellow colour, because this colour predominated in the powders produced and it determined the value of saturation.

Key words: protein hydrolysate, carriers, spray drying, feed flux, density, porosity, colour 

MACIEJ NASTAJ, WALDEMAR GUSTAW

WPLYW WYBRANYCH PREBIOTYKÓW NA WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE JOGURTU STAŁEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku oligofruktozy P95 oraz inuliny GR i HPX na właściwości reologiczne oraz wielkość synerезy jogurtu otrzymanego metodą termostatową. Oznaczano twardość, lepkość pozorną i wielkość synerезy jogurtów stałych. W celu określenia wpływu fruktooligosacharydów na przebieg fermentacji monitorowano ten proces przy użyciu reometru oscylacyjnego. W przypadku jogurtu kontrolnego tworzenie skrzepu rozpoczęło się po ok. 90 min, natomiast tworzenie się skrzepu w przypadku pozostałych jogurtów zaczęło się po ok. 105 min. Najmniejszą twardość miał jogurt kontrolny – 0,23 N. Natomiast największą uzyskał jogurt z dodatkiem inuliny HPX w ilości 3 % – 0,28 N. W przypadku jogurtów z dodatkiem P95 zaobserwowano nieco wyższą twardość w porównaniu z próbą kontrolną. Najmniejszą ilością wydzielanej serwatki charakteryzował się jogurt z dodatkiem 3 % P95. Generalnie wraz ze wzrostem dodatku fruktooligosacharydów malała wielkość synerезy w badanych jogurtach. Zastosowanie fruktooligosacharydów pozwala na otrzymanie jogurtów o odpowiednich właściwościach reologicznych i prozdrowotnych.

Słowa kluczowe: jogurt stały, inulina, fruktooligosacharydy, twardość, lepkość pozorną, synerезa

Wprowadzenie

Prebiotyki są określane jako składniki żywności nietrawione przez enzymy endogenne gospodarza - człowieka lub zwierzęcia, przechodzące w stanie nienaruszonym do jelita grubego, w którym są selektywnie fermentowane przez mikroflorę tego odcinka. Najpowszechniej stosowanymi prebiotykami są inulina i oligofruktoza. Związki te są polimerami D-fruktozy połączonej wiązaniami β -(2-1) glikozydowymi [14]. W wyniku ich fermentacji powstają krótkołańcuchowe kwasy (głównie octowy, propionowy, masłowy i mlekowy) powodujące obniżenie pH środowiska okrężnicy oraz wytworzenie gazów: CO₂, H₂, CH₄, które mogą stymulować perystaltykę jelit [4]. Po-

nadto związki te stymulują rozwój *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* w okrężnicy z jednoczesną redukcją zawartości bakterii *Clostridium perfringens* [10].

Jogurt jest jednym z najczęściej spożywanych mlecznych napojów fermentowanych. Produkt ten uważany jest przez większość konsumentów za doskonałe źródło składników odżywczych i prozdrowotnych [9]. Pomimo, że dobroczynne właściwości jogurtu znane są od dawna, naukowcy ciągle starają się poprawić jego właściwości funkcjonalne i dostarczyć nowych, atrakcyjnych dla konsumentów produktów na bazie jogurtu. Główny kierunek badań nad poprawą właściwości funkcjonalnych jogurtu dotyczy poprawy jego konsystencji i ograniczenia synerezy [6]. W celu ograniczenia tych wad stosowany jest dodatek polisacharydów, takich jak: karagen, guma guar, guma ksantanowa, mączka chleba świętojańskiego i mieszanin tych polisacharydów oraz białek mleka w postaci odtłuszczonego mleka w proszku (OMP), serwatki w proszku czy koncentratów białek serwatkowych [5, 6, 7].

W ostatnich latach zaczęto stosować dodatek różnego rodzaju prebiotyków do produktów mlecznych w celu dostarczenia do organizmu konsumenta substancji stymulujących rozwój specyficznych bakterii przewodu pokarmowego [10]. Dodatek inuliny do deserów mlecznych otrzymanych z OMP poprawiał również ich właściwości reologiczne i smakowe, podobną zależność stwierdzono w przypadku niskostłuszczowych jogurtów [12, 13].

Celem pracy było określenie wpływu dodatku fruktooligosacharydów – inuliny i oligofruktozy na właściwości reologiczne oraz wielkość synerezy jogurtu otrzymanego metodą termostatową.

Material i metody badań

Do badań użyto mleka pełnego w proszku (OSM Krasnystaw) oraz fruktooligosacharydów: oligofruktozy P95 i inuliny GR i HPX (ORAFIT Active Food Ingredients, Belgia). Do produkcji jogurtu użyto szczepionki YC-X11, Yo-Flex, *Thermophilus Lactic Culture* (CHR HANSEN, Polska).

Jogurt otrzymano zgodnie z wcześniej stosowaną metodyką [6, 7]. Prebiotyki dodawano w ilości 1, 2 i 3 %. Fermentację prowadzono do momentu uzyskania wartości pH na poziomie 4,8.

Wielkość synerezy oznaczano wagowo po około 24 h przechowywaniu jogurtu w temp. 4 °C.

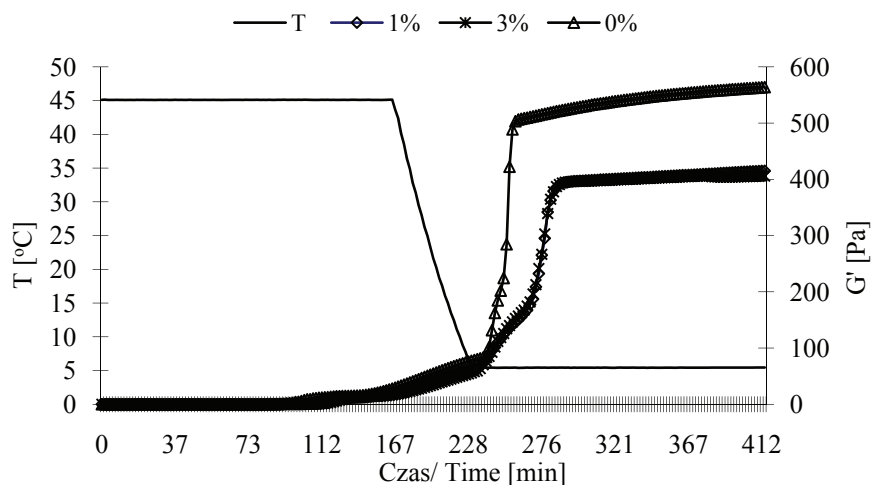
Twardość jogurtów oznaczano za pomocą analizatora tekstury TA-XT2i (Stable Micro Systems, UK) po około 24 h przechowywaniu w temp. 4 °C. Próbkę jogurtu o objętości 40 ml badano, stosując zmodyfikowany test TPA. Średnica trzpienia wynosiła 10 mm, a prędkość przesuwu głowicy analizatora 1 mm/s. Pomiarów wykonywano w 3 seriach po 6 powtórzeniach.

Badania lepkości otrzymanych jogurtów prowadzono za pomocą lepkościomierza Brookfield, model DV-II+ z przystawką Helipath (Brookfield Engineering Laboratories, USA). Zastosowano wrzeciono D, obroty 0,5 rpm, badanie odbywało się w temp. pokojowej. Pomiar wykonywano w 3 powtórzeniach.

Proces fermentacji jogurtów monitorowano podczas pomiarów przy użyciu reometru dynamicznego RS300 (ThermoHaake, Niemcy). Rejestrowano zmiany modułu zachowawczego (G') przy $f = 0,1$ Hz i odkształceniu 0,01. Pomiar prowadzono podczas ogrzewania w temp. 45 °C przez 4 h, a następnie przetrzymywania w temp. 5 °C przez 3 h.

Wyniki i dyskusja

Na rys. 1., 2. i 3. przedstawiono przebieg fermentacji jogurtu kontrolnego, jogurtów z dodatkiem oligofruktozy P95 oraz inuliny GR i HPX w ilości 1 i 3 %. Podczas inkubacji jogurtów w temp. 45 °C przez pierwsze 90 min procesu nie zauważono zmian wartości G' . Po upływie tego czasu zaobserwowano powstawanie skrzepu w przypadku jogurtu kontrolnego. Dodatek oligofruktozy P95 znacznie wydłużył czas powstawania skrzepu jogurtowego, który w przypadku jej 1 % zawartości wyniósł 106 min, a przy 3 % dodatku 109 min (rys. 1).



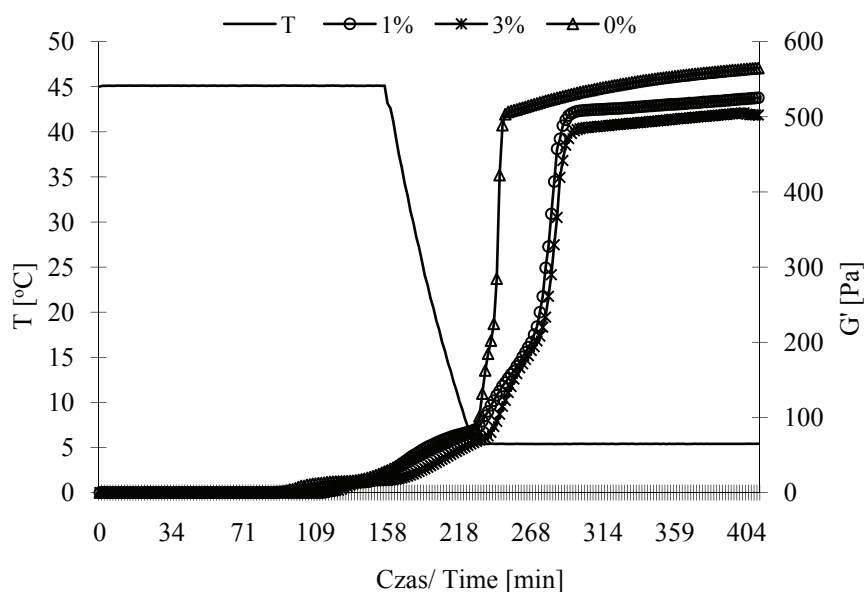
Rys. 1. Zmiany modułu zachowawczego G' podczas fermentacji i przechowywania jogurtu stałego otrzymanego z dodatkiem oligofruktozy P95.

Fig. 1. Changes in the G' storage modulus during fermentation and storage of set yoghurt produced with the addition of P95 fructooligosaccharide.

Również dodatek inuliny GR i HPX spowodował wydłużenie czasu potrzebnego do rozpoczęcia procesu powstawania skrzepu kwasowego. W przypadku inuliny GR

czas ten wynosił 102 (1 % GR) i 109 min (3 % GR) (rys. 2), natomiast jogurty z dodatkiem inuliny HPX zaczęły żelować po upływie 104 min (rys. 3). We wcześniejszych badaniach dotyczących wpływu dodatku różnych koncentratów białek serwatkowych również zaobserwowano wydłużenie czasu początku tworzenia skrzepu jogurtowego [7]. Dłuższy czas potrzebny do zapoczątkowania procesu żelowania w obecności polisacharydów mógł wynikać po części z wyższej wartości pH mleka po dodaniu prebiotyków, jak i możliwości częściowego utrudniania skutecznego łączenia się ze sobą miceli kazeinowych.

Wartość modułu G' wyraźnie wzrastała podczas dalszej fermentacji wszystkich badanych jogurtów (rys. 1 - 3). Skrzep jogurtowy był coraz mocniejszy, a procesu żelowania nie przerwało nawet ochłodzenie badanych jogurtów do temp. 5 °C. Skrzep jogurtu kontrolnego przetrzymywany w takich warunkach miał końcową wartość G' na poziomie ok. 560 Pa, a po zakończonej fermentacji około 500 Pa. W przypadku jogurtów otrzymanych z dodatkiem P95 skrzepy były słabsze od jogurtu kontrolnego, a zmiany modułu G' podczas przechowywania w temp. 5 °C były niewielkie (rys. 1).

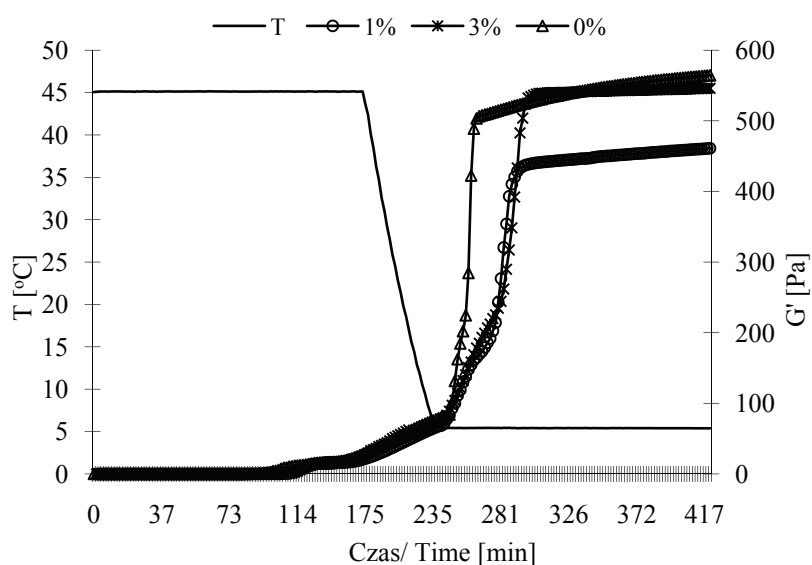


Rys. 2. Zmiany modułu zachowawczego G' podczas fermentacji i przechowywania jogurtu stałego otrzymanego z dodatkiem inuliny GR.

Fig. 2. Changes in the G' storage modulus during fermentation and storage of set yoghurt produced with the addition of GR inulin.

Jogurty otrzymane z dodatkiem inuliny GR również miały niższe wartości końcowe G' w porównaniu z jogurtem kontrolnym (rys. 2). W przypadku jogurtów otrzy-

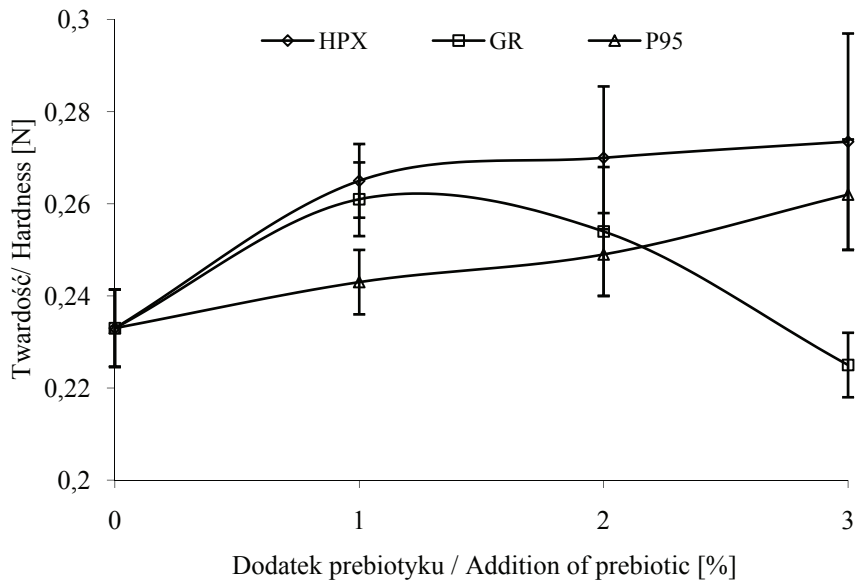
many z inuliną HPX, jogurt otrzymany z 3 % dodatkiem inuliny miał podobne właściwości reologiczne do jogurtu kontrolnego, natomiast przy 1 % dodatku tego polisacharydu zanotowano wyraźnie niższe wartości modułu zachowawczego (rys. 3). Wyraźnie słabsze skrzepy jogurtowe z dodatkiem inulin GR, HPX i oligofruktozy P95 w porównaniu z jogurtem kontrolnym mogły wynikać z niepełnego uwodnienia się polisacharydów, co miało miejsce przy dłuższym czasie przechowywania (wyniki pomiaru twardości i lepkości jogurtów). Zastosowanie inuliny w jogurtach niskotłuszczowych również spowodowało niewielkie zmniejszenie wartości końcowej modułu zachowawczego w porównaniu z jogurtem o standardowej zawartości tłuszczu [3].



Rys. 3. Zmiany modułu zachowawczego G' podczas fermentacji i przechowywania jogurtu stałego otrzymanego z dodatkiem inuliny HPX.

Fig. 3. Changes in the G' storage modulus during fermentation and storage of set yoghurt produced with the addition of HPX inulin.

Wpływ wielkości dodatku prebiotyku na twardość jogurtów stałych przedstawiono na rys. 4. Twardość jogurtu kontrolnego wynosiła ok. 0,23 N. Obecność oligofruktozy P95 poprawiała teksturę jogurtów wraz ze zwiększaniem dodatku tego polisacharydu. W przypadku inuliny GR najlepszy efekt zanotowano przy 1 % jej dodatku (wzrost twardości do ok. 0,26 N), przy większych dodatkach twardość jogurtów uległa wyraźnemu zmniejszeniu i przy 3 % dodatku była mniejsza od twardości jogurtu kontrolnego. Zastosowanie inuliny w jogurtach o standardowej i obniżonej zawartości tłuszczu spowodowało wzrost twardości badanych jogurtów [3]. Wyniki innych autorów są sprzeczne, jedni podają że po dodaniu inuliny żel jogurtowy był słabszy, a inni, że twardość skrzepu jogurtowego wzrastała [2, 8].

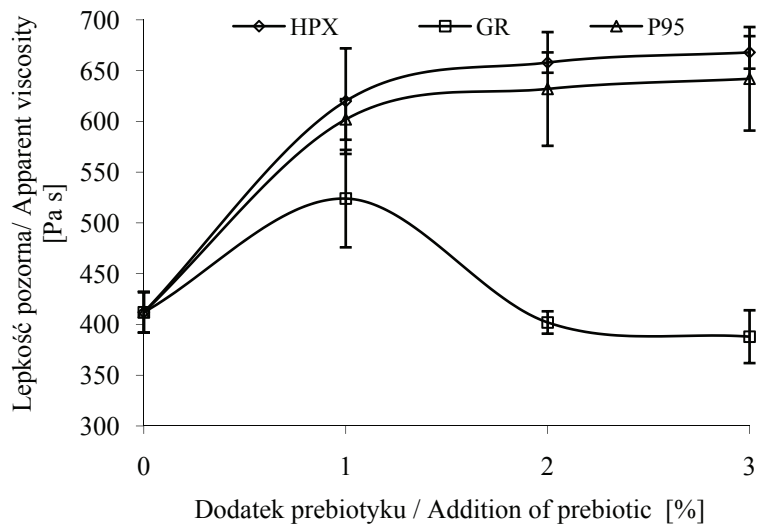


Rys. 4. Wpływ dodatku prebiotyków na twardość jogurtów stałych.

Fig. 4. Effect of the addition of prebiotics added on the hardness of set yoghurts.

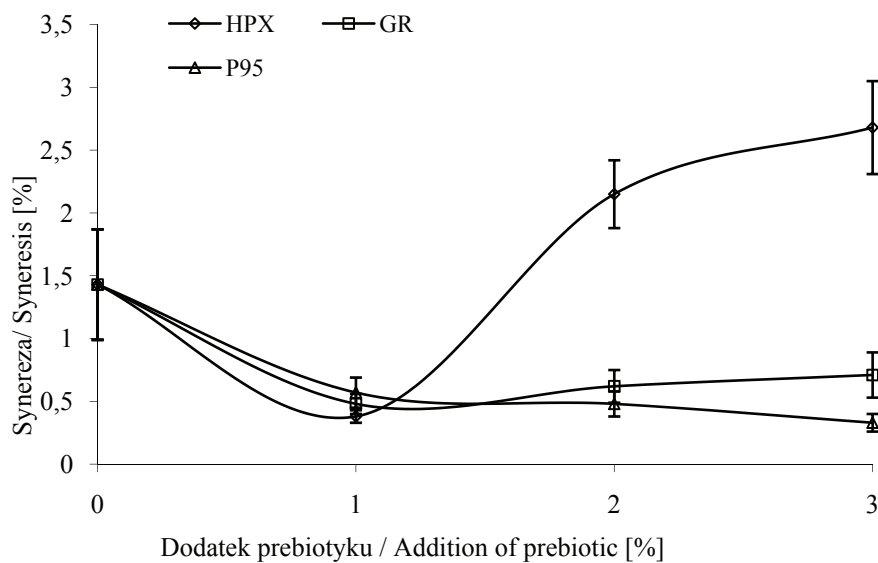
Lepkość pozorna badanych jogurtów stałych wzrastała po dodaniu inulin i oligofruktozy (rys. 5). Najwyższą lepkością charakteryzował się jogurt otrzymany z dodatkiem inuliny HPX, niewiele niższe wartości zanotowano w przypadku jogurtów z dodatkiem inuliny P95. W przypadku obu tych substancji obserwowano niewielki przyrost lepkości wraz ze wzrostem dodatku prebiotyku. Dodatek inuliny GR spowodował wzrost lepkości tylko przy 1 % zawartości prebiotyku, dalszy wzrost ilości inuliny GR spowodował wyraźny spadek lepkości pozornej do wartości niższych od lepkości zanotowanej w przypadku jogurtu kontrolnego (rys. 4). Wyniki te są zbieżne z wynikami otrzymanymi w przypadku jogurtów otrzymanych z dodatkiem różnych inulin [1]. Zastosowanie inuliny jako zamiennika tłuszczu w jogurtach spowodowało niewielkie zmniejszenie lepkości jogurtów niskotłuszczowych w porównaniu z jogurtami z pełną zawartością tłuszczu [3].

Z jogurtu kontrolnego po przechowywaniu przez 24 h, wydzielila się serwatka w ilości 1,5 % (rys. 6). Dodatek wszystkich badanych polisacharydów w ilości 1 % ograniczył wielkość synerезy, jednak wraz ze wzrostem dodatku inuliny HPX i GR synerезa wyraźnie zwiększyła się szczególnie w przypadku inuliny HPX (rys. 6). Zastosowanie wyższego dodatku oligofruktozy P95 spowodowało powolne zmniejszenie wielkości synerезy jogurtów stałych.



Rys. 5. Wpływ dodatku prebiotyków na lepkość pozorną jogurtów stałych.

Fig. 5. Effect of the addition of prebiotics on the apparent viscosity of set yoghurts.



Rys. 6. Wpływ dodatku prebiotyków na wielkość synerazy jogurtów stałych.

Fig. 6. Effect of prebiotics added on the syneresis extent of set yoghurts.

Prawdopodobnie P95 i GR mają większą zdolność wiązania wody w porównaniu z inuliną HPX. Zastosowanie inuliny w ilości 2 % spowodowało zwiększenie wycieku serwatki w jogurtach niskotłuszczowych. Dopiero przy jej 6 % dodatku zauważono wyraźne zmniejszenie wielkości synerезy [3]. Podobnie przy 0,5 % dodatku inuliny do jogurtu probiotycznego zaobserwowano wzrost wielkości synerезy w porównaniu z jogurtem kontrolnym [15]. Lucey i wsp. [11] twierdzą, że obecność długołańcuchowych polisachrydów, takich jak inulina, może powodować rozluźnienie skrzepu kazeinowego, a w związku z tym ma on mniejsze zdolności wiązania wody.

Prebiotyki, takie jak inulina i oligofruktoza, mogą być z powodzeniem stosowane w produkcji jogurtów stałych. Wprawdzie po ich dodaniu wydłuża się czas ukwaszania mleka, jednak nie powodują one pogorszenia właściwości reologicznych skrzepu jogurtowego i ograniczają wyciek serwatki.

Wnioski

1. Dodatek inuliny i oligofruktozy spowodował wydłużenie czasu ukwaszania mleka podczas produkcji jogurtów stałych.
2. Zwiększanie dodatku inuliny HPX i oligofruktozy P95 powodowało wzrost twardości i lepkości jogurtów stałych. Inulina GR polepszała właściwości reologiczne jogurtów tylko przy 1 % dodatku.
3. Oligofruktoza P95 i inulina GR ograniczały synerезę jogurtów stałych.
4. Inuliny GR i HPX oraz oligofruktoza mogą być stosowane w produkcji jogurtów stałych, ponieważ poprawiają ich właściwości reologiczne i ograniczają synerезę.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Aryana, K. J., McGrew P.: Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT*, 2007, **40**, 1808-1814.
- [2] Bozanic R, Rogelj I, Tratnik L.: Fermentation and storage of probiotic yogurt from goat milk. *Mliječarstvo* 2002, **52 (2)**, 93-111.
- [3] Brennan C.S, Tudorica C.M.: Carbohydrate-based fat replacers in the modification of the rheological, textural and sensory quality of yoghurt: comparative study of the utilisation of barley beta-glucan, guar gum and inulin. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2008, **43**, 824-833.
- [4] Florkowska A., Krygier K.: Zastosowanie nietrawionych oligosacharydów w produktach spożywczych. *Przem. Spoż.*, 2004, **5**, 44-47.
- [5] Glibowski P., Krępacka A.: Wpływ dodatku preparatów serwatki na właściwości reologiczne jogurtów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1 (46)**, 74-82.
- [6] Gustaw, W., Nastaj M., Sołowiej B.: Wpływ wybranych hydrokoloidów na właściwości reologiczne jogurtu stałego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5 (54)**, 274-282.

- [7] Gustaw, W., Nastaj M.: Wpływ dodatku wybranych koncentratów białek serwatkowych (WPC) na właściwości reologiczne jogurtów otrzymanych metodą termostatową. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **1 (50)**, 56-63.
- [8] Ipsen R, Otte J, Lozahic G, Qvist KB.: Microstructure and viscosity of yoghurt with inulin added as a fat replacer. *Ann Trans Nord Rheol Soc.*, 2000-2001, **(8/9)**, 59-62.
- [9] Kip P, Meyer D., Jellema R.: Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. *Inter. Dairy J.*, 2006, **16 (9)**, 1098-1103.
- [10] Kruse, H.-P., Kleessen, B., Blaut, M.: Effect of inulin on faecal bifidobacteria in human subjects. *Br. J. Nutr.*, 1999, **82**, 375-382.
- [11] Lucey JA, Tamehana M, Singh H, Munro PA.: A comparison of formation, rheological properties and microstructure of acid skim milk gels made with a bacterial culture or glucono- δ -lactone. *Food Res. Inter.*, 1998, **31(2)**, 147-55.
- [12] Spiegel, J. E., Rose, R., Karabell, P., Frankos, V. H., Schmitt, D. F.: Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. *Food Technol.*, 1994, **48**, 61-65.
- [13] Tárrega A., Costell E.: Effect of inulin addition on rheological and sensory properties of fat-free starch-based dairy desserts. *Int. Dairy J.*, 2006, **9**, 1104-1112.
- [14] Van Loo J., Coussement P., de Leenheer L., Hoebregs H., Smiths G.: On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. *Crit. Rev Food Sci. Nutr.*, 1995, **35 (6)**, 525-552.
- [15] Vasiljevic T., Kealy T., Mishra V.K.: Effects of β -glucan addition to a probiotic containing yogurt. *J. Food Sci.*, 2007, **72 (7)**, C405-C411.

EFFECT OF SOME SELECTED PREBIOTICS ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF SET YOGHURT

S u m m a r y

The objective of this paper was to determine the effect of the additions of P95 fructooligosaccharide and GR and HPX inulins on the rheological properties and the syneresis extent of yoghurt produced using a thermostat method. The hardness, apparent viscosity, and syneresis extent of set yoghurts were determined. In order to determine the effect of fructooligosaccharides on the course of fermentation process, this process was monitored using an oscillatory rheometer. In the case of control sample of yoghurt, the curd began to form ca. 90 minutes after the process started whereas, in the case of all other yoghurts, the curd started to form after about 105 min. The control sample of yoghurt had the lowest hardness value of 0.23 N. The yoghurt with the HPX inulin added in the amount of 3 % had the highest hardness: 0.28 N. As for the yoghurts with P95 inulin added, a slightly higher value of hardness was reported compared to the control sample. The lowest amount of whey excreted was found in the case of yoghurt with the added 3 % amount of P95. Generally, for all of the yoghurts examined, the syneresis extent decreased with the increasing amounts of fructooligosaccharides added. The application of fructooligosaccharides allows for manufacturing yoghurts characterized by proper rheological and pro-health properties.

Key words: set yoghurt, inulin, fructooligosaccharides, hardness, apparent viscosity, syneresis ☒

BARTOSZ SOŁOWIEJ, WALDEMAR GUSTAW, MACIEJ NASTAJ

WPLYW DODATKU KONCENTRATÓW BIAŁEK SERWATKOWYCH NA WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE ANALOGÓW SERÓW TOPIONYCH

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było otrzymanie analogów serów topionych, w których kazeinę kwasową zastąpiono częściowo koncentratem białek serwatkowych o różnej zawartości białka, oraz określenie właściwości reologicznych tych produktów. Twardość otrzymanych analogów serów topionych badano przy użyciu analizatora tekstury TA-XT2i próbnikiem cylindrycznym o średnicy 10 mm (prędkość przesuwu 1 mm/s, stała temperatura 21 °C). Pomiary lepkości analogów wykonywano za pomocą reometru rotacyjnego Brookfield DV II+ przy użyciu przystawki Helipath (F). Badania topliwości analogów serów topionych wykonywano w układzie płytka – płytka w zmiennej temperaturze od 30 do 80 °C, przy użyciu reometru oscylacyjnego RS 300. Określano zmiany wartości modułów: zachowawczego (G'), stratności (G'') i tg (δ).

Dodatek koncentratów białek serwatkowych (WPC 35 i WPC 65) powodował wzrost twardości analogów serów topionych w porównaniu z analogami otrzymanymi wyłącznie na bazie kazeiny kwasowej. Wzrost zawartości białka w serze, spowodowany dodatkiem koncentratów, przyczynił się do wzrostu lepkości analogów serów topionych. Obecność bezwodnego tłuszczu mlecznego miała wpływ na teksturę i właściwości reologiczne analogów serów topionych. W przypadku analogów serów topionych otrzymywanych na bazie kazeiny, zastosowanie preparatów serwatkowych (WPC 35 i WPC 65) może spowodować znaczne oszczędności surowca podstawowego i poprawę właściwości reologicznych produktu finalnego. Ponadto, wykorzystanie niskobiałkowych koncentratów białek serwatkowych tj. WPC 35 do otrzymywania analogów serów topionych umożliwia redukcję kosztów produkcji.

Słowa kluczowe: analogi serów topionych, koncentraty białek serwatkowych, reologia, twardość, lepkość

Wprowadzenie

Wysoka wartość odżywcza, strawność i przyswajalność oraz znaczna trwałość serów topionych wpłynęły na opracowanie nowych receptur, co w konsekwencji przyczyniło się do osiągnięcia różnorodności i bogactwa asortymentu [4]. Analogi sera

Dr inż. B. Sołowiej, dr inż. W. Gustaw, mgr inż. M. Nastaj, Katedra Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-950 Lublin

topionego poprzez swoje doskonałe właściwości żywieniowe i strukturalne mogą przyczynić się do zastąpienia tradycyjnego produktu nowym, równie dobrym, jak naturalny [9].

Optymalne zagospodarowanie składników serwatki w istotny sposób wpływa na zmniejszenie kosztów produkcji serów, twarogów i koncentratów z mleka. Rozwiązania takie przyczynia się w następstwie do większej opłacalności produkcji i mniejszego zagrożenia ekologicznego [3]. Koncentraty (WPC) i izolaty (WPI) białek serwatkowych są używane jako składniki żywności ze względu na wysoką wartość odżywczą i unikalne właściwości funkcjonalne [8, 17]. W ostatnich latach podjęto próby zastąpienia kazeiny przez preparaty białek serwatkowych w produkcji analogów serów topionych [7, 13, 21, 22].

Celem niniejszej pracy było otrzymanie analogów serów topionych, w których kazeinę kwasową zastąpiono częściowo koncentratem białek serwatkowych o różnej zawartości białka, oraz określenie właściwości reologicznych tych produktów.

Material i metody badań

Do badań użyto koncentratu białek serwatkowych: WPC 35 o zawartości białka 33,86 % (Laktopol sp. z o. o., Warszawa), WPC 65 o zawartości białka 65,43 % (MILEI GmbH, Leutkirch, Niemcy), WPC 85 o zawartości białka 75,42 % (Lacma sp. z o.o., Nadarzyn), kazeiny kwasowej KK (ZPK, Murowana Goślina), bezwodnego tłuszczu mlecznego (SM Mlekovita, Wysokie Mazowieckie), bezwodnego kwaśnego fosforanu disodowego i kwasu cytrynowego produkcji P.P.H. POCH w Gliwicach. Zawartość białka w koncentratkach białek serwatkowych oznaczano metodą Kjeldahla [2].

Proces produkcji analogu sera topionego

Sporządzano roztwory białek serwatkowych (WPC 35, WPC 65, WPC 85) 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 1, 2 i 3 % białek serwatkowych. Następnie dodawano roztopiony w temp. 45 °C bezwodny tłuszcz mleczny (30 %) i kazeinę (10 % - wartość stężenia stała dla każdego rodzaju wytwarzanego analogu sera). Całą mieszaninę umieszczano w pojemniku homogenizatora (H 500 Pol-Eko Aparatura, Polska). Mieszano przez 2 min przy 10000 obr./min. Następnie dodawano roztworu topnika (2 %), ustalano pH na poziomie 6,2 za pomocą kwasu cytrynowego przy użyciu pH-metru CP-315 firmy Elmetron i zanurzano 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 temperaturze pokojowej przez 30 min celem ostygnięcia, a następnie składowano

przez 21 h 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 dodawano odpowiednio 1, 2 i 3 % kazeiny. Proces produkcji analogów wzorcowych przebiegał tak samo, jak analogów z dodatkiem preparatów serwatkowych.

Test przebijania (puncture test)

Pomiary były dokonywane za pomocą teksturometru TA-XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Wielka Brytania). Próbki sera badano za pomocą próbnika cylindrycznego o \varnothing 10 mm, przy prędkości przesuwu głowicy 1 mm/s. Uzyskane wyniki (z 4 powtórzeń) rejestrowane były przez program Texture Expert version 1.22. W punktowym badaniu tekstury określano siłę potrzebną do zagłębienia się próbnika na 20 mm.

Reometria rotacyjna

Pomiarów dokonywano za pomocą reometru rotacyjnego Brookfield DV II+ (Stoughton, MA, USA) przy użyciu przystawki Helipath (F). Podczas pomiaru wrzeczono zanurzano w badanej próbce. Pomiarów dokonywano w stałej temp. 20 °C, przy stałej prędkości wrzeciona $V = 10$ obr./min. Wyniki (uzyskane z 4 powtórzeń) rejestrowano komputerowo, wykorzystując program Win Gather V1,0. W badaniach tych określano lepkość otrzymanych analogów serów topionych.

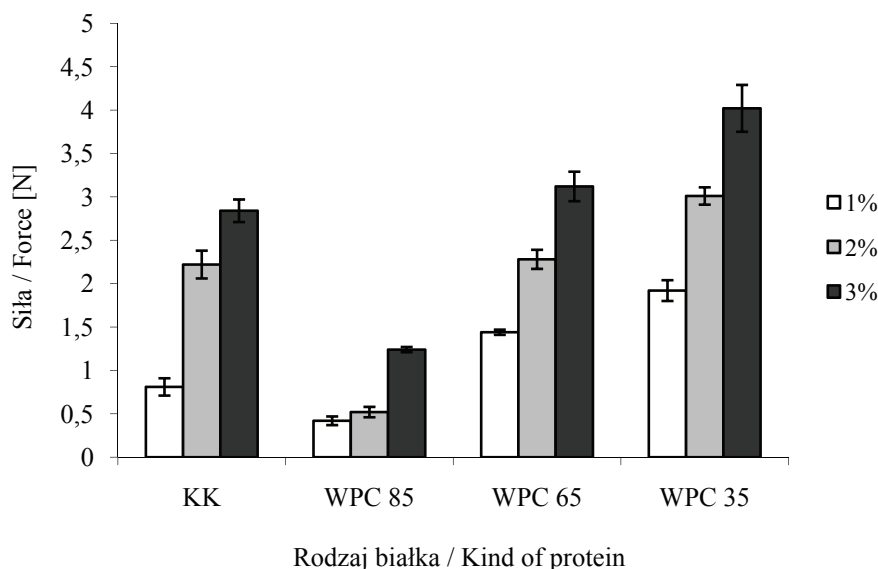
Reometria oscylacyjna

Pomiarów dokonywano przy użyciu reometru oscylacyjnego RS 300 (ThermoHaake, Karlsruhe, Niemcy) w układzie płytka – płytka. Badania topliwości analogów serów topionych wykonywano przy częstotliwości 0,1 Hz, przy odkształceniu $\gamma = 0,07$ w zmiennej temperaturze w zakresie od 30 do 80 °C. Określano zmiany wartości modułów: zachowawczego (G'), stratności (G'') i tg (δ). Wyniki (uzyskane z 3 powtórzeń) rejestrowano komputerowo wykorzystując program RheoWin Pro (ThermoHaake, Karlsruhe, Niemcy).

Wyniki i dyskusja

Wpływ stężenia i rodzaju koncentratów białek serwatkowych (WPC 35, WPC 65, WPC 85) na twardość analogów serów topionych zobrazowano na rys. 1. Badano zależność siły [N] potrzebnej do przebicia przez głowicę teksturometru próbki analogów sera topionego w zależności od czasu [s]. W przypadku wszystkich analogów serów topionych wraz ze wzrostem stężenia białka w produkcie obserwowano wzrost ich twardości, jednak twardość analogów z dodatkiem WPC 85 nie była satysfakcjonująca. Największą twardością charakteryzowały się analogi serów topionych otrzymane z 3 %

dotądkiem WPC 35 (4,02 N), do ich przebicia potrzebna była siła 4,02 N. Najmniejszą twardością charakteryzowały się natomiast analogi otrzymane z 1 % dodatkiem WPC 85 (0,42 N).



Rys. 1. Wpływ stężenia i rodzaju koncentratów białek serwatkowych na twardość analogów serów topionych.

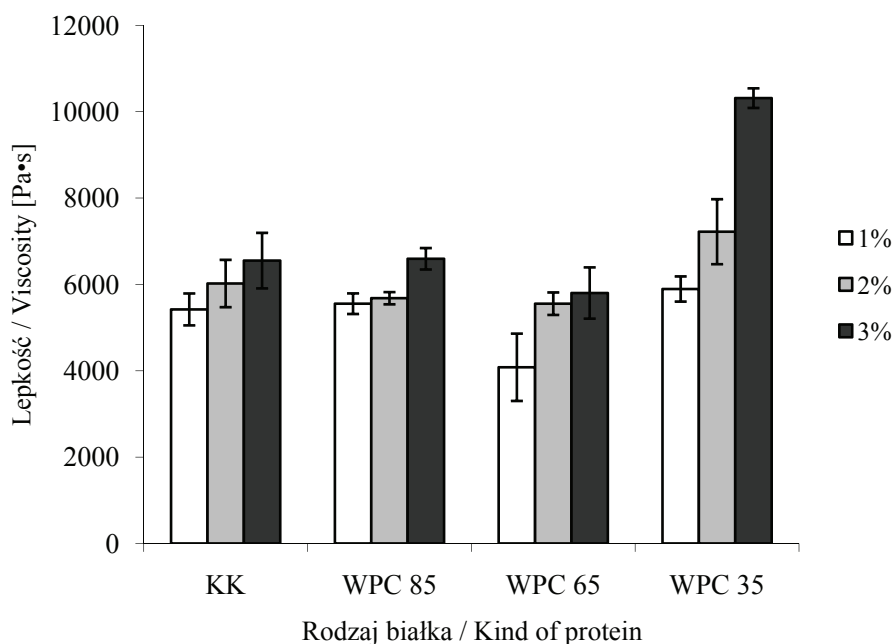
Fig. 1. Effect of the concentration and kind of whey proteins on the hardness of processed cheese analogs.

Częściowe zastąpienie kazeiny izolatami białek serwatkowych oraz koncentratami białek serwatkowych również powodowało wzrost twardości analogów serów topionych [13, 14, 20, 22]. Mleko [15] stwierdził, że białka serwatkowe prawdopodobnie współdziałają z matrycą białkową kazeiny, działając jako aktywny wypełniacz, albo tworząc razem z nią mieszany żel o mocniejszej strukturze. Natomiast Marshall [11] wykazał, że różnice stwierdzone w teksturze analogów serowych mogą być związane z intensywnością mieszania.

Wpływ stężenia i rodzaju koncentratów białek serwatkowych (WPC 35, WPC 65, WPC 85) na lepkość analogów serów topionych przedstawiono na rys. 2. W przypadku wszystkich analogów serów topionych wraz ze wzrostem stężenia białka w produkcie stwierdzono wzrost ich lepkości. Najwyższą lepkością charakteryzowały się analogi serów topionych otrzymane z 3 % dodatkiem WPC 35 (10313 Pa·s), natomiast najniższą - analogi otrzymane z 1 % dodatkiem WPC 65 (4080 Pa·s).

Potwierdzają to badania Abd-El-Salama i wsp. [1], Dimitreli i Thomareisa [6] i Sołowieja [20], którzy stwierdzili, że wzrost stężenia białka powodował wzrost lepkości

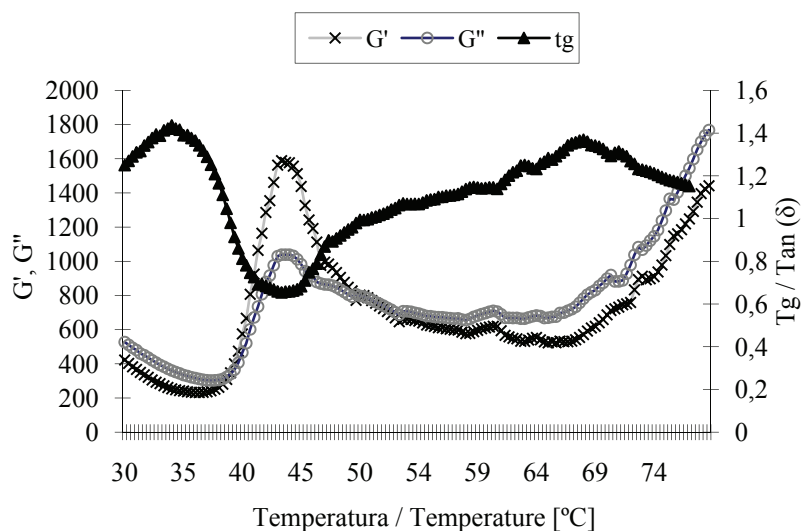
badanych serów i analogów serów topionych. Corredig i Dalgleish [5], badając wzajemne oddziaływania α -laktoalbuminy, β -laktoglobuliny i kazeiny dowiedli, że białka te łączą się podczas obróbki termicznej, powodując wzrost lepkości gotowego produktu.



Rys. 2. Wpływ stężenia i rodzaju koncentratów białek serwatkowych na lepkość analogów serów topionych.

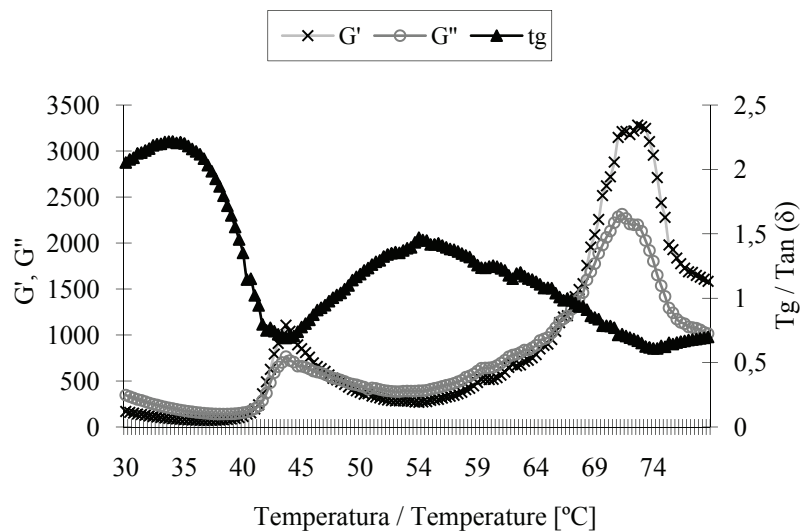
Fig. 2. Effect of the concentration and kind of whey proteins on the viscosity of processed cheese analogs.

Zmiany $\text{tg}(\delta)$, G' i G'' wraz ze wzrostem temperatury od 30 do 80 °C analogu otrzymanego z 2 % dodatkiem koncentratu białek serwatkowych (WPC 35) przedstawiono na rys. 3. W pierwszym etapie ogrzewania wartość $\text{tg}(\delta)$ wzrastała, a moduły: stratności i zachowawczego malała, co wskazywało na osłabienie struktury żelowej badanych analogów. W temp. 34 °C można było zauważyć zmniejszenie wartości $\text{tg}(\delta)$, natomiast w temp. 36 °C nastąpił gwałtowny wzrost modułu zachowawczego G' . W temp. 39 °C zaobserwowano przecięcie się krzywych G' i G'' i zmniejszenie wartości $\text{tg}(\delta)$ poniżej 1, co jednoznacznie świadczy o żelowaniu układu. W temp. 43 °C nastąpił ponowny spadek modułów: stratności i zachowawczego, jak również wzrost wartości $\text{tg}(\delta)$. W miarę dalszego ogrzewania układu w temp. 50 °C nastąpiło przecięcie się krzywych G' i G'' , a wartość $\text{tg}(\delta)$ wynosiła ponad 1, co może świadczyć o powstaniu układu lepkiego. Podczas dalszego ogrzewania wartość G' malała a $\text{tg}(\delta)$ wzrastała (rys. 3).



Rys. 3. Zmiany modułu G' , G'' i $\text{tg}(\delta)$ analogów serów topionych z 2 % dodatkiem WPC 35 przy stałej częstotliwości (0,1 Hz) w zależności od temperatury.

Fig. 3. Temperature-depending changes in the G' , G'' and $\text{tan}(\delta)$ moduli of processed cheese analogs containing 2 % of WPC 35 at a constant frequency (0.1 Hz) .



Rys. 4. Zmiany modułu G' , G'' i $\text{tg}(\delta)$ analogów serów topionych z 2 % dodatkiem WPC 65 przy stałej częstotliwości (0,1 Hz) w zależności od temperatury.

Fig. 4. Temperature-depending changes in the G' , G'' and $\text{tan}(\delta)$ moduli of processed cheese analogs containing 2 % of WPC 65 at a constant frequency (0.1 Hz) .

W przypadku analogów z dodatkiem WPC 65 i WPC 85 otrzymano podobne zależności jak na rys. 3. Jednak w dalszej części wykresu w temp. 66 °C (WPC 65) nastąpił gwałtowny wzrost wartości modułów: zachowawczego i stratności oraz spadek wartości $\tan \delta$ poniżej 1, co może jednoznacznie świadczyć o powstaniu struktury żelowej układu (rys.4). W przypadku analogów z dodatkiem WPC 85 otrzymano bardzo podobne przebiegi krzywych (dane nie zamieszczone).

Mounsey i O’Riordan [16] stwierdzili wysoką korelację pomiędzy topliwością analogów serów topionych określoną testem empirycznym a maksymalną wartością $\tan \delta$. Ogrzewanie analogów powoduje zmianę proporcji między sprężystością a lepkością. Moduł zachowawczy (G') obrazuje jaka część energii zostaje zachowana przez układ w wyniku odkształcenia sprężystego w odróżnieniu od modułu stratności (G''), który wskazuje ile energii podczas odkształcenia zostało rozproszone w formie ciepła [19]. $\tan \delta$ kąta fazowego (δ) określa się jako iloraz modułu zachowawczego (G') i modułu stratności (G'') [16]. Lopez i wsp. [10] stwierdzili, że bezwodny tłuszcz mleczny zawarty w analogach topi się w temp. 40 – 41 °C. Z tego względu roztopiony tłuszcz częściowo wypełnia przestrzenie międzybiałkowe, zaś pozostała jego część zwiększa objętość próbki sera, powodując wzrost wartości modułów G' i G'' , a zarazem spadek wartości $\tan \delta$, co potwierdzają również badania Sołowieja i wsp. [22]. Powyżej temp. 64 °C stwierdzono wzrost wartości modułów: zachowawczego i stratności oraz spadek wartości $\tan \delta$ poniżej 1, co może jednoznacznie świadczyć o powstaniu struktury żelowej układu (rys. 4). Wynika to z faktu, że przy małej zawartości laktozy w koncentratkach i izolatach, podczas denaturacji białek serwatkowych, ulega przesunięciu ich temperatura żelowania [18]. W kontekście topliwości sery topione mogą być rozpatrywane jako dwuskładnikowy układ złożony z topliwej sieci kazeinowej i nietopliwej sieci utworzonej z białek serwatkowych. Prawdopodobnie w wyższej temperaturze jest możliwa agregacja białek serwatkowych lub interakcja pomiędzy białkami serwatkowymi a kazeiną, która powoduje wzrost sprężystości serów topionych [12].

Wnioski

1. Dodatek koncentratów białek serwatkowych (WPC 35 i WPC 65) powodował wzrost twardości analogów serów topionych w porównaniu z analogami otrzymanymi wyłącznie na bazie kazeiny kwasowej.
2. Wzrost zawartości białka w serze spowodowany dodatkiem koncentratów powodował wzrost lepkości analogów serów topionych.
3. Obecność bezwodnego tłuszczu mlecznego miała wpływ na teksturę i właściwości reologiczne analogów serów topionych.
4. Częściowa substytucja kazeiny białkami serwatkowymi (WPC 35, WPC 65) wpływa na poprawę cech reologicznych produktu finalnego i umożliwia jednocześnie redukcję kosztów produkcji.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Abd-El-Salam A., Khader A., Hamed A., Al Kamy A.F., El-Garawany G.A.: Effect of whey protein concentrate, emulsifying salts and storage on apparent viscosity of processed cheese spreads. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 1997, **25**, 281-288.
- [2] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official Methods of Analysis* (14th Ed.). 1984, Arlington, VA.
- [3] Bednarski W.: Doskonalenie technologii oraz organizacji przetwarzania serwatki w Polsce. *Przem. Spoż.*, 2001, **2**, 32-34, 44.
- [4] Cichosz G.: *Technologia serów topionych*. Oficyna Wydawnicza Hoże, Warszawa, 2000.
- [5] Corredig M., Dalgleish D.G.: The mechanisms of heat-induced interaction of whey proteins with casein micelles in milk. *Int. Dairy J.*, 1999, **9**, 233-236.
- [6] Dimitreli G., Thomareis A.S.: Effect of temperature and chemical composition on processed cheese apparent viscosity. *J. Food Eng.*, 2004, **64**, 265-271.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Kneifel W., Seiler A.: Water holding properties of milk protein products - A review. *Food Struct.*, 1993, **12**, 297-308.
- [10] Lopez C., Lavigne F., Lesieur P., Keller G., Ollivon M.: Thermal and structural behavior of anhydrous milk fat. 2. Crystalline forms obtained by slow cooling. *J. Dairy Sci.*, 2001, **84**, 2402-2412.
- [11] Marshall R.J.: Composition, structure, rheological properties and sensory texture of processed cheese analogues. *J. Sci. Food Agric.*, 1990, **50**, 237-252.
- [12] Mleko S., Lucey J.A.: Production and properties of processed cheese with reduced lactose whey. *Milchwissenschaft*, 2003, **58**, 9-10.
- [13] Mleko S., Foegeding E.A.: Physical properties of rennet casein gels and processed cheese analogs containing whey proteins. *Milchwissenschaft*, 2000, **55**, 513-516.
- [14] 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.
- [15] Mleko S.: Effect of pH on the microstructure and texture of whey protein concentrates and isolate gels. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1996, **46 (1)**, 63-72.
- [16] Mounsey J.S., O'Riordan E.D.: Empirical and dynamic rheological data correlation to characterize melt characteristics of imitation cheese. *J. Food Sci.*, 1999, **64**, 701-703.
- [17] Nastaj M., Gustaw W., Sołowiej B.: Właściwości reologiczne deserów otrzymanych z białek serwatkowych z dodatkiem różnych substancji słodzących. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5 (54)**, 283-291.
- [18] Rich L.M., Foegeding E.A.: Effects of sugars on whey protein isolate gelation. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 5046-5052
- [19] Schramm G.: *Reologia. Podstawy i zastosowania*. Ośrodek Wydawnictw Naukowych PAN, Poznań 1998.
- [20] 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.


- [21] Sołowiej B.: Analiza tekstury analogów serów topionych z dodatkiem preparatów serwatkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5 (54)**, 292-300.
- [22] Sołowiej B., Mleko S., Gustaw W.: Physicochemical properties of acid casein processed cheese analogs obtained with different whey products. *Milchwissenschaft*, 2008, **63**, 299-302.

EFFECT OF THE ADDITION OF WHEY PROTEIN CONCENTRATES ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF PROCESSED CHEESE ANALOGS

S u m m a r y

The objective of this study was to produce processed cheese analogs, in which the acid casein was partially replaced by a whey protein concentrate with various contents of protein, and to determine rheological properties of those products. The hardness of processed cheese analogs was tested using a TA-XT2i Texture Analyser and a 10 mm dia cylindrical sampler (the penetration rate was 1 mm/s, and the temperature of 21°C was constant). The viscosity of processed cheese analogs was measured using a Brookfield DV II+ rotational viscometer with a Helipath countershaft (F). The meltability of processed cheese analogs was measured using a RS 300 oscillatory rheometer with a parallel plate geometry (in the configuration: plate – plate), at a temperature varying from 30 to 80 °C. The changes in the storage modulus (G') and in the loss modulus (G''), and in $\tan(\delta)$ were determined.

The addition of whey protein concentrates (WPC 35 and WPC 65) caused the hardness of processed cheese analogs to increase compared to the analogs produced only on the basis of acid casein. The increase in the protein content in cheese caused by the addition of whey concentrates contributed to the increase in the viscosity of processed cheese analogs. The presence of anhydrous milk fat impacted the texture and rheological properties of processed cheese analogs. In the case of processed cheese analogs, produced on the basis of casein, the application of whey preparation (WPC 35 and WPC 65) can contribute to the essential savings of basic material and to the improvement of rheological properties of the final products. Moreover, the application of low protein concentrates, such as WPC 35, to obtaining processed cheese analogs makes it possible to reduce production costs.

Key words: processed cheese analogs, whey protein concentrates, rheology, hardness, viscosity 

JUSTYNA GROMADZKA, WALDEMAR WARDENCKI

DOBÓR OPTYMALNYCH PARAMETRÓW METODY UV-HS-SPME/GC/FID DO OCENY STABILNOŚCI OKSYDATYWNEJ OLEJÓW ROŚLINNYCH

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań był dobór optymalnych parametrów nowej metody diagnozowania jakości olejów na podstawie oznaczenia lotnych związków będących produktami reakcji utleniania tych olejów. Przed analizą próbki rafinowanych olejów roślinnych poddano procesowi przyspieszonego utleniania, stosując naświetlanie promieniowaniem ultrafioletowym (12 W, 254 nm). Jako technikę przygotowania próbki do analizy zastosowano mikroekstrakcję do fazy stacjonarnej z fazy nadpowierzchniowej (HS-SPME). Dobrano optymalne parametry tej techniki (włókno DVB/CAR/PDMS, objętość próbki 8 ml, czas i temperatura ekstrakcji odpowiednio 15 min i 30 °C). Wyznaczono również niektóre parametry walidacyjne. Precyzja i czułość metody, wyrażone jako współczynnik zmienności CV (< 10 %) i granica wykrywalności LOD (w przedziale 162 – 346 µg/kg), okazały się zadowalające dla tego typu oznaczeń. Oznaczenie składu próbek dokonano na podstawie czasów retencji substancji wzorcowych, stosując kapilarną chromatografię gazową z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (kolumna SPB-20, Supelco, 30 m x 0,25 mm x 1 µm).

Słowa kluczowe: oleje roślinne, naświetlanie promieniowaniem ultrafioletowym, związki lotne, produkty utleniania, analiza fazy nadpowierzchniowej, mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej (SPME)

Wprowadzenie

Tłuszcze roślinne stanowią jeden z ważniejszych składników diety, szczególnie oleje o wysokiej zawartości niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych – NNKT, takich jak kwas linolowy i linolenowy (słonecznikowy, rzepakowy, sojowy, oliwa) [18]. Związki te charakteryzują się wieloma walorami zdrowotnymi: przeciwdziałają chorobom serca i układu krążenia, utrzymują prawidłowy poziom cholesterolu we krwi, wykazują działanie przeciwkrzepliwe, wpływają na cykl metaboliczny komó-

rek, zapewniają optymalny rozwój mózgu i wzroku, zawierają prekursory witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A, E, D₃, K) [14].

Ze względu na dużą zawartość kwasów nienasyconych, oleje roślinne, pomimo wchodzących w ich skład naturalnych przeciwutleniaczy [22], są podatne na procesy utleniania tlenem atmosferycznym zarówno w reakcjach autooksydacji, jak i w procesach utleniania fotosensybilizowanego [3, 6]. Proces fotosensybilizowanego utleniania zachodzi szybciej niż autooksydacja, a różnice w reaktywności pomiędzy kwasami: oleinowym, linolowym i linolenowym są w przybliżeniu proporcjonalne do liczby występujących w nich wiązań podwójnych. Produkty tych procesów, a wśród nich lotne metyloketony, aldehydy, alkohole i krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe [21], wpływają na jakość oleju. Ilościowym markerem świeżości można uznać wzrost zawartości alkoholi sześciowęglowych i ketonów pięciowęglowych [2]. Jako wskaźnik procesów utleniania tłuszczu wykorzystuje się także wzrost zawartości aldehydów, m.in. heksanal i nonanal lub wręcz stosunek ilościowy heksanal do nonanal lub 2-*trans*-nonenal w badanej próbce, dlatego związki te wytypowano jako wzorce na etapie opracowania metody [9, 25]. Wiele powstających w trakcie przemian oksydacyjnych związków ma negatywny lub wręcz toksyczny wpływ na organizm człowieka. Dlatego zachodzi potrzeba opracowania szybkiej i czulej metody pozwalającej na wykrywanie tych lotnych związków.

Obiecującym rozwiązaniem może być zastosowanie jednej z technik analizy fazy nadpowierzchniowej. Wspomniane techniki są szybkie, uniwersalne, czułe, nie wymagają stosowania rozpuszczalników, dobrze nadają się do przygotowania próbek do analizy chromatograficznej [16]. W zastosowanej w pracy technice mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej SPME, opracowanej przez Arthura i Pawliszyna [1, 19], wykorzystuje się zjawisko sorpcji analitów z fazy napowierzchniowej na włóknie z krzemionki pokrytym warstwą polimeru, a następnie ich desorpcji w gorącym dozowniku chromatografu gazowego. SPME jest łatwą do praktycznego zastosowania techniką analizy próbek olejów roślinnych. Poprzez oznaczenie całkowitej ilości lotnych produktów degradacji lipidów można scharakteryzować zarówno olej surowy, jak i rafinowany. Metoda ta umożliwia również szybkie rozróżnienie olejów roślinnych, określenie ich czystości lub zafałszowania innymi olejami, a także pozwala śledzić zmiany zachodzące w trakcie przechowywania olejów [4, 17].

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania techniki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej z wcześniejszym naświetlaniem próbki promieniowaniem ultrafioletowym w celu przyspieszenia procesu utleniania do szybkiego i dokładnego oceniania jakości i stopnia świeżości olejów spożywczych.

Material i metody badań

Próbki i odczynniki

Surowcem wyjściowym do badań były oleje rafinowane: rzepakowy (Kujawski, Z.T. Kruszwica), słonecznikowy (Bartek, ZPT Warszawa), oraz sojowy (Perla, Casagiove, Italy) zakupione w lokalnym sklepie spożywczym. Substancje wzorcowe stosowane w celu identyfikacji analitów próbek rzeczywistych oraz na etapie doboru optymalnych parametrów reakcji ekstrakcji i analizy chromatograficznej: pentanal 87 % GC (Fluka), heksanal 97 % GC (Fluka), heptanal 95 % GC (Fluka), oktanal 98 % GC (Fluka), nonanal 95 % GC (Fluka), dekanal 95 % GC (Fluka), 2-*trans*-heptenal 96 % GC (Fluka), 2-*trans*-nonenal 97 % (Aldrich), dekan 98 % GC (Fluka), dodekan 98 % GC (Fluka). Roztwory substancji wzorcowych przygotowywano w heksanie (Merck) poprzez dodanie do rozpuszczalnika poszczególnych wzorców w celu uzyskania stężenia końcowego każdego z nich na poziomie 100 mg/kg. Tak przygotowane wzorce dodawano do próbek oleju bezpośrednio przed przystąpieniem do etapu ekstrakcji.

Przygotowanie próbek do analiz

Dobór optymalnych parametrów ekstrakcji i analizy prowadzono stosując roztwory wzorcowe, które przygotowywano poprzez dodatek do oleju odpowiedniej ilości mieszaniny wzorców w heksanie, tak aby uzyskać końcowe stężenie każdej z wzorcowych substancji na poziomie 100 mg/kg. Następnie fiołki z próbką szczelnie zamykano silikonowo-teflonową membraną i plastikową nakrętką. Tak przygotowane próbki poddawano termostatawaniu, a następnie ekstrakcji w temp. 40 °C przez okres odpowiednio 15 i 30 min. W trakcie termostatawania i ekstrakcji próbki mieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego. Następnie włókno z zaadsorbowanymi analitami umieszczano w dozowniku chromatografu (250 °C) i desorbowano przez 4 min.

Warunki naświetlania promieniowaniem UV

W celu przyspieszenia procesu utleniania próbki oleju naświetlano promieniowaniem ultrafioletowym, stosując dwie lampy rtęciowe niskociśnieniowe o mocy 2 x 6 W i maksimum emisji przy 254 nm (Cobrabid, Warszawa). Próbkę zawierającą 10 ml oleju umieszczano w kuwecie kwarcowej pod lampą i poddawano naświetlaniu przez określony czas (0-72 h).

Warunki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej z fazy nadpowierzchniowej HS-SPME

W badaniach ekstrakcji lotnych produktów reakcji utleniania zastosowano włókno pokryte mieszaną fazą diwinylobenzen/carboksen/polidymetylosiloksan (DVB/CAR/PDMS długość 2 cm, grubość fazy stacjonarnej 50/30 µm, Supelco, Belle-

fonte, PA, USA). Następnie wykorzystując mieszaninę substancji wzorcowych w heksanie dobierano optymalne warunki procesu ekstrakcji. Zbadano wpływ objętości próbki, temperatury termostatowania, czasu termostatowania i ekstrakcji, a także czasu i temperatury desorpcji zaadsorbowanych analitów z włókna do kolumny w dozowniku chromatografu.

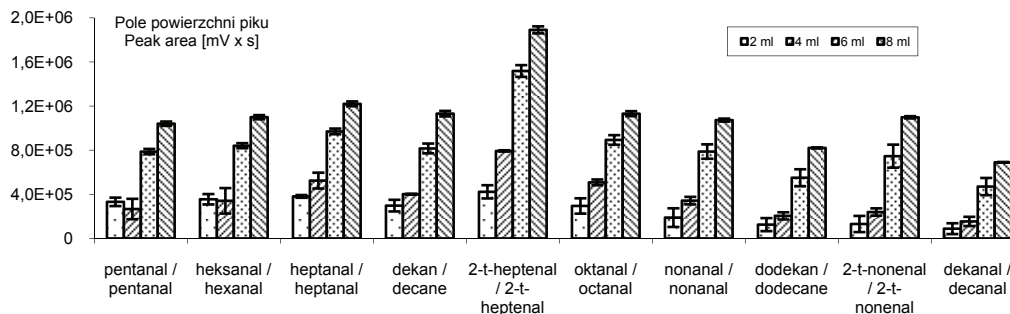
Analiza chromatograficzna

Analizy prowadzono z zastosowaniem chromatografu gazowego AutoSystem XL (Perkin Elmer) z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID). Gazem nośnym był hel o natężeniu przepływu 1 ml/min, temp. dozownika i detektora wynosiły odpowiednio 250 i 230 °C. Separację analitów prowadzono stosując kolumnę SPB-20 z fazą stacjonarną 20 % difenylo/80 % dimetylosiloksan (30 m × 0,25 mm × 1 µm, Supelco, Bellefonte, PA, USA). Analizę wykonywano w programowanej temperaturze: 50 °C (1 min), następnie przyrost 6 °C/min do 100 °C i kolejny przyrost 15 °C/min do 250 °C (2 min).

Wyniki i dyskusja

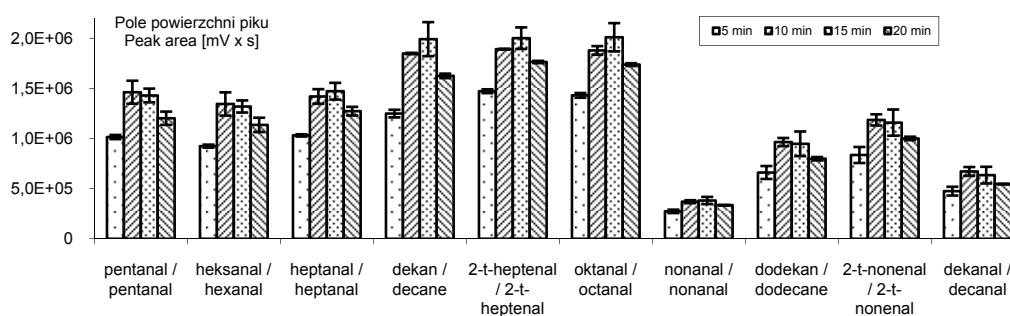
Pierwszym etapem badań było dobranie optymalnych warunków analizy chromatograficznej (ustalenie programu temperaturowego) i procesu mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej. Na podstawie studium literaturowego [2, 5, 8, 9, 12, 25] spośród szerokiej gamy faz stacjonarnych dostępnych na rynku wybrano włókno krzemionkowe pokryte fazą mieszaną diwinylobenzen/carboksen/polidymetylosiloksan. Umożliwia ono ekstrakcję analitów w szerokim zakresie stężeń, wykazuje najwyższą wydajność w stosunku do średnio lotnych substancji, jakimi w większości są produkty reakcji utleniania tłuszczów roślinnych [20].

Następnie dobrano objętość próbki w fiołce. Olej w ilościach 2, 4, 6 i 8 ml umieszczano w 15 ml fiołce szklanej, dodając mieszaniny wzorców, a następnie szczelnie zamykając silikonowo-teflonową membraną i plastikową nakrętką. Jak wynika z rys. 1. wzrost objętości próbki w fiołce powodował wzrost wydajności ekstrakcji analitów, jednak znaczący wzrost zaobserwowano dopiero przy 8 ml oleju i tę objętość próbki uznano za optymalną i stosowano w dalszych etapach badań. W przypadku technik analizy fazy nadpowierzchniowej najlepsze rezultaty ekstrakcji lotnych składników próbki osiąga się gdy faza gazowa stanowi 40 - 60 % objętości próbki, co potwierdziły przeprowadzone badania [20, 23].



Rys. 1. Wpływ objętości próbki na wydajność ekstrakcji analitów (15 min termostatowania, 20 min ekstrakcji w temp. 30 °C, 4 min desorpcji w temp. 250 °C).

Fig. 1. Impact of the sample volume on the extraction efficiency of analytes (15 min of equilibrium, 20 min of extraction at 30 °C, 4 min of desorption at 250 °C).



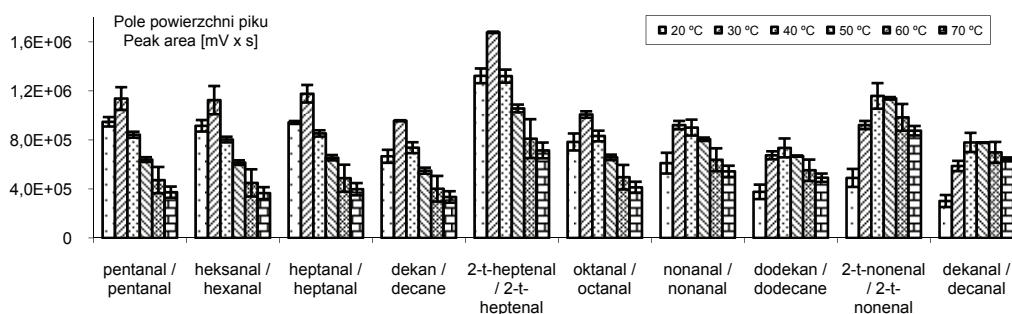
Rys. 2. Wpływ czasu termostatowania na wydajność ekstrakcji analitów (objętość próbki 8 ml, 20 min ekstrakcji w temp. 30 °C, 4 min desorpcji w temp. 250 °C).

Fig. 2. Impact of the equilibrium time on the extraction efficiency of analytes (sample volume: 8 ml, 20 min of extraction at 30 °C, 4 min of desorption at 250 °C).

Na wydajność procesu ekstrakcji znaczący wpływ ma czas termostatowania próbki przed ekstrakcją. W tym okresie dochodzi do ustalenia stanu równowagi pomiędzy lotnymi analitami rozpuszczonymi w ciekłej próbce a związkami znajdującymi się w fazie gazowej nad powierzchnią próbki. Analizując różny czas termostatowania w przedziale 5 – 20 min (rys. 2) stwierdzono, że zadowalająca równowaga pomiędzy analitami w fazie lotnej i gazowej następuje już po 10 min.

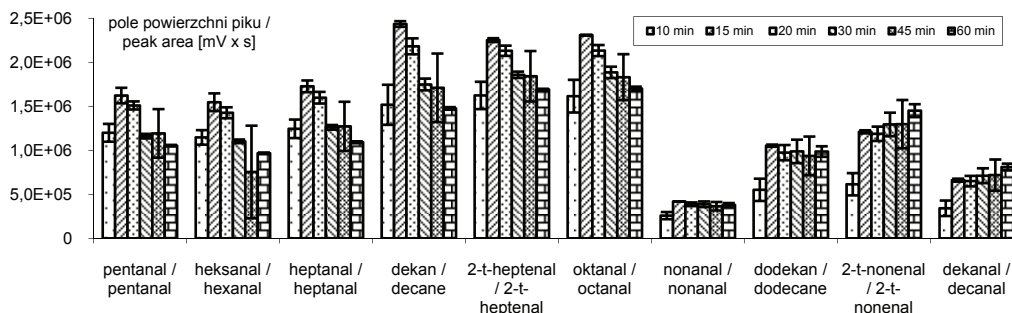
Istotny udział w procesie osiągnięcia równowagi między obiema fazami ma również temperatura. Wraz z jej wzrostem wzrasta wydajność ekstrakcji (więcej związków łatwiej przechodzi do fazy nadpowierzchniowej). Jednak olej jest substancją wrażliwą na działanie podwyższonej temperatury, która jest czynnikiem przyspieszającym proces utleniania lipidów [24]. Ważną kwestią jest więc dobranie optymalnej temperatury termostatowania, w której następnie prowadzi się również etap ekstrakcji analitów

z fazy nadpowierzchniowej do fazy stacjonarnej włókna. Wpływ temperatury na wydajność ekstrakcji zbadano w szerokim przedziale temperatur od 20 do 70 °C (rys. 3). Przeprowadzone badania wykazały, że zadowalające wyniki ekstrakcji techniką SPME można osiągnąć już w temp. 30 °C, co zapobiega generacji dodatkowych substancji w podwyższonej temperaturze, mogących fałszować wynik oceny stabilności oksydacyjnej i jakości badanego oleju.



Rys. 3. Wpływ temperatury ekstrakcji na wydajność ekstrakcji analitów (objętość próbki 8 ml, 15 min termostatowania, 20 min ekstrakcji w temp. 30 °C, 4 min desorpcji w temp. 250 °C).

Fig. 3. Impact of the extraction temperature on the extraction efficiency of analytes (sample volume: 8 ml, 15 min of equilibrium, 20 min of extraction at 30 °C, 4 min of desorption at 250 °C).



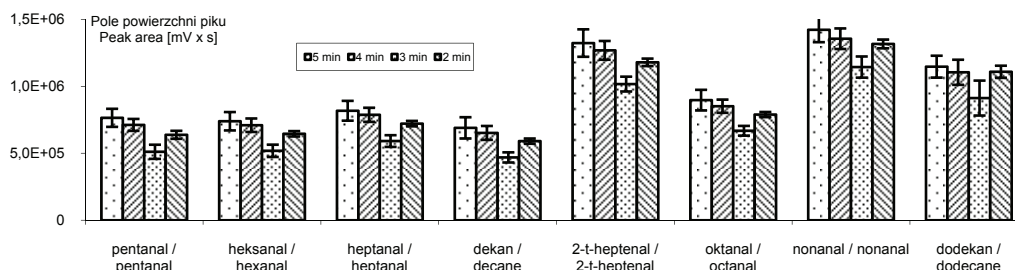
Rys. 4. Wpływ czasu ekstrakcji w 30 °C na wydajność ekstrakcji analitów (objętość próbki 8 ml, 15 min termostatowania w 30 °C, 4 min desorpcji w 250 °C)

Fig. 4. Impact of the extraction time at 30 °C on the extraction efficiency of analytes (sample volume: 8 ml, 15 min of equilibrium at 30 °C, 4 min of desorption at 250 °C).

Należało również dobrać optymalny czas prowadzenia procesu ekstrakcji. W tym celu próbki oleju zawierające mieszaninę substancji wzorcowych poddawano ekstrakcji w ciągu od 10 do 60 min. Pomimo, że technika SPME osiąga maksymalną czułość w stanie równowagi fazowej, jej osiągnięcie nie jest konieczne, ponieważ w warunkach nierównowagowych zachodzi liniowa zależność pomiędzy analitami zaadsorbo-

wanymi na włóknie i ich początkowym stężeniem w matrycy próbki [11]. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że dobre wyniki ekstrakcji osiąga się już po 15 min trwania tego procesu. Skrócenie czasu ekstrakcji z pierwotnie założonych 30 do 15 min (rys. 4.) znacząco skraca cały proces mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej. Jest to szczególnie istotne z analitycznego punktu widzenia, gdyż krótszy czas analizy pojedynczej próbki to jednocześnie większa liczba zanalizowanych próbek w jednostce czasu, co w przypadku serii analiz wykonywanych w laboratoriach kontroli jakości ma istotne znaczenie.

Ostatnim etapem tej części badań było dobranie optymalnych warunków desorpcji analitów z włókna do kolumny w dozowniku chromatografu. Na podstawie danych literaturowych [8, 11], zaleceń producenta włókna i własnych badań [7] jako temperaturę desorpcji przyjęto 250 °C. Czas desorpcji, podobnie jak w przypadku ekstrakcji, również pełni ważną rolę, ponieważ istotne jest, aby anality zaadsorbowane na włóknie zostały ilościowo wprowadzone do kolumny. Im grubsza jest warstwa sorbentu, tym bardziej efektywna jest ekstrakcja, szczególnie w przypadku mniej lotnych składników matrycy próbki, ale tym dłuższy czas desorpcji jest potrzebny do całkowitego przeniesienia analitów do kolumny chromatograficznej. Czas desorpcji badano w przedziale 5 - 2 min (rys. 5). Z przeprowadzonych badań wynika, że zmniejszanie czasu desorpcji powoduje niecałkowite uwolnienie analitów z włókna (obniżenie wydajności ekstrakcji), a tym samym przenoszenie ich do następnych analiz. Do dalszych analiz wybrano 4-minutowy okres desorpcji.



Rys. 5. Wpływ czasu desorpcji w temp. 250 °C na wydajność ekstrakcji analitów (objętość próbki 8 ml, 15 min termostatowania, 20 min ekstrakcji w temp. 30 °C).

Fig. 5. Impact of the desorption time at 250 °C on the extraction efficiency of analytes (sample volume: 8 ml, 15 min of equilibrium, 20 min of extraction at 30 °C).

Ostatecznie ustalone parametry procesu mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej do stacjonarnej włókna (HS-SPME) związków lotnych w olejach roślinnych zestawiono w tab. 1. Podobne parametry procesu ekstrakcji uzyskał Cavalli i współpracownicy, analizując lotne składniki francuskiej i hiszpańskiej oliwy [2].

Tabela 1

Optymalne warunki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (HS-SPME) związków lotnych z olejów roślinnych.

Optimal conditions of headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) of volatile compounds from edible oils.

Parametr ekstrakcji / Extraction parameter	Wartość optymalna / Optimal value
Faza stacjonarna włókna / Stationary phase of the fibre	DVB/CAR/PDMS,50/30 μ m, 2 cm
Objętość próbki / Sample volume	8 ml w 15 ml fiołce / 8 ml in a 15 ml vial
Czas termostatowania / Equilibrium time	10 min
Temperatura ekstrakcji / Extraction temperature	30 °C
Czas ekstrakcji / Extraction time	15 min
Temperatura desorpcji / Desorption temperature	250 °C
Czas desorpcji / Desorption time	4 min
Mieszanie próbki / Sample agitation	tak / yes

Kolejnym etapem badań była ocena możliwości detekcyjnych opracowywanej metody. W celu wyznaczenia granicy wykrywalności i oznaczalności oraz powtarzalności metody (LOD, LOQ, CV) przeprowadzono analizy próbek oleju zawierających mieszaninę substancji wzorcowych. Ekstrakcję prowadzono w zoptymalizowanych warunkach. Uzyskane wyniki zamieszczono w tab. 2. Precyzję metody wyrażono w formie współczynnika zmienności i określono na podstawie kolejnych 10 powtórzeń oznaczeń analitów o stężeniu na poziomie 450 μ g/kg, natomiast LOD i LOQ wyznaczono na podstawie krzywych wzorcowych wyznaczonych dla poszczególnych analitów [14, 15].

Powtarzalność lub inaczej precyzję charakteryzuje rozrzut uzyskanych wyników wokół wartości średniej. Jej miarą jest odchylenie standardowe rozumiane jako współczynnik zmienności $CV = RSD \cdot 100 \% = (SD/\text{średnia}) \cdot 100 \%$ [15].

Granica wykrywalności (LOD) jest najmniejszą ilością lub stężeniem substancji możliwym do wykrycia za pomocą danej metody czy też techniki analitycznej z określonym prawdopodobieństwem, natomiast granica oznaczalności (LOQ), to najmniejsza ilość lub stężenie substancji możliwe do ilościowego oznaczenia daną metodą analityczną z założoną dokładnością i precyzją [14].

Granice wykrywalności wszystkich analizowanych związków obliczono na podstawie odchylenia standardowego zbioru wyników i kąta nachylenia krzywej kalibracyjnej. Przy wyznaczaniu granicy wykrywalności posłużono się następującą zależnością:

$$LOD = 3,3 \cdot s/b,$$

gdzie: b – współczynnik kierunkowy krzywej kalibracyjnej,
 s – odchylenie standardowe obliczone z równania:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{n-2}}$$

gdzie: y_i – wartości sygnałów danych zawartości analitu, na podstawie których wyznaczono krzywą kalibracyjną,
 Y_i – wartości sygnałów danych zawartości analitu obliczone na podstawie uzyskanej krzywej kalibracyjnej,
 n – liczba roztworów wzorcowych poddanych oznaczeniu w celu wyznaczenia krzywej kalibracyjnej.

Natomiast jako granicę oznaczalności przyjęto trzykrotną wartość granicy wykrywalności: $LOQ = 3 \cdot LOD$

Tabela 2

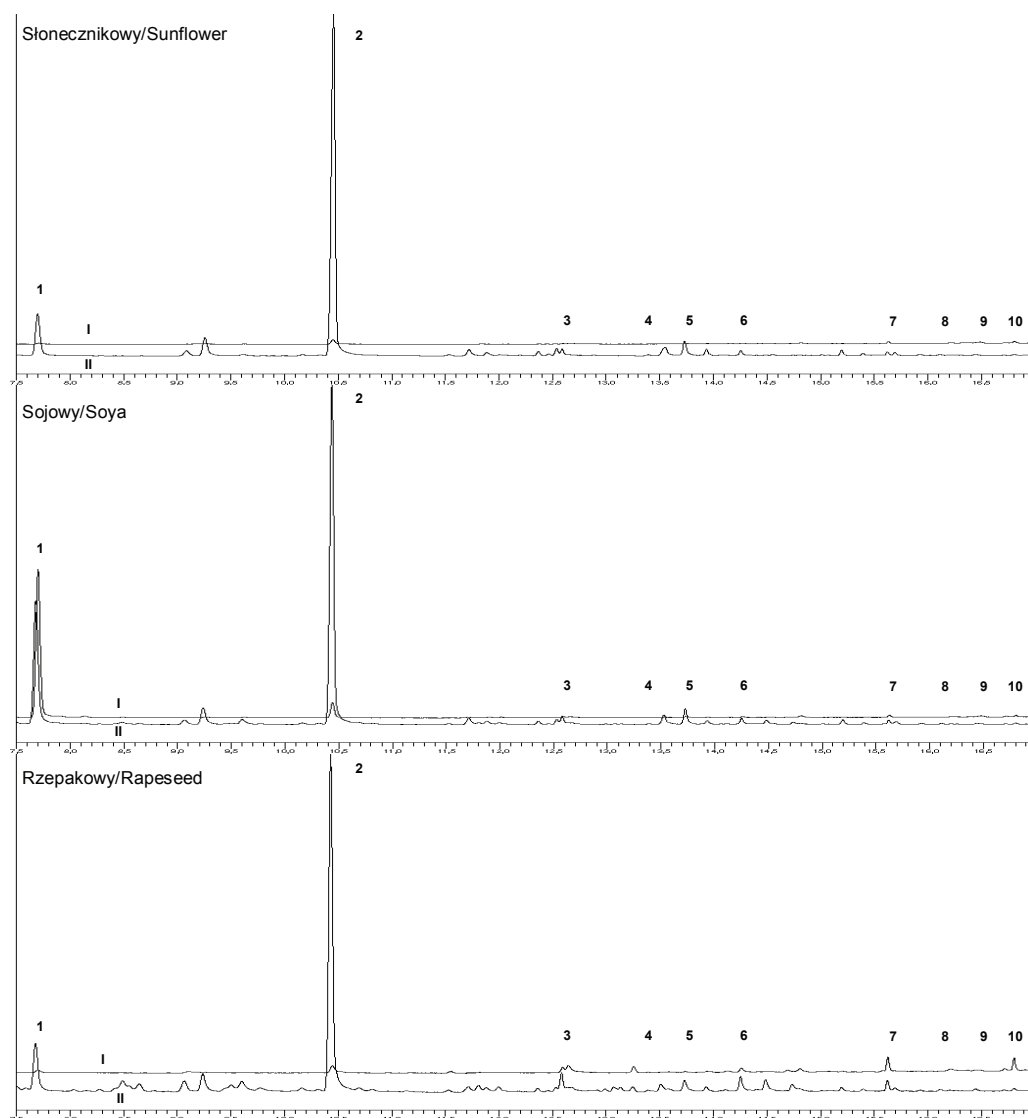
Granica oznaczalności (LOD), wykrywalności (LOQ) oraz powtarzalność (CV) w odniesieniu do wybranych substancji wzorcowych w oleju roślinnym wyekstrahowanych techniką HS-SPME/GC/FID*.

Limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), and of repeatability (CV) with regard to some selected standards in edible oils obtained using a HS-SPME/GC/FID technique.

Związek / Compound	LOD [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	LOQ [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	CV [%]
Pentanal / Pentanal	216	648	3,87
Heksanal / Hexanal	222	666	4,63
Heptanal / Heptanal	250	750	5,82
Dekanal / Decane	215	645	5,64
2-trans-heptenal / 2-trans-heptenal	208	624	5,53
Oktanal / Octanal	219	657	7,21
Nonanal / Nonanal	238	714	7,90
Dodekan / Dodecane	346	1038	7,92
2-trans-nonenal / 2-trans-nonenal	162	486	8,98
Dekanal / Decanal	293	879	9,29

Objaśnienia: Explanatory notes:

* - włókno DVB/CAR/PDMS 50/30 μm , 2 cm; kolumna SPB-20, 30 m x 0,25 mm x 1 μm , Supelco, Bellefonte, PA, USA / fibre: DVB/CAR/PDMS 50/30 μm , 2 cm; column: SPB-20, 30 m x 0,25 mm x 1 μm , Supelco.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

1 – pentanal / pentanal, 2 – heksanal / hexanal, 3 – heptanal / heptanal, 4 – dekan / decane, 5 – 2-trans-heptenal / 2-trans-heptenal, 6 – oktanal / octanal, 7 – nonanal / nonanal, 8 – dodekan / dodecane, 9 – 2-trans-nonenal / 2-trans-nonenal, 10 – dekanat / decanal.

Rys. 6. Chromatogramy olejów: słonecznikowego, sojowego oraz rzepakowego, świeżych rafinowanych (I) i naświetlanych promieniowaniem UV (II) przez 72 h (12 W, 254 nm), uzyskane w wyniku mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (włókno DVB/CAR/PDMS, 2 cm, 50/30 μ m; objętość próbki 8 ml, czas i temperatura ekstrakcji odpowiednio 15 min i 30 °C) i analizy chromatograficznej z detektorem FID, kolumna SPB-20 (Supelco, 30 m x 0,25 mm x 1 μ m), program temp.: 50 °C (1 min), 6 °C/min do 100 °C, 15 °C/min do 250 °C (2 min).

Fig. 6. Chromatograms of fresh refined (I) and irradiated (II) (72h, UV 12 W, 254 nm) sunflower, soya and rapeseed oils obtained after the solid-phase micro-extraction (fibre DVB/CAR/PDMS, 2 cm, 50/30 μm ; sample volume: 8 ml, time and temperature of extraction: 15 min / 30 $^{\circ}\text{C}$) and after the gas chromatography analysis with FID detector, column SPB-20 (Supelco, 30 m x 0,25 mm x 1 μm), temperature program: 50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min), 6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to 100 $^{\circ}\text{C}$, 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to 250 $^{\circ}\text{C}$ (2 min).

Zarówno powtarzalność, jak i LOD opracowanej metody są na zadowalającym poziomie, gdyż przeciętny błąd popełniany podczas analizy fazy nadpowierzchniowej opisany poprzez współczynnik zmienności mieści się w przedziale 2,5 – 37,0 % [12], a granice wykrywalności w przypadku metod wykorzystujących tę technikę przygotowania próbki mieszczą się w zakresie 18 – 173 mg/kg [12]. W przypadku analizowanych związków ich granice wykrywalności są w większości o 3 rzędy niższe niż przeciętnie, a powtarzalność metody mieści się w zakresie 3,87 – 9,29 %, a więc w dolnej średniej granicy.

Ostatnim etapem prezentowanych badań była analiza próbek rzeczywistych, które wcześniej zostały poddane procesowi przyspieszonego utleniania poprzez naświetlenie promieniowaniem ultrafioletowym. W tym celu 10 ml próbkę oleju umieszczano w kuwecie kwarcowej, a następnie kuwety umieszczano w fotoreaktorze i poddawano naświetlaniu promieniami UV przez określony czas (12 – 72 h). Po procesie fotodegradacji z próbki pobierano 8 ml oleju i umieszczano w 15 ml fiolce. Szczelnie zamkniętą zawartość fiolki mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego i podawano procesowi mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej, zgodnie z opisaną powyżej procedurą, a następnie analizie chromatograficznej z zastosowaniem detektora płomieniowo-jonizacyjnego. Analizowane związki zidentyfikowano na podstawie czasu retencji, porównując je z czasem retencji związków w mieszaninie wzorcowej. Na rys 6. przedstawiono przykładowe chromatogramy analizowanych olejów roślinnych poddanych naświetlaniu promieniami UV przez 72 h oraz świeżych olejów rafinowanych nienaświetlanych. We wszystkich naświetlanych olejach obserwowano wyraźny wzrost zawartości heksanalu, co potwierdza tezę, że związek ten jest dobrym wskaźnikiem jakości olejów roślinnych.

Wnioski

1. Opracowana szybka metoda pozwala określić stan analizowanych próbek zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym.
2. Dzięki dużej czułości i dokładności procedury możliwe jest obserwowanie procesu utlenienia nawet w jego początkowym stadium. Możliwa zatem staje się szybka ocena stabilności oksydacyjnej badanych próbek oleju.
3. Uzyskano dobre wydajności ekstrakcji próbek rzeczywistych, które w celu przyspieszenia utleniania naświetlano promieniowaniem UV. Powyższa metoda może

być więc stosowana do klasyfikacji i oceny jakości różnych gatunków olejów roślinnych.

Praca wykonana w ramach grantu 312 056 31 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego, Budżetu Państwa i Budżetu Województwa Pomorskiego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki Priorytetu VIII, działanie 8.2, poddziałanie 8.2.2 "Regionalne Strategie Innowacyjności", projektu systemowego Województwa Pomorskiego "InnoDoktorant" - stypendia dla doktorantów, I edycja. Była ona prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura


- [1] Arthur C., Pawliszyn J.: Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.* 1990, **62**, 2145 - 2148.
- [2] Cavalli J-F., Fernandez X., Lizzani-Cuvelier L., Loiseau A-M.: Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME: Identification of quality-freshness markers. *Food Chem.*, 2004, **88**, 151 - 157.
- [3] Choe E., Min D.B.: Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety.*, 2006, **5**, 169 - 186.
- [4] Doleschall F., Kemeny Z., Recseg K., Kovari K.: Monitoring of lipid degradation products by solid-phase microextraction. *J. Microcolumn Separations*, 2001, **13** (6), 215 - 220.
- [5] Doleschall F., Recseg K., Kemeny Z., Kovari K.: Comparison of differently coated SPME fibres applied for monitoring volatile substances in vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2003, **105**, 333 - 338.
- [6] Drozdowski B.: *Lipidy*. W: *Chemia żywności* – pod red. Z.E. Sikorskiego. WNT, Warszawa 2002.
- [7] Gromadzka J., Wardencki W., Lores M., LLompart M., Fernandez-Alvarez M., Lipińska K.: Investigation of edible oils oxidation stability using photooxidation and SPME/GC method for determination of volatile compounds – preliminary investigation. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58** (3), 321 - 324.
- [8] 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.
- [9] Jimenez A., Beltran G., Aguilera M.P.: Application of solid-phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils. *J. Chromat. A*, 2004, **1028**, 321 - 324.
- [10] Kalua C.M., Bedgood D.R. Jr., Prenzler P.D.: Development of a headspace solid phase microextraction-gas chromatography method for monitoring volatile compounds in extended time-course experiments of olive oil. *Anal. Chim. Acta.*, 2006, **556**, 407 - 414.
- [11] Kataoka H., Lord H.L., Pawliszyn J.: Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J. Chromat. A*, 2000, **880**, 35 - 62.
- [12] Keszler A., Heberger K., Gude M.: Quantitative analysis of aliphatic aldehydes by headspace SPME sampling and ion-trap GC MS. *Chromatographia* 1998, **48** (1/2), 127 - 132.
- [13] Kołodziejczyk A.: *Naturalne związki organiczne*. *Lipidy*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2003 s. 311 - 314.

- [14] Konieczka P.: Sposoby wyznaczania granicy wykrywalności i oznaczalności. *Chem. Inż. Ekol.* 2003, **10** (7), 1071 - 1099.
- [15] Konieczka P.: Walidacja metodyk analitycznych. *Chem. Inż. Ekol.* 2003, **10** (10), 1071 - 1099.
- [16] Michulec M., Wardencki W.: Determination of solvents residues in vegetable oils and pharmaceuticals by headspace analysis and capillary gas chromatography. *Chromatographia*, 2004, **60**, 273 - 277.
- [17] Mildner-Szkudlarz S., Jeleń H.H., Zawirska-Wojtasiak R., Wąsowicz E.: Application of headspace - solid phase microextraction and multivariate analysis for plant oils differentiation. *Food Chem.*, 2003, **83**, 515 - 522.
- [18] Niewiadomski H.: *Technologia tłuszczów jadalnych*. WNT, Warszawa 1993.
- [19] Pawliszyn J.: *Solid phase microextraction: theory and practice*. Ed. Wiley-VCH, New York 1997.
- [20] Pawliszyn J.: Sample preparation: Quo vadis? *Anal. Chem.* 2003, **75**, 2543 - 2558.
- [21] Povoło M, Contarini G.: Comparison of solid-phase microextraction and purge-and-trap methods for the analysis of the volatile fraction of butter. *J. Chromat. A*, 2003, **985**, 117 - 125.
- [22] Rudzińska M., Muśnicki Cz., Wąsowicz E.: Fitosterole i ich pochodne utlenione w nasionach rzepaku ozimego. *Rośliny Oleiste*, 2003, **24**, 51 - 66.
- [23] Snow N.H., Snack G.C.: Head-space analysis in modern gas chromatography. *Trends Anal. Chem.* 2002, **21** (9+10), 608 - 617.
- [24] Szukalska E.: Wybrane zagadnienia utleniania tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 2003, **38**, 42 - 58.
- [25] Vichi S., Pizzale L., Conte L.S., Buxaderas S., Pez-Tamames E.L.: Solid-phase microextraction in the analysis of virgin olive oil volatile fraction: characterization of virgin olive oils from two distinct geographical areas of northern Italy. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 6572 - 6577.
- [26] Wardencki W., Michulec M., Curyło J.: A review of theoretical and practical aspects of solid-phase microextraction in food analysis. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2004, **39**, 703 - 717.

SELECTING OPTIMAL PARAMETERS FOR THE UV-HS-SPME/GC/FID METHOD FOR ASSESSING OXIDATIVE STABILITY OF EDIBLE OILS

S u m m a r y

The objective of the research conducted was to select optimal parameters for a new method used to assess the quality of oils based on the determination of volatile compounds - oxidation products of those oils. Prior to the analysis, the samples of refined edible oils were oxidized during an accelerated oxidation process using UV irradiation (12 W, 254 nm). A technique used to prepare samples for analysis was the headspace solid-phase microextraction (HS-SPME). Optimal parameters of this technique were selected (DVB/CAR/PDMS fibre of 2 cm and of 50/30 µm; 8 ml volume of the sample; time and temperature of extraction: 15 min/30 °C, respectively). Additionally, some validation parameters were determined. The precision and sensitivity of this method, expressed as CV variation coefficient (< 10 %) and as LOD limit of detection (within the range from 162 to 346 µg/kg) appeared to be satisfactory for the determinations of this type. The composition of the samples analyzed was determined on the basis of standard compounds retention times using capillary gas chromatography with flame-ionization detector (column: SPB-20, Supelco, 30 m x 0,25 mm x 1 µm).

Key words: edible oils, UV irradiation, volatile compounds, oxidation products, headspace analysis, solid-phase microextraction (SPME) 

KATARZYNA JĘDRZEJKIEWICZ, KRZYSZTOF KRYGIER

ZASTOSOWANIE GAZÓW INERTNYCH DO POPRAWY STABILNOŚCI OKSYDATYWNEJ OLEJU RYBIEGO, RZEPAKOWEGO I ICH MIESZANINY

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było ograniczenie zmian oksydacyjnych w oleju rybim, rzepakowym i w ich mieszaninie. Analizowano 3 rodzaje olejów: 100 % olej rybi, 100 % olej rzepakowy oraz ich mieszaninę w stosunku 50:50 (m/m), w trzech wariantach opakowania: bez ochrony gazowej, w atmosferze N₂ i w atmosferze CO₂. W pierwszym etapie badań świeże próbki poddano przyspieszonej oksydacji w aparacie Rancimat. Czas indukcji oleju rybiego wynosił 0,90 h, mieszaniny 50: 50 1,28 h, a oleju rzepakowego 5,03 h. Następnie próbki poddano testowi termostatowemu. Określono wartość liczby nadtlencowej i anizydynowej oraz wyliczono wskaźnik oksydacji tłuszczu TOTOX próbek świeżych oraz po 7 dniach testu. Wykazano ochronny wpływ gazów inertnych na analizowane próbki. Najlepsze rezultaty w postaci niskiej liczby nadtlencowej i anizydynowej w badanych próbkach otrzymano przy zastosowaniu CO₂ (wzrost LOO oleju rybiego o 0,93 meq O₂/kg, wzrost LA o 8,11).

Słowa kluczowe: olej rybi, olej rzepakowy, stabilność oksydacyjna, kwasy omega 3, gazy inertne

Wprowadzenie

Olej rybi jest bogatym źródłem długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny omega 3 - DHA (dokozaheksaenowego) i EPA (eikozapentaenowego). Synteza tych kwasów w organizmie człowieka zachodzi w bardzo niewielkim stopniu, dlatego, ze względu na swoje cenne właściwości żywieniowe, powinny być dostarczane do ustroju wraz z pożywieniem [8, 19]. EPA i DHA są niezbędne w profilaktyce chorób układu krążenia, uczestniczą w tworzeniu i rozwoju mózgu u dzieci już w okresie płodowym [15], przeciwdziałają miażdżycy, zawałom serca i artretyzmowi [4], stymulują układ immunologiczny, umożliwiając zwalczanie infekcji i defektów tkanek [16], zapobiegają demencji (otępieniu) związanej z wiekiem i zmniejszają ryzyko wystąpienia choroby Alzheimera [2, 6]. Źródłem EPA i DHA są

głównie ryby morskie (łosoś atlantycki, śledź, makrela). Niestety, niewielkie spożycie ryb w Polsce powoduje, że zapotrzebowanie organizmu na te kwasy nie zostaje zaspokojone. Dobrym rozwiązaniem jest wzbogacanie powszechnie spożywanych produktów w preparaty zawierające kwasy omega 3 np. z oleju rybiego. Ważne jest zabezpieczenie takich produktów przed niekorzystnymi reakcjami oksydacji tłuszczu, aby produkty utleniania nie obniżały wartości odżywczej wzbogaconej żywności. Do tego celu wykorzystuje się gazy inertne: dwutlenek węgla i azot.

CO₂ dobrze rozpuszcza się w wodzie i tłuszczach, tym lepiej im niższa jest temperatura. Wykazuje działanie bakteriostatyczne oraz jest inhibitorem niektórych enzymów. W środowisku wodnym tworzy kwas węglowy, który obniża pH żywności. Frakcja gazowa jest inhibitorem rozwoju mikroorganizmów [10].

N₂ słabo rozpuszcza się w wodzie i tłuszczach, nie wykazuje efektu bakteriostatycznego, jednak ograniczenie procesów oksydacyjnych następuje przez stworzenie środowiska beztlenowego w opakowaniu [10]. Aspekty ekonomiczne sprawiają, że na skalę przemysłową częściej stosowany jest azot.

Celem przeprowadzonych badań było wykazanie wpływu przyspieszonej oksydacji olejów rybiego, rzepakowego i ich mieszaniny na podstawowe parametry ich jakości oraz określenie wpływu atmosfery ochronnej (gazów inertnych) na stabilność oksydacyjną wymienionych olejów.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym był olej rybi (wytworzony przez producenta metodą rafinacji olejów m.in. z sardeli, sardynek, makreli i śledzi) o łącznej zawartości n-3 PUFA min. 30 % (w tym zawartość EPA min. 9 %, DHA min. 12,5 %), olej rzepakowy rafinowany (ZPT Warszawa) oraz ich mieszanina 50 : 50 (m/m). Stosowano także gazy obojętne firmy BOC GAZY: azot 5,0 o zaw. N₂ 99,999 % obj. i O₂ ≤ 2 mg/kg oraz dwutlenek węgla o zaw. CO₂ 99,9 % obj. i O₂ ≤ 50 mg/kg.

Próbki poddawano przyspieszonej oksydacji w aparacie Rancimat zgodnie z PN-ISO 6886:1997 [14]. Wyznaczano czas indukcji oleju [h], który jest miarą szybkości zmian oksydacyjnych. Parametry stosowane przy oznaczeniu: temp. 120 °C, przepływ powietrza 20 l/h, masa próbki 2,5 g, obj. wody w naczynku konduktometrycznym 60 ml.

Oznaczano liczbę nadtlenkową (LOO) zgodnie z PN-EN ISO 3960:2005 [13] i anizydynową (LA) zgodnie z PN-EN ISO 6885:2001 [12] oraz obliczano wskaźnik oksydacji tłuszczu TOTOX, zgodnie z PN-93/A-86926 [11].

Następnie próbki zamykano w szklanych, przezroczystych buteleczkach o pojemności 20 cm³ w trzech wariantach:

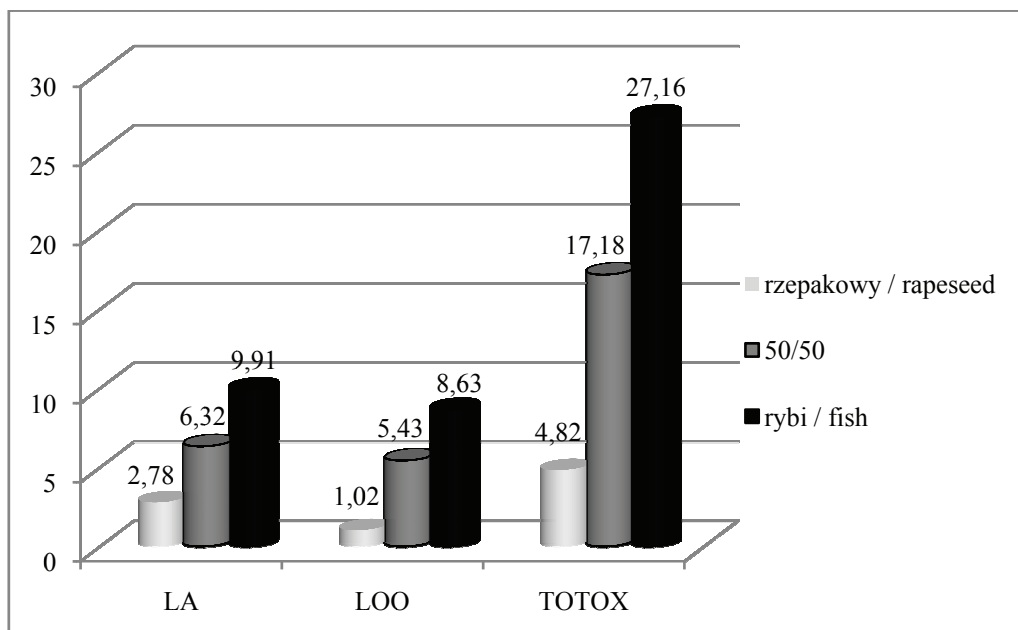
- I - olej rzepakowy, rybi lub ich mieszanina, zamknięte z powietrzem (bez ingerencji),
- II - olej rzepakowy, rybi lub ich mieszanina, przepłukane N₂,

III - olej rzepakowy, rybi lub ich mieszanina, przepłukane CO₂.

Przepłukiwanie gazami miało na celu usunięcie powietrza z całej objętości próbki oraz jego eliminację z nad powierzchni oleju. Opakowania zamykano gumowym korkiem i wstawiano do termostatu o temp. 63 °C na 7 dni. Ponownie oznaczano LOO i LA oraz wyliczano wskaźnik TOTOX.

Wyniki i dyskusja

Analiza świeżych próbek olejów wykazała, że olej rybi charakteryzował się najwyższymi wartościami LOO (8,63 meq O₂/kg), LA (9,91) i wskaźnika TOTOX (27,16) (rys. 1). Wartości te wskazują na najbardziej posunięte procesy oksydacyjne w oleju rybim, co spowodowane było zapewne dużą zawartością długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych – EPA i DHA.



Rys. 1. Wartości liczb anizydynowej i nadtlenkowej oraz wskaźnika TOTOX świeżych próbek oleju rzepakowego, mieszaniny olejów 50 : 50 i rybiego.

Fig. 1. Anisidine and peroxide values and TOTOX index of fresh samples of rapeseed oil, of 50 : 50 mixture, and of fish oil.

Najdłuższy czas indukcji oznaczony w aparacie Rancimat (tab. 1) wykazywał olej rzepakowy - 5,03 h, a najkrótszy olej rybi – 0,90 h. Znacznie dłuższy czas indukcji oleju rzepakowego i niewielka różnica w czasie indukcji między olejem rybim i mieszaniną 50 : 50 może świadczyć o znacznym wpływie oleju rybiego na przebieg proce-

sów oksydacyjnych w żywności. Dlatego ważne jest opracowanie właściwej metody utrwalania tłuszczu rybiego w celu zapobieżenia stratom jakościowym i zdrowotnym żywności wzbogaconej preparatami tego typu. Już w 1986 r. Villemure i wsp. [18] prowadzili z powodzeniem badania nad ochronnym wpływem dwutlenku węgla na przechowywane filety i tuszki dorsza, a w 1991 r. Li Hsieh i Regenstein [9] użyli azotu do ograniczenia zmian oksydacyjnych w majonezie zawierającym 70 % oleju rybiego. Metoda ta okazała się skuteczniejsza nawet od zastosowania silnego przeciwutleniacza (TBHQ).

Tabela 1

Czas indukcji próbek w teście Rancimat.
Induction time of samples in the Rancimat test.

Próbka / Sample	Czas indukcji / Induction time [h]
Olej rzepakowy / Rapeseed oil	5,03
Mieszanina 50:50 / 50:50 Mixture	1,28
Olej rybi / Fish oil	0,90

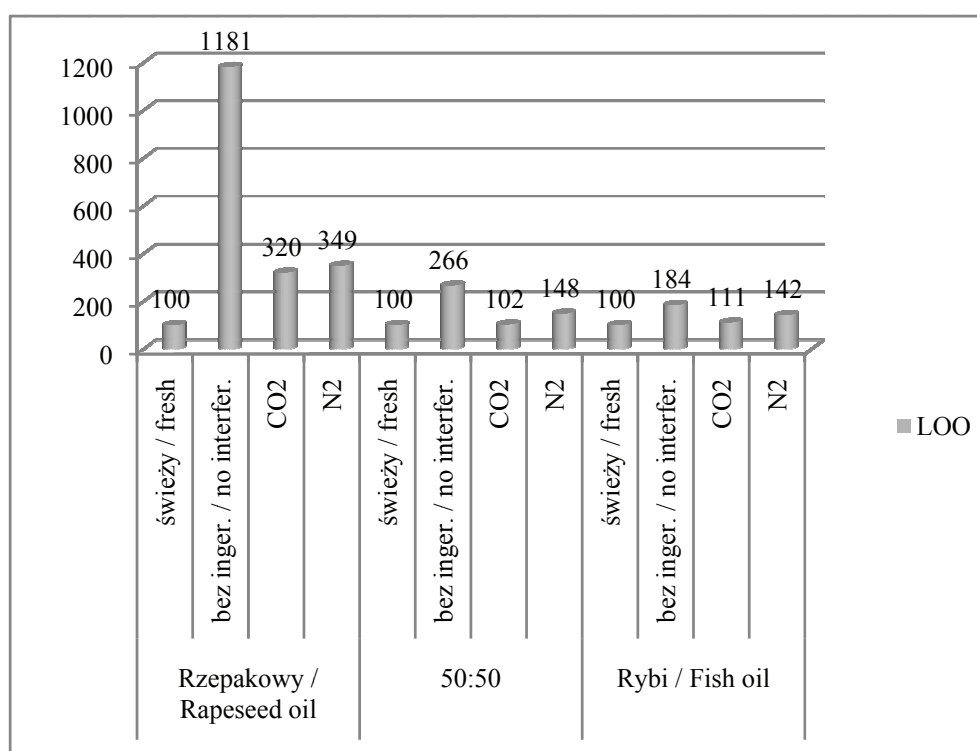
Tabela 2

Wartości liczb nadtlenkowej (LOO) i anizydynowej (LA) oraz wskaźnika TOTOX oleju rzepakowego, mieszaniny 50 : 50 i rybiego.
Peroxide value, anizidine value, and TOTOX index of rapeseed oil, of 50 : 50 mixture, and of fish oil.

Olej / Oil		LOO	LA	TOTOX
Rzepakowy Rapeseed oil	świeży / fresh	1,02	2,78	4,82
	bez ingerencji / without any interference	12,06	7,49	31,61
	CO ₂	3,27	3,68	10,21
	N ₂	3,56	4,23	11,36
Rzepakowy : Rybi Rapeseed : Fish oil 50:50	świeży / fresh	5,43	6,32	17,18
	bez ingerencji / without any interference	14,43	16,08	44,93
	CO ₂	5,56	9,91	21,04
	N ₂	8,05	10,75	26,84
Rybi Fish oil	świeży / fresh	8,63	9,91	27,16
	bez ingerencji / without any interference	15,87	30,35	62,09
	CO ₂	9,56	18,02	37,15
	N ₂	12,21	19,95	44,38

Po 7-dniowym teście termostatowym ponownie analizowano LOO, LA i obliczono wskaźnik TOTOX w celu zbadania ochronnego wpływu gazów inertnych na oleje. Szczegółowe wyniki tych badań zamieszczono w tab. 2. Na wykresach (rys. 2, 3 i 4) wartości przedstawione są w jednostkach umownych. Punktem odniesienia są wyniki próbek badanych przed termostatowaniem (wartość 100) i proporcjonalnie do nich przedstawiono wyniki po termostatowaniu. Jednostki te zastosowano w celu uproszczenia prezentacji ochronnego działania gazów na oleje.

Obecność EPA i DHA sprawiła, że olej rybi po przechowywaniu bez atmosfery ochronnej wykazywał prawie dwukrotnie wyższą LOO niż olej świeży (rys. 2).



Rys. 2. Porównanie wzrostu liczby nadtlenkowej oleju rzepakowego, mieszaniny 50 : 50 i oleju rybiego po próbie termostatowej.

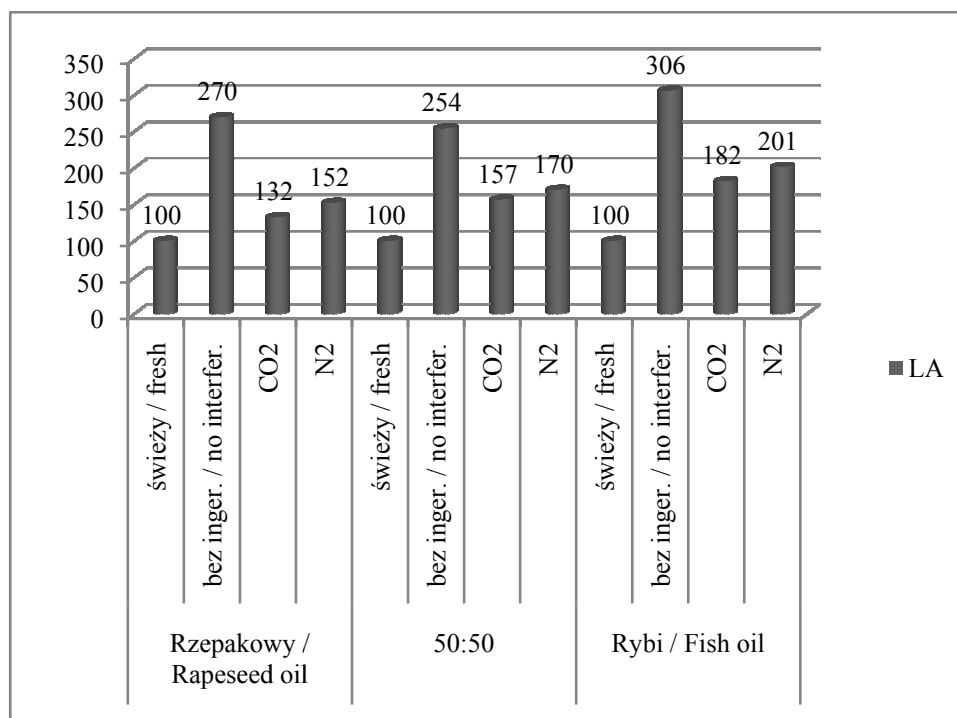
Fig. 2. Comparing the increase in the peroxide value of rapeseed oil, of the 50/50 mixture, and of the fish oil after the thermostat test.

Zastosowanie gazów ochronnych w opakowaniu z olejem rybim wyraźnie ograniczyło proces oksydacji spowodowany tlenem atmosferycznym, jednak nie zahamowało tego procesu całkowicie. Spowodowane jest to faktem, że kwasy te bardzo łatwo ulegają autooksydacji, tworząc reaktywne nadtlenki, wodoronadtlenki i rodniki alkilowe -

pierwotne produkty utleniania, których wskaźnikiem jest liczba nadtlenkowa [3]. Reakcje autooksydacji po zapoczątkowaniu przez inicjator zachodzą samoistnie.

Utrwalające działanie gazów ochronnych wykazano także w przypadku oleju rzepakowego i mieszanki 50 : 50. Lepsze efekty, wyrażone niższą liczbą nadtlenkową zaobserwowano po zastosowaniu w opakowaniu CO₂ (LOO oleju rzepakowego 3,27; mieszanki 50 : 50 – 5,56; rybiego – 9,56). Wartości te są średnio tylko o 6 % wyższe od wartości początkowych (w przypadku oleju rybiego i mieszanki 50 : 50).

Wartość liczby anizydynowej, świadczącej o obecności wtórnych produktów utleniania tłuszczu również uległa znacznemu podwyższeniu w próbkach bez ingerencji w porównaniu z próbkami świeżymi (rys. 3).

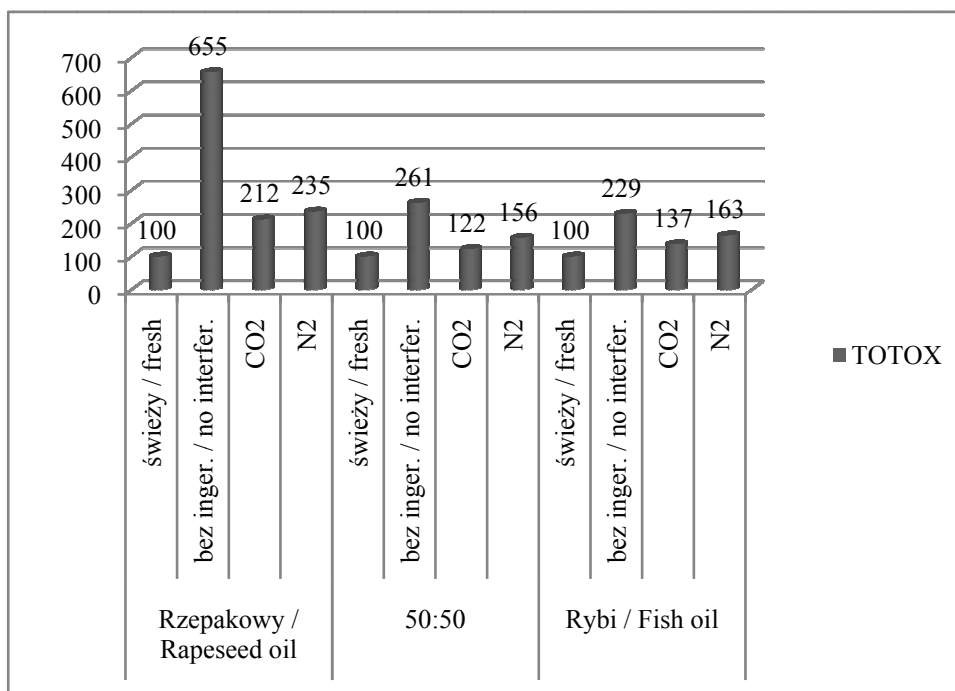


Rys. 3. Porównanie wzrostu liczby anizydynowej oleju rzepakowego, mieszanki 50:50 i oleju rybiego po próbie termostatowej.

Fig. 3. Comparing the increase in the anisidine value of rapeseed oil, of the 50/50 mixture, and of the fish oil after the thermost test.

Wtórnymi produktami oksydacji są powstające z nietrwałych wodoronadtlenków krótkołańcuchowe węglowodory, aldehydy, ketony, estry, alkohole i etery. Charakterystyczny zapach zjełczałego tłuszczu wywołany jest przez aldehydy krótkołańcuchowe i powstające z nich kwasy [3]. Również w przypadku wtórnych

produktów utleniania gazy obojętne wykazały ochronne działanie, co oznacza, że proces oksydacji został zahamowany. Najlepszy efekt, charakteryzujący się najmniejszym wzrostem liczby anizydynowej, uzyskano po zastosowaniu CO₂ w oleju rzepakowym. Obecność kwasów EPA i DHA spowodowała, że w oleju rybim oznaczono wysoką zawartość wtórnych produktów oksydacji (LA = 30,35), jednak zastosowanie atmosfery gazów zapewniło ograniczenie wtórnych reakcji utleniania do wartości prawie dwukrotnie niższych – przy zastosowaniu N₂ LA = 19,95, a przy CO₂ LA = 18,02.



Rys. 4. Porównanie wskaźnika TOTOX oleju rzepakowego, mieszaniny 50 : 50 i oleju rybiego po próbie termostatowej.

Fig. 4. Comparing the TOTOX index of rapeseed oil, of the 50:50 mixture, and of the fish oil after the thermostat test.

Wskaźnik TOTOX (total oxidation) określa obecność pierwotnych i wtórnych produktów utleniania (szczególnie aldehydów) w tłuszczach. Badania potwierdziły, że 100 % olej rybi jest bardzo podatny na utlenianie. Świadczą o tym wysokie wartości wskaźnika TOTOX oleju świeżego (27,16), a także przechowywanego (62,02 olej bez ochrony gazowej). Wykazano ochronny wpływ gazów obojętnych, wyrażony prawie dwukrotnie niższymi wartościami TOTOX w porównaniu z próbkami bez ingerencji w atmosferę opakowania, przy czym lepszy efekt uzyskano przy zastosowaniu CO₂

(wzrost TOTOX o 37 % w porównaniu ze świeżym olejem rybim) niż N_2 (wzrost TOTOX o 63 %) (rys. 4).

Wg Bergera [1] użycie azotu jako ochrony produktów spożywczych nie tylko zapobiega oksydacji, ale także hamuje procesy hydrolizy. Usunięcie powietrza z nad oleju skutkuje usunięciem zawartej w nim wody, a w rezultacie smak i zapach oleju nie ulega niekorzystnym zmianom. Wydaje się, że stosowanie gazów obojętnych jest skuteczną, a zarazem bezpieczną zdrowotnie metodą ograniczania zmian oksydacyjnych w tłuszczach żywności, w tym także w oleju rybim.

Wnioski

1. Olej rybi jest tłuszczem bardzo podatnym na procesy utleniania ze względu na dużą zawartość długołańcuchowych PUFA. W porównaniu z olejem rzepakowym utlenia się ponad 5 razy szybciej (w teście Rancimat).
2. Dodatek oleju rybiego do oleju rzepakowego może powodować wzrost szybkości reakcji utleniania w mieszaninie.
3. Stosowanie gazów obojętnych (CO_2 i N_2) do zabezpieczenia olejów przed utlenianiem jest skuteczną metodą. Atmosfera CO_2 powoduje wzrost LOO w oleju rybim tylko o 11 % w stosunku do oleju świeżego, a w oleju bez ochrony gazowej rośnie o 84 % w teście termostatowym.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Berger K.: Bulk transport of edible oils. *Oils and Fats Int.*, 1992, **4**, 20-24.
- [2] Conquer J. A., Tierney M. C., Zecevic J., Bettger W. J., Fisher R. H.: Fatty acids analysis of blood plasma of patient with Alzheimer disease, other types of dementia and cognitive impairment. *Lipids*, 2000, **35** (12), 1305-1312.
- [3] Drozdowski B.: *Lipidy*. W: *Chemia żywności* (red. Sikorski Z. E.). WNT, Warszawa 2002.
- [4] Flower R. J., Perretti M.: Controlling inflammation: a fat chance? *J. Exp. Med.*, 2005, **201** (5), 671-674.
- [5] Gonzalez M. J., Gray J. I., Schemmel R. A., Dugan L., Welsch C. W.: Lipid peroxidation products are elevated in fish oil diets even in the presence of added antioxidants. *J. Nutr.*, 1992, **122** (11), 2190-2195.
- [6] Kalmijn S., Launer L. J., Ott A., Witteman J. C., Hofman A., Breteler M. M.: Dietary fat intake and the risk of incident dementia in the Rotterdam Study. *Ann. Neurol.*, 1997, **42** (5), 776-782.
- [7] Kolanowski W.: Olej rybi jako źródło kwasów tłuszczowych n-3 – znaczenie zdrowotne i wzbogacanie żywności. *Przem. Spoż.*, 2000, **54** (9), 56.
- [8] Kolanowski W.: Tłuszcz rybi – niepowtarzalna wartość odżywcza. *Żywność, Żywnienie, Prawo a Zdrowie*, 2000, **4**, 430.

- [9] Li Hsieh Y., Regenstein J. H.: Factors affecting quality of fish oil mayonnaise. *J. Food Sci.*, 1991, **56**, 1298-1301, 1307.
- [10] Ooraikul B.: Modified atmosphere packaging (MAP). In: *Food preservation techniques*, red. Zeuthen P., Bøgh-Sørensen L., Woodhead Publishing Limited, England 2003, pp. 342-346.
- [11] PN-93/A-86926. Tłuszcze roślinne jadalne. Oznaczanie liczby anizydynowej oraz obliczanie wskaźnika oksydacji tłuszczu Totox.
- [12] PN-EN ISO 6885:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [13] PN-EN ISO 3960:2005. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlencowej.
- [14] PN-ISO 6886:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie stabilności oksydacyjnej (Test przyspieszonego utleniania).
- [15] Ruxton C. H. S., Reed S. C., Simpson M. J. A., Millington K. J.: The health benefits of omega-3 PUFA: a review of evidence. *J. Hum. Nutr. Dietet.*, 2004, **17**, 449-459.
- [16] Sikorski Z. E.: Ryby i bezkręgowce morskie. WNT, Warszawa 2004, s. 309-330.
- [17] Simopoulos A. P.: Fatty acids. *Functional foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals*. ed.: I. Goldberg, Chapman & Hall, New York 1994.
- [18] Villemure G., Simard R. E., Picard G.: Bulk storage of cod fillets and gutted cod (*Gadus morhua*) under carbon dioxide atmosphere. *J. Food Sci.*, 1986, **51** (2), 317-320.
- [19] Ziemiański Ś.: Tłuszcze w żywieniu człowieka. *Żyw. Człow. Met.*, 1997, **24** (2), 35.

APPLICATION OF INERT GASES IN IMPROVING THE OXIDATIVE STABILITY OF FISH OIL, RAPESEED OIL, AND THEIR MIXTURES

S u m m a r y

The objective of this study was to limit oxidative changes in fish oil, rapeseed oil, and in their mixtures. Three types of samples were analysed: 100 % fish oil, 100 % rapeseed oil, and their 50:50 mixture. Three types of packaging were used: without gas protection, in the N₂ atmosphere, and in the CO₂ atmosphere. During the first phase of the investigation, fresh samples were put through accelerated oxidation in the Rancimat apparatus. The induction time of fish oil was 0.90 h, of 50:50 mixture - 1.28 h, and of the rapeseed oil - 5.03 h. Next, the samples were tested using a thermostat. The peroxide and anisidine values were determined, and the TOTOX index of fat was computed for fresh samples and for samples after the seven days of investigations. It was proved that inert gases had a protective impact on samples under analysis. The best results expressed as a low peroxide and anisidine values of the samples analysed were obtained using CO₂ (LOO of fish oil increased by about 0.93 meq O₂/kg, and AV increased by about 8.11).

Key words: fish oil, rapeseed oil, oxidative stability, omega-3 acids, inert gases 

MAGDALENA KOSTECKA

CHARAKTERYSTYKA MIESZANINY TŁUSZCZU DROBIOWEGO Z OLEJEM RZEPAKOWYM PRZED I PO PRZEESTRYFIKOWANIU ENZYMATYCZNYM

Streszczenie

Tłuszcz drobiowy, stanowiący jeden z odpadów produkcyjnych w przemyśle mięsnym, jest surowcem tanim i produkowanym w znacznych ilościach, ale nieatrakcyjnym dla konsumentów. W porównaniu z tłuszczem ssaków odznacza się bardzo pożądanym składem kwasów tłuszczowych. Potencjalną możliwością technologicznej modyfikacji tego tłuszczu może być jego blending, frakcjonowanie lub przeestryfikowanie.

Celem pracy było scharakteryzowanie surowców, mieszaniny tłuszczu drobiowego i oleju rzepakowego (40:60 m/m) oraz określenie wpływu reakcji przeestryfikowania enzymatycznego na wybrane właściwości tej mieszaniny. Przeestryfikowanie katalizowano enzymatycznie stosując preparat Lipozyme RM IM. W surowcach, mieszaninie fizycznej i w produktach przeestryfikowania oznaczono: liczbę kwasową i liczbę nadtlenkową, stabilność oksydacyjną, zawartość składników polarnych, a także określono skład i rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w pozycjach *sn*-1,3 i *sn*-2 triacylogliceroli.

Stwierdzono, że dodatek oleju rzepakowego do tłuszczu drobiowego wpłynął na wzrost zawartości kwasów: oleinowego, linolowego i linolenowego zarówno w mieszaninie, jak i w produktach przeestryfikowania w stosunku do czystego tłuszczu drobiowego. Skład jakościowy kwasów tłuszczowych po przeestryfikowaniu pozostał niezmienny. Stabilność oksydacyjna przeestryfikowanej mieszaniny w stosunku do jednego z surowców (oleju rzepakowego) i mieszaniny wyjściowej znacznie zmalała, natomiast w stosunku do drugiego z surowców – tłuszczu drobiowego wzrosła. Najbardziej odporna na utlenianie była wyjściowa mieszanina w porównaniu z produktami po przeestryfikowaniu. Po procesie przeestryfikowania takie parametry, jak liczba kwasowa i zawartość składników polarnych w produktach wzrosły. Wartości te rosły wraz ze wzrostem ilości wody w zastosowanym preparacie enzymatycznym. Zarówno surowce, jak i produkty przeestryfikowania w temperaturze pokojowej są ciekłe.

Słowa kluczowe: przeestryfikowanie enzymatyczne, tłuszcz drobiowy, olej rzepakowy, Lipozyme RM IM

Wprowadzenie

Olej rzepakowy produkowany z nowych uszlachetnionych i prawie bezerukowych odmian rzepaku jest obecnie uważany za jeden z cenniejszych olejów jadalnych,

o czym świadczy między innymi wzrost jego produkcji zarówno w Polsce, jak i na świecie [13]. Olej ten charakteryzuje się małą zawartością nasyconych kwasów tłuszczowych (ok. 7 % - najmniej spośród wszystkich olejów jadalnych na polskim rynku) oraz wysoką zawartością kwasu oleinowego (ok. 60 %), co zapewnia mu większą stabilność podczas obróbki termicznej, w porównaniu z innymi olejami, np. sojowym i słonecznikowym [10, 11]. Stabilności oleju rzepakowego sprzyja również występowanie w nim naturalnych przeciwutleniaczy.

Tłuszcz drobiowy, stanowiący jeden z odpadów produkcyjnych w przemyśle mięsnym, jest surowcem tanim i produkowanym w znacznych ilościach. W Polsce tylko w 2005 r. wyprodukowano ok. 639 tys. ton żywca drobiowego [5], podczas gdy w USA w 1998 r. ok. 12 mln ton [15]. Mimo wysokiej produkcji drobiu tłuszcz tego pochodzenia, w przeciwieństwie do łoju wołowego, zazwyczaj nie jest wykorzystywany jako składnik innej żywności, jak również w produktach nieżywnościowych [15]. Poza tym zawarte w nim nasycone kwasy tłuszczowe – SFA (ok. 30 % w tłuszczu kurzym) i cholesterol są przyczyną zalecanych ograniczeń w spożyciu, przez co może być on uznawany za nieatrakcyjny dla konsumentów. Jednak w porównaniu z tłuszczem ssaków, tłuszcz drobiowy odznacza się bardzo pożądanym składem. Charakteryzuje się on korzystną relacją ilości wielonienasyconych (polienowych) kwasów tłuszczowych do nasyconych wynoszącą od 0,4 do 0,8 oraz większym udziałem długołańcuchowych kwasów nienasyconych. Tłuszcz kurzy zawiera ok. 60 % nienasyconych kwasów tłuszczowych (UFA) i ma wyższy stopień nienasycenia niż łoś wołowy. Obecne wśród UFA mononienasycone kwasy tłuszczowe (w tłuszczu kurzym – 45 - 50 %, w łoju wołowym – 30 - 40 %), jak np. kwas oleinowy, są uważane za pożądane ze względu na ich wpływ na zmniejszanie ryzyka chorób wieńcowych. Wyższy stopień nienasycenia kwasów tłuszczowych powoduje jednak, że tłuszcze takie są bardziej podatne na procesy utleniania [9, 14, 15].

Zazwyczaj tłuszcze zwierzęce zawierają więcej nasyconych kwasów tłuszczowych (głównie długołańcuchowych C16:0 i C18:0) w porównaniu z olejami roślinnymi. SFA w triacyloglicerolach tłuszczu kurzego są zasadniczo zlokalizowane w pozycjach *sn*-1,3, stąd mogą być zastępowane przez kwasy tłuszczowe o większej wartości żywieniowej. Lee i Foglia [14, 15] cel ten osiągnęli, przeprowadzając acydolizę tłuszczu kurzego z kwasem kaprylowym katalizowaną 1,3-stereospecyficzną lipazą.

Większość olejów i tłuszczów występujących w przyrodzie w swojej naturalnej postaci charakteryzuje się specyficznymi cechami fizykochemicznymi, co wpływa na ograniczenie ich stosowania. Dlatego też prowadzi się liczne badania w kierunku poszerzenia zakresu stosowania olejów i tłuszczów poprzez poprawę ich cech użytkowych. Cel ten uzyskuje się między innymi na drodze modyfikacji fizycznej, chemicznej czy enzymatycznej [29]. Jedną z najbardziej znanych metod modyfikacji jest przeestryfikowanie. Proces przeestryfikowania polega na modyfikacji struktury i właściwo-

ści lipidów. W trakcie reakcji następuje zmiana pozycji grup acylowych zarówno wewnątrz, jak i pomiędzy różnymi cząsteczkami [12, 18]. Za pomocą tej reakcji można dokonać zmiany sposobu rozkładu kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach, uzyskując tłuszcze zmodyfikowane o pożądanych właściwościach fizycznych, chemicznych oraz sensorycznych. Proces przeestryfikowania nie zmienia naturalnej budowy kwasów tłuszczowych, co powoduje, że cenne biologicznie aktywne kwasy tłuszczowe pozostają nienaruszone [7, 20, 30]. Modyfikowanie lipidów, polegające na procesie przeestryfikowania, może być prowadzone w obecności katalizatorów zarówno chemicznych, jak i biologicznych [8, 17, 18]. Ostatnio coraz częściej używa się enzymów lipolitycznych, jako katalizatorów tego procesu. Selektyność stosowanych lipaz pozwala na wprowadzenie pożądanych kwasów tłuszczowych w ściśle określone pozycje triacylogliceroli i otrzymanie produktów tłuszczowych o niespotykanej w przyrodzie strukturze. Poza tym przeestryfikowanie enzymatyczne przebiega z dostateczną szybkością, w łagodnych warunkach, co umożliwia łatwiejsze sterowanie procesem i przerywanie go na z góry założonym etapie [17, 31].

Postęp w uzyskiwaniu wartościowych produktów z tłuszczów i olejów odpadowych powoduje rozwój rynków dla producentów tego rodzaju produktów ubocznych. Takie odpadowe tłuszcze są generalnie usuwane (utyliczowane) przez producenta lub sprzedawane po niskich cenach [6]. Tłuszcze należą do surowców odnawialnych, których znaczenie gospodarcze dotyczy nie tylko aspektu żywieniowego, lecz przede wszystkim związane jest z wykorzystaniem ich jako chemicznych surowców podstawowych [1]. Wdrażanie pożytecznych i opłacalnych programów recyklingowych, dla tego typu odpadów, pozwoli zarówno pomóc w redukcji zanieczyszczenia tłuszczami i wytworzyć nowe, użyteczne produkty [6].

Celem pracy było przede wszystkim scharakteryzowanie surowców, mieszaniny tłuszczu drobiowego (kurzego – sadelkowego) i oleju rzepakowego (40:60 m/m) oraz określenie wpływu reakcji przeestryfikowania enzymatycznego (prowadzonego w obecności preparatu Lipozyme RM IM) na wybrane właściwości tej mieszaniny.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowił tłuszcz drobiowy (kurzy – sadelkowy), olej rzepakowy oraz ich mieszanina. Tłuszcz drobiowy pochodził z Suwalskich Zakładów Drobiarskich, natomiast olej rzepakowy, bezerukowy, z Zakładów Tłuszczowych „Kruszwica”.

Katalizatorem użytym w reakcji przeestryfikowania był Lipozyme RM IM – preparat enzymatyczny (duńskiej firmy Novozymes). Preparat ten zawiera enzym lipolityczny otrzymywany z *Rhizomucor miehei* osadzony (immobilizowany) na makroporowatej żywicy jonowymiennej. Jest on lipazą specyficzną w stosunku do wiązań estrowych w pozycjach *sn*-1,3 cząsteczek triacylogliceroli. Fabryczna zawartość wody

w preparacie Lipozyme RM IM wynosiła 2 % w przeliczeniu na masę preparatu. Oznaczenie wykonano metodą suszarkową zgodnie z PN-EN ISO [22].

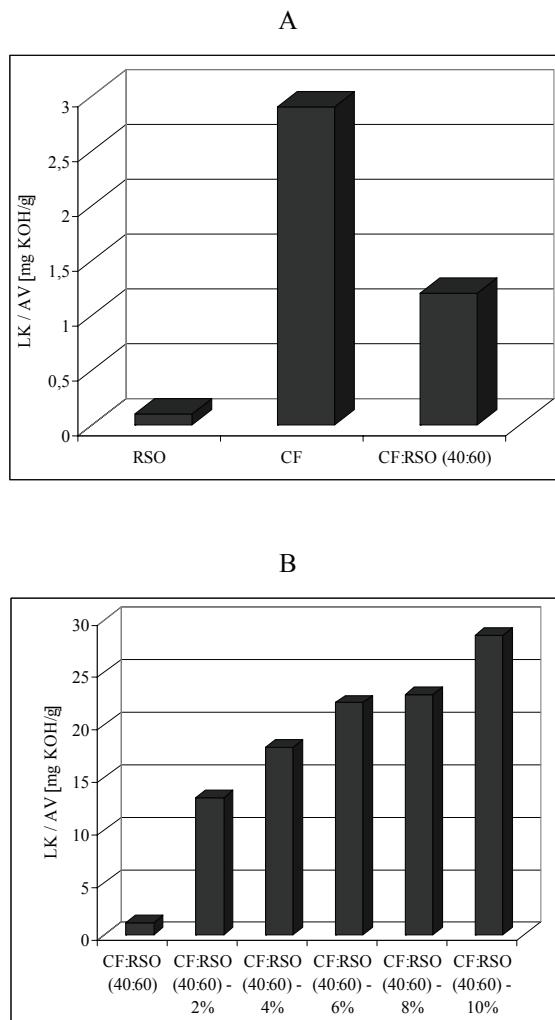
Proces przeestryfikowania enzymatycznego prowadzono w temp. 60 °C przez 2 h. Zawartość katalizatora była stała i wynosiła 8 % w stosunku do masy tłuszczu, natomiast zawartość wody w katalizatorze wynosiła od 2 do 10 %. Jeżeli ilość wody w preparacie enzymatycznym miała wynosić więcej niż 2 %, wówczas przed wprowadzeniem katalizatora do układu reakcyjnego dodawano do niego odpowiednią ilość wody (w przeliczeniu na masę Lipozymu) i dokładnie rozprowadzano w preparacie. Reakcje przerywano przez odfiltrowanie enzymu od przeestryfikowanej mieszaniny tłuszczów.

Surowce, wyjściową mieszaninę oraz tłuszcze będące produktami reakcji przeestryfikowania, rozdzielono na frakcje: polarną (niepełne acyloglicerole (MAG, DAG) i wolne kwasy tłuszczowe (WKT)) oraz niepolarną (TAG) za pomocą chromatografii kolumnowej [25]. W surowcach, mieszaninie wyjściowej i w produktach jej przeestryfikowania oznaczano: liczbę kwasową [26] i liczbę nadtlenkową [27] (metoda miareczkowa) oraz stabilność oksydacyjną (metoda Rancimat, temp. 100 °C) [28]. Z każdej próbki wykonywano dwa oznaczenia. Jako wynik przyjmowano średnią arytmetyczną dwóch oznaczeń. Skład kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach określano na podstawie wyników chromatografii gazowej (GLC) [24]. Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w pozycjach *sn*-1,3 i *sn*-2 triacylogliceroli przed i po przeestryfikowaniu oznaczano stosując metodę Brockerhoffa (selektywna enzymatyczna hydroliza TAG), chromatografię cienkowarstwową i GLC [2, 4]. Na podstawie oznaczeń liczby kwasowej i składu kwasów tłuszczowych obliczano zawartość wolnych kwasów tłuszczowych.

Wyniki i dyskusja

W procesie przeestryfikowania tłuszczów zachodzą jednocześnie dwie reakcje: częściowa hydroliza triacylogliceroli i ponowna reestryfikacja niepełnych acylogliceroli. Zgodnie z obserwacjami Ledóchowskiej [16, 17], w wyniku zarówno procesu prowadzonego wobec katalizatorów enzymatycznych, jak i chemicznych obserwowany jest wzrost liczby kwasowej produktów w stosunku do mieszanin wyjściowych. Na rys. 1. przedstawiono wartości liczby kwasowej (LK) surowców oraz mieszaniny wyjściowej przed i po przeestryfikowaniu enzymatycznym wobec preparatu Lipozyme RM IM.

Olej rzepakowy charakteryzował się liczbą kwasową równą 0,1 mg KOH/g, natomiast tłuszcz kurzy – 2,9 mg KOH/g. Oznaczona zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w oleju roślinnym wskazuje na bardzo dobrą jakość tego surowca. Nie stwierdzono przekroczenia wartości zalecanych w normie [23]. Zaobserwowano, że dodatek oleju rzepakowego do tłuszczu drobiowego, w ilości 60 % (m/m), spowodował zmniejszenie liczby kwasowej powstałej mieszaniny o ok. połowę, w porównaniu



Objaśnienia: / Explanatory notes:

CF – tłuszcz drobiowy / poultry fat; RSO – olej rzepakowy / rapeseed oil;

CF : RSO (40 : 60) – X % – przeestryfikowanie katalizowane preparatem Lipozyme RM IM zawierającym X % (2 – 10 %) wody w preparacie / interesterification catalyzed by a Lipozyme RM IM preparation containing X % (2 – 10 %) water in the preparation.

Rys. 1. Liczba kwasowa (LK): A – surowców i mieszaniny wyjściowej CF : RSO (40 : 60 m/m), B – mieszaniny przed i po przeestryfikowaniu enzymatycznym, [mg KOH/g].

Fig. 1. Acid value (AV) of: A – raw materials and starting mixture CF : RSO (40 : 60 w/w), B – mixture before and after enzymatic interesterification, [mg KOH/g].

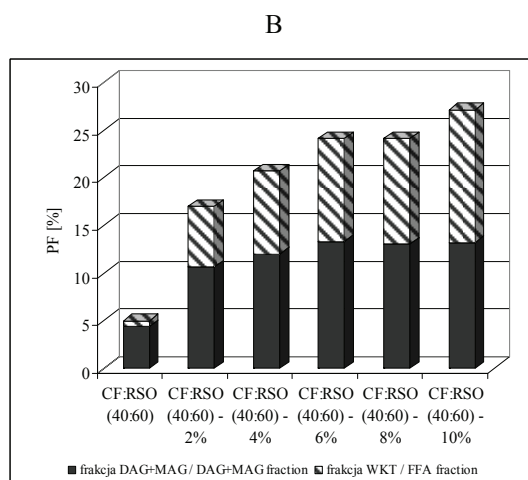
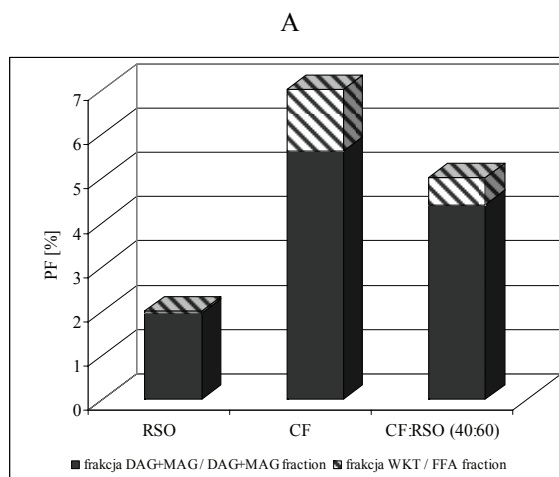
z surowcem wyjściowym – tłuszczem zwierzęcym. Znaczny wzrost liczby kwasowej uzyskano po przeestryfikowaniu badanej mieszaniny (CF : RSO 40 : 60 m/m). Wartość parametru (LK) była ściśle związana z zawartością wody (od 2 do 10 %) obecnej w preparacie enzymatycznym i rosła wraz ze zwiększającą się jej ilością. Najwyższą liczbą kwasową charakteryzował się produkt otrzymany w reakcji katalizowanej preparatem Lipozyme RM IM o 10-procentowej zawartości wody. Wartość ta ponad 23-krotnie przewyższała liczbę kwasową mieszaniny wyjściowej.

Przeestryfikowanie powoduje pojawienie się, obok triacylogliceroli, dodatkowych produktów: mono- i diacylogliceroli oraz wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) tworzących razem tzw. frakcje polarną (PF) (rys. 2.) [18]. Największy wzrost zawartości frakcji nietriacyloglicerolowej, do ok. 27 %, uzyskano w mieszaninie tłuszczów przeestryfikowanych w obecności katalizatora enzymatycznego zawierającego 10 % wody. Największy wpływ na wzrost zawartości frakcji polarnej i jednocześnie zmniejszenie udziału frakcji TAG ma zwiększająca się ilość wolnych kwasów tłuszczowych przy rosnącej ilości wody w biokatalizatorze Lipozyme RM IM. Zawartość frakcji WKT przed przeestryfikowaniem w stosunku do mieszaniny po przeestryfikowaniu wobec katalizatora zawierającego fabryczną ilość wody wzrosła z 0,6 do 6,4 %, natomiast całkowita ilość PF z 5 do 17 %. Należy zwrócić uwagę na to, że zawartość PF w surowcach wyjściowych wynosiła: tłuszcz drobiowy – 7 %, olej rzepakowy – 2 %. Proces mieszania obu tłuszczów w proporcjach CF : RSO 40 : 60 (m/m) wpłynął na zmniejszenie ilości niepełnych acylogliceroli i WKT w uzyskanej mieszaninie.

Jedną z ważniejszych właściwości użytkowych produktu tłuszczowego jest jego odporność na utlenianie. Stabilność przeciwutleniająca zależy od składu i struktury kwasów tłuszczowych oraz od struktury cząsteczek triacylogliceroli, a także od ilości i jakości substancji towarzyszących triacyloglicerolom [21]. Im bardziej nienasycony jest kwas tłuszczowy, tym łatwiej ulega on utlenieniu, dlatego niezmiernie ważna jest ilość i rozmieszczenie w cząsteczkach triacylogliceroli kwasów polienowych, podatnych na utlenianie [19].

W badanych układach, przed i po przeestryfikowaniu, a także w surowcach i mieszaninie wyjściowej określono strukturę wyodrębnionych z nich matryc triacyloglicerolowych. Procentowy skład kwasów tłuszczowych we frakcji TAG oraz rozkład tych kwasów w poszczególnych pozycjach triacylogliceroli: tłuszczu drobiowego i oleju rzepakowego przedstawiono w tab. 1. i 2., mieszaniny CF : RSO (40 : 60 m/m) – tab. 3. oraz wybranego produktu przeestryfikowania w tab. 4. W oleju rzepakowym kwasem występującym w przeważającej ilości był kwas oleinowy (ponad 63 %), który zajmuje w głównej mierze pozycje zewnętrzne. Obok tego kwasu w dość znacznej ilości obecny był również kwas linolowy (19 %) występujący prawie w 50 % w pozycji środkowej TAG i kwas α -linolenowy (ok. 8 %). Tłuszczem zwierzęcym użytym do

badan był tłuszcz drobiowy – kurzy, sadełkowy. Głównymi składnikami tego tłuszczu były kwasy: oleinowy (ok. 46 %), palmitynowy (27 %) i linolowy (ok. 11 %).



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

Rys. 2. Zawartość składników polarnych (PF): A – surowców i mieszaniny wyjściowej CF : RSO (40 : 60 m/m), B – mieszaniny przed i po przeestryfikowaniu enzymatycznym.

Fig. 2. Content of polar fractions (PF) in: A – raw materials and starting mixture CF: RSO (40 : 60 w/w), mixture before and after enzymatic interesterification.

Tabela 1

Skład ważniejszych kwasów tłuszczowych w pozycjach zewnętrznych (*sn*-1,3) i wewnętrznej (*sn*-2) triacylogliceroli (TAG) tłuszczu drobiowego (CF) oraz udział poszczególnych kwasów w pozycjach *sn* – 2. Composition of major fatty acids in the external (*sn*-1,3) and internal (*sn*-2) positions in the triacylglycerols (TAG) obtained from poultry fat (CF), and the per cent distribution of individual acids in the *sn*-2 position.

Rodzaj kwasu tłuszczowego Type of fatty acid	Skład kwasów tłuszczowych w TAG Total fatty acids in TAG [%]	Skład kwasów tłuszczowych w pozycjach Fatty acid distribution in the positions [%]		Udział danego kwasu tłuszczowego w pozycjach <i>sn</i> -2 A given fatty acid distribution in the <i>sn</i> -2 position [%]
		<i>sn</i> -2	<i>sn</i> -1,3	
14:0	1,1	2,4	0,5	72,7
16:0	27,0	22,5	29,4	27,7
16:1 (9c)	5,9	4,4	6,7	24,9
18:0	6,1	4,3	7,0	23,5
18:1 (9t)	0,2	0,3	0,15	50,0
18:1 (9c)	46,1	49,7	44,3	35,9
18:2 (9c, 12c)	11,1	14,3	9,5	42,9
18:3 (9c,12c, 15c)	1,2	0,9	1,4	25,0

Tabela 2

Skład ważniejszych kwasów tłuszczowych w pozycjach zewnętrznych (*sn*-1,3) i wewnętrznej (*sn*-2) triacylogliceroli (TAG) oleju rzepakowego (RSO) oraz udział poszczególnych kwasów w pozycjach *sn*-2. Composition of major fatty acids in the external (*sn*-1,3) and internal (*sn*-2) positions in the triacylglycerols (TAG) obtained from rapeseed oil (RSO), and the per cent distribution of individual acids in the *sn*-2 position.

Rodzaj kwasu tłuszczowego Type of fatty acid	Skład kwasów tłuszczowych w TAG Total fatty acids in TAG [%]	Skład kwasów tłuszczowych w pozycjach Fatty acid distribution in the positions [%]		Udział danego kwasu tłuszczowego w pozycjach <i>sn</i> -2 A given fatty acid distribution in the <i>sn</i> -2 position [%]
		<i>sn</i> -2	<i>sn</i> -1,3	
16:0	5,5	8,1	4,2	49,1
16:1 (9c)	0,2	0,2	0,2	33,3
18:0	1,5	1,9	1,3	42,2
18:1 (9c)	63,5	53,4	68,6	28,0
18:2 (9c, 12c)	19,0	27,0	15,0	47,4
18:3 (9c,12c, 15c)	8,5	8,6	8,5	33,7

Tabela 3

Skład ważniejszych kwasów tłuszczowych w pozycjach zewnętrznych (*sn*-1,3) i wewnętrznej (*sn*-2) triacylogliceroli (TAG) mieszaniny CF i RSO o składzie 40 : 60 (m/m) oraz udział poszczególnych kwasów w pozycjach *sn*-2.

Composition of major fatty acids in the external (*sn*-1,3) and internal (*sn*-2) positions in the triacylglycerols (TAG) obtained from a mixture CF:RSO (40: 60 w/w), and the per cent distribution of individual acids in the *sn*-2 position.

Rodzaj kwasu tłuszczowego Type of fatty acid	Skład kwasów tłuszczowych w TAG Total fatty acids in TAG [%]	Skład kwasów tłuszczowych w pozycjach Fatty acid distribution in the positions [%]		Udział danego kwasu tłuszczowego w pozycjach <i>sn</i> -2 A given fatty acid distribution in the <i>sn</i> -2 position [%]
		<i>sn</i> -2	<i>sn</i> -1,3	
14:0	0,5	1,1	0,2	73,3
16:0	13,9	11,4	15,6	27,3
16:1 (9c)	2,6	1,9	3,0	24,4
18:0	3,3	2,1	3,9	21,2
18:1 (9t)	0,1	0,2	0,1	66,7
18:1 (9c)	56,7	52,7	58,7	31,0
18:2 (9c, 12c)	15,9	23,6	12,1	49,5
18:3 (9c,12c, 15c)	5,6	6,4	5,2	38,1

O właściwościach chemicznych i fizycznych surowców decyduje skład kwasów tłuszczowych i struktura występujących w nich triacylogliceroli, jak i substancje im towarzyszące – frakcja nieglicerolowa (np. naturalne przeciwutleniacze). Skład kwasów tłuszczowych mieszaniny fizycznej uzależniony jest od proporcji poszczególnych składników, czyli tłuszczu kurzego i oleju rzepakowego. Analizując skład kwasów tłuszczowych w mieszaninie stwierdzono obecność izomeru trans kwasu oleinowego, źródłem którego był tłuszcz drobiowy – kurzy, jednak jego ilość nie przekraczała 0,1 % całej puli kwasów tłuszczowych TAG. Analizując skład kwasów tłuszczowych TAG w mieszaninie przeestryfikowanej odnotowano, że prowadząc proces w obecności preparatu Lipozyme RM IM, zawierającego 2% wody (m/m), generalnie nie uległ on zmianie w porównaniu ze składem kwasów tłuszczowych mieszaniny wyjściowej. Stwierdzono, że ilości poszczególnych kwasów w pozycji *sn*-2 mieszaniny wyjściowej i produktów ich przeestryfikowania były bardzo zbliżone. Wynika to z faktu, że przeestryfikowanie w obecności *sn*-1,3 specyficznego preparatu Lipozyme RM IM zaszło w pozycjach zewnętrznych cząsteczek TAG i nie nastąpiła hydroliza wiązań estrowych w pozycji wewnętrznej. O zajściu procesu świadczyć może obecność w produkcie reakcji znacznie większej ilości frakcji polarnej w porównaniu z mieszaniną wyjściową. W produkcie po przeestryfikowaniu wobec preparatu enzymatycznego zawierającego 10 % wody (m/m) można było zauważyć pewne różnice ilości kwasów w pozycji

sn-2 w stosunku do mieszaniny wyjściowej. Może być to spowodowane zachodzącymi w trakcie procesu ubocznymi reakcjami określanymi jako migracja acyli [32]. Zestawienie udziału ważniejszych kwasów tłuszczowych w próbkach TAG wyizolowanych z mieszaniny wyjściowej i mieszanin po przeestryfikowaniu enzymatycznym przedstawiono w tab. 5.

Tabela 4

Skład ważniejszych kwasów tłuszczowych w pozycjach zewnętrznych (*sn*-1,3) i wewnętrznej (*sn*-2) triacylogliceroli (TAG) produktu przeestryfikowania enzymatycznego w obecności preparatu Lipozyme RM IM (zawartość wody w preparacie: 2 %) mieszaniny CF i RSO o składzie 40 : 60 (m/m) oraz udział poszczególnych kwasów w pozycjach *sn*-2.

Composition of major fatty acids in the external (*sn*-1,3) and internal (*sn*-2) positions in the triacylglycerols (TAG) obtained from a mixture CF:RSO (40 : 60 w/w), and the per cent distribution of individual acids in the *sn*-2 position after the enzymatic interesterification performed with a Lipozyme RM IM preparation (containing 2 % of water).

Rodzaj kwasu tłuszczowego Type of fatty acid	Skład kwasów tłuszczowych w TAG Total fatty acids in TAG [%]	Skład kwasów tłuszczowych w pozycjach Fatty acid distribution in the position [%]		Udział danego kwasu tłuszczowego w pozycjach <i>sn</i> -2 A given fatty acid distribution in the <i>sn</i> -2 position [%]
		<i>sn</i> -2	<i>sn</i> -1,3	
14:0	0,5	1,1	0,2	73,3
16:0	13,0	11,3	13,9	29,0
16:1 (9c)	2,3	2,0	2,5	29,0
18:0	3,2	2,1	3,8	21,9
18:1 (9t)	0,1	0,2	0,1	66,7
18:1 (9c)	58,2	52,6	61,0	30,1
18:2 (9c, 12c)	16,1	23,7	12,3	49,1
18:3 (9c,12c, 15c)	5,3	6,5	4,8	40,9

Zmiany w składzie kwasów tłuszczowych, a zwłaszcza wzrost zawartości kwasów nienasyconych w analizowanej mieszaninie, jak i produktach przeestryfikowania, spowodował w efekcie to, że w temperaturze pokojowej mają one konsystencję płynną.

Analizując stabilność przeciwutleniającą surowców i mieszanin fizycznych (rys. 3A) zaobserwowano, że najwyższą stabilnością charakteryzował się olej rzepakowy, a najniższą tłuszcz drobiowy – kurzy. Okres indukcji oleju rzepakowego był prawie 11-krotnie dłuższy niż tłuszczu drobiowego. Lipidy należą do związków wyjątkowo labilnych i szczególnie mało odpornych na działanie czynników utleniających. Proces przeestryfikowania może wpływać na odporność na utlenianie, a tym samym na trwałość produktu tłuszczowego [3]. Zwiększona zawartość frakcji nietriacyloglicerolowej (WKT, MAG i DAG) w uzyskanym produkcie może obniżać jego odporność na

Tabela 5

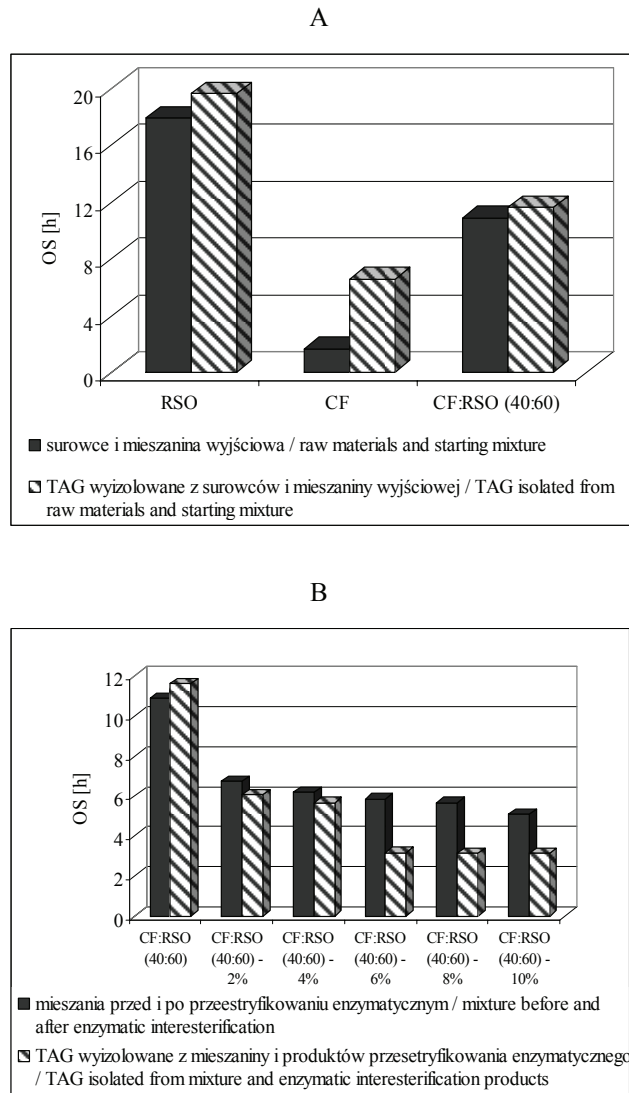
Udział ważniejszych kwasów tłuszczowych w danej próbce TAG, wyizolowanej z mieszaniny wyjściowej i mieszanin po przeestryfikowaniu enzymatycznym.

The per cent distribution of major fatty acids in a given triacylglycerol (TAG) sample obtained from the starting mixture and the mixtures after the enzymatic interesterification.

Rodzaj kwasu tłuszczowego Type of fatty acid	Udział ważniejszych kwasów tłuszczowych w danej próbce TAG Distribution of major fatty acids in a given TAG sample [%]					
	Mieszanina wyjściowa Starting mixture	Zawartość wody w katalizatorze / Water content in catalyst [%]				
		2	4	6	8	10
16:0	13,9	13,0	14,8	16,3	16,1	12,2
16:1 (9c)	2,6	2,3	2,9	3,3	3,2	2,2
18:0	3,3	3,2	3,2	3,0	2,9	3,2
18:1 (9c)	56,7	58,3	55,8	54,1	54,6	57,9
18:2 (9c, 12c)	15,9	16,1	16,0	16,0	16,0	16,5
18:3 (9c, 12c, 15c)	5,6	5,3	5,4	5,3	5,5	5,8

utlenianie. Dodatkowo tokoferole, które są przeciwutleniaczami, ulegają estryfikacji, a ich estry tracą właściwości przeciwutleniające. Inne przeciwutleniacze mogą ulegać dezaktywacji. Dlatego też po przeestryfikowaniu obserwowano zmniejszenie stabilności przeciwutleniającej wszystkich produktów w porównaniu z mieszaniną wyjściową (rys. 3B). Triacyloglicerole wyizolowane z produktów przeestryfikowania charakteryzują się niższą od nich stabilnością oksydacyjną.

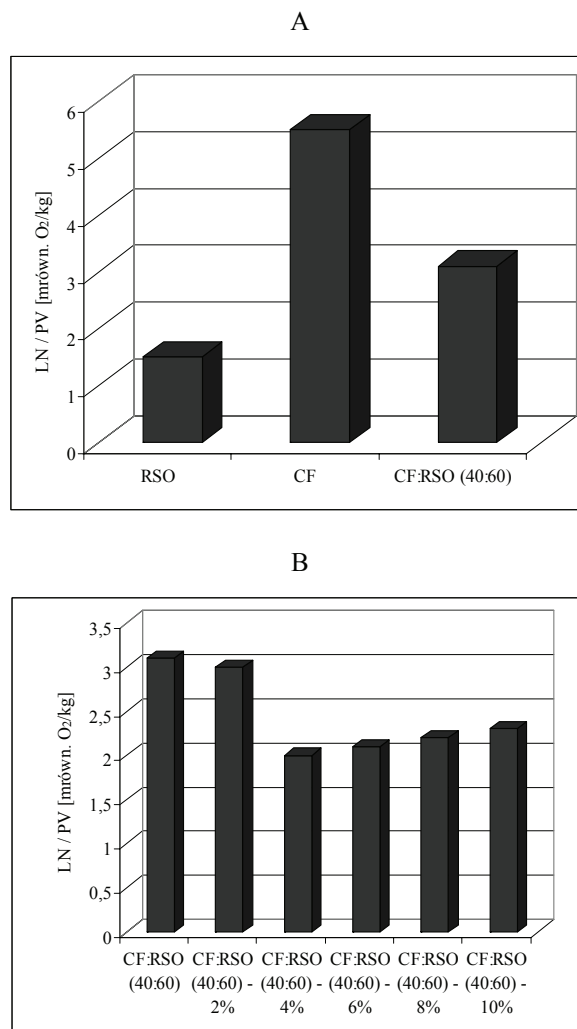
Analizując liczby nadtlenkowe (LN) badanych surowców i mieszanin fizycznych stwierdzono, że największą zawartością nadtlenków charakteryzował się tłuszcz drobiowy – kurzy – 5,5, natomiast najmniejszą olej rzepakowy – 1,5 (wartości LN wyrażone są w milirównowaznikach aktywnego tlenu/kg). Poziom nadtlenków w oleju rzepakowym nie przekraczał wartości zalecanych w Polskiej Normie [23]. W mieszaninach po procesie przeestryfikowania obserwowano początkowo zmniejszenie liczby nadtlenkowej produktu przeestryfikowanego w obecności preparatu enzymatycznego zawierającego 4 % wody (m/m), a następnie niewielki, systematyczny wzrost LN w porównaniu z mieszaniną wyjściową. W temperaturze badanego procesu przeestryfikowania (wyższej niż temperatura pokojowa) następuje wzrost szybkości utleniania, a okres indukcji ulega skróceniu. Większość reaktywnych składników ulega utlenieniu i zaczynają przeważać reakcje rozkładu nadtlenków (powstanie wtórnych produktów utleniania), a wartość LN obniża się. Takie zjawisko zaszło w przypadku wszystkich produktów poddanych modyfikacji w stosunku do mieszaniny wyjściowej.



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

Rys. 3. Stabilność oksydacyjna (OS): A – surowców i mieszaniny wyjściowej CF : RSO (40 : 60 m/m) oraz TAG wyizolowanych z surowców i mieszaniny, B – mieszaniny przed i po przeestryfikowaniu enzymatycznym oraz TAG wyizolowanych z mieszaniny i produktów przeestryfikowania enzymatycznego, [h].

Fig. 3. Oxidative stability (OS) of: A – raw materials and starting mixture CF: RSO (40 : 60 w/w), and TAG isolated from raw materials and starting mixture; B – mixture before and after enzymatic interesterification, and TAG isolated from mixture and products of enzymatic interesterification, [hours].



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

Rys. 4. Liczba nadtlenkowa (LN): A – surowców i mieszaniny wyjściowej CF : RSO (40 : 60 m/m), B – mieszaniny wyjściowej przed i po przeestryfikowaniu enzymatycznym, [milirównoważniki O₂/kg].

Fig. 4. Peroxide value (PV) of: A – raw materials and starting mixture CF:RSO (40:60 w/w); B – mixture before and after enzymatic interesterification, [milliequivalent O₂/kg].

Wnioski

- Po procesie przeestryfikowania oleju rzepakowego, tłuszczu drobiowego – kurzego oraz ich mieszanin takie parametry, jak liczba kwasowa i zawartość składników polarnych w produktach przeestryfikowania wzrosły. Wartość tych parametrów ro-

- sła wraz ze wzrostem zawartości wody w zastosowanym preparacie enzymatycznym.
2. Dodatek oleju rzepakowego wpłynął na wzrost zawartości kwasów: oleinowego, linolowego i linolenowego w produktach modyfikowanych w stosunku do czystego tłuszczu drobiowego. Skład jakościowy kwasów tłuszczowych po przeestryfikowaniu w stosunku do mieszaniny pozostał niezmienny.
 3. Stabilność przeciwutleniająca mieszaniny wyjściowej (tłuszcz drobiowy : olej rzepakowy, 40 : 60 m/m) zmalała w stosunku do oleju rzepakowego, a wzrosła w stosunku do tłuszczu drobiowego. W porównaniu z mieszaniną wyjściową, stabilność oksydacyjna wszystkich przebadanych produktów przeestryfikowania uległa znacznemu obniżeniu.

Badania wykonywane pod opieką naukową: prof. dr hab. B. Kowalskiego. Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ. Łódź, 28 – 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Antczak T., Krystanowicz A., Galas E.: Enzymatyczna hydroliza tłuszczów odpadowych. *Biotechnologia*, 2000, **2** (49), 120-130.
- [2] Brockerhoff H.: A stereospecific analysis of triglycerides. *J. Lipid Res.*, 1965, **6**, 10-15.
- [3] Drozdowski B.: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. WNT, Warszawa 1994, s. 167-188 i 208-226.
- [4] Drozdowski B.: Wpływ budowy glicerydów i występujących w nich kwasów tłuszczowych na mechanizm hydrolizy enzymatycznej. *Zesz. Nauk. Politechniki Gdańskiej. Chemia*, 1974, **25**, 3-86.
- [5] Dybowski G.: Perspektywy rozwoju produkcji drobiarskiej w Polsce do 2005 r. *Przem. Spoż.*, 2000, **3** (54), 3-5.
- [6] Goodrum J. W., Geller D. P., Adams T. T.: Rheological characterization of yellow grease and poultry fat. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2002, **79** (10), 961-964.
- [7] Gruczyńska E., Kowalski B., Tarnowska K., Dziurosz J., Kowalska M., Bekas W.: Modification of beef tallow and its mixtures with rapeseed oil by chemical interesterification. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 2002, **79**, 391-394.
- [8] Gruczyńska E., Maciaszek K.: Przeestryfikowanie jako metoda modyfikacji właściwości lipidów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **3** (24) Supl., 31-38.
- [9] Kijowski J.: Wartość żywieniowa mięsa drobiowego. *Przem. Spoż.*, 2000, **3** (54), 10-11.
- [10] Kowalski B.: Termokinetyczna analiza utleniania olejów i tłuszczów jadalnych. Wydawnictwo SGGW, Warszawa 1994.
- [11] Kowalski B., Gruczyńska E., Maciaszek K.: Kinetics of rapeseed oil oxidation by pressure differential scanning calorimetry measurements. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2000, **102**, 337-341.
- [12] Kowalski B., Tarnowska K., Gruczyńska E., Bekas W.: Chemical and enzymatic interesterification of beef tallow and rapeseed oil blend with low content of tallow. *J. Oleo Sci.*, 2004, **53** (10), 479-488.
- [13] Krygier K., Wroniak M., Dobczyński K., Kiełt I., Grześkiewicz S., Obiedziński M.: Charakterystyka wybranych rynkowych olejów tłoczonych na zimno. *Rośliny Oleiste*, 1998, **19**, 573-582.

- [14] Lee K-T., Foglia T. A.: Fractionation of chicken fat triacylglycerols: synthesis of structured lipids with immobilized lipases. *J. Food Sci.*, 2000, **65** (5), 826-831.
- [15] Lee K-T., Foglia T. A.: Synthesis, purification, and characterization of structured lipids produced from chicken fat. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2000, **77** (10), 1027-1034.
- [16] Ledóchowska E.: Wybrane aspekty enzymatycznego przeestryfikowania triacylogliceroli. *Wyd. Nauk. Politechniki Gdańskiej. Chemia*, 1999, s. 1-81.
- [17] Ledóchowska E.: Zastosowanie enzymatycznego przeestryfikowania do modyfikacji tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30** (2), 43-47.
- [18] Ledóchowska E., Datta I.: Optimization of enzymatic interesterification of fats to increase the content of triacyloglycerols in the reaction product. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1998, **7/48** (4), 683-690.
- [19] Ledóchowska E., Datta I.: Wpływ frakcji nietriacyloglicerolowej na stabilność oksydacyjną tłuszczu przeestryfikowanego chemicznie i enzymatycznie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **1**, 15-24.
- [20] MacKenzie A. D., Stevenson D. E.: Modification of the nutritional properties of fats using lipase catalyzed directed interesterification. *Biotechnol. Lett.*, 1995, **17** (4), 383-388.
- [21] Płatek T.: Metoda określania stabilności oksydacyjnej olejów i tłuszczów metoda Rancimat. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30** (1), 25-34.
- [22] PN- EN ISO 662:2001. Tłuszcze roślinne jadalne. Metody badań. Oznaczanie zawartości wody i substancji lotnych
- [23] PN-A-86908:2000. Tłuszcze roślinne jadalne. Rafinowane oleje roślinne.
- [24] PN-EN ISO 5508: 1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [25] PN-EN ISO 8420:2004. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie zawartości związków polarnych.
- [26] PN-ISO 660:1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości.
- [27] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby nadtlenkowej.
- [28] PN-ISO 6886:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie stabilności oksydacyjnej (test przyspieszonego utleniania).
- [29] Ptasznik S.: Aspekty modyfikacji tłuszczów w procesie przeestryfikowania chemicznego. *Mat. VIII Międzyn. Konf. Nauk., Podlesice k/Krazy 2000*, s. 27-37.
- [30] Schmidt Š., Hurtová S., Zemanovič J., Sekretár S., Šimon P., Ainsworth P.: Preparation of modified fats from vegetable oil and fully hydrogenated vegetable oil by randomization with alkali catalysts. *Food Chem.*, 1996, **55**, 343-348.
- [31] Quinlan P., Moore S.: Modification of triglycerides by lipases: process technology and its application to the production of nutritionally improved fats. *Inform*, 1993, **4** (5), 580-585.
- [32] Xu X., Skands A. R. H., Adler-Nissen J., Høy C. E.: Production of specific structured lipids by enzymatic interesterification: optimization of the reaction by response surface design. *Fett/Lipid*. 1998, **100** (10), 463-471.

CHARACTERIZATION OF POULTRY FAT AND RAPESEED OIL MIXTURE PRIOR TO AND AFTER THE ENZYMATIC INTERESTERIFICATION


S u m m a r y

Poultry fat, one of the by-products in the meat industry, is an inexpensive raw material produced in considerable quantities; however, it is not attractive to consumers. Compared to the fat of mammals, it is

characterized by a highly desirable composition of fatty acids. There is a potential option to technologically modify this fat by blending it, fractioning it, or by its interesterification.

The objective of this study was to characterize the source materials, a mixture of poultry fat and rapeseed oil (40 : 60 w/w) and to determine the impact of enzymatic interesterification on some selected properties of this mixture. The process of interesterification was enzymatically catalyzed using a Lipozyme RM IM preparation. The following parameters were analyzed of the raw materials, of the starting mixture, and of the crude products after the interesterification: acid value and peroxide value, oxidative stability, polar fraction content, as well as the fatty acid composition and the *sn*-2 and *sn*-1,3 distributions of fatty acids in the triacylglycerides.

It was found that the addition of rapeseed oil caused the content of oleic, linoleic, and linolenic acids to increase compared to the raw poultry fat. The qualitative fatty acid content remained unchanged after the interesterification. The oxidative stability of the final interesterification product was significantly reduced compared to one of the components (rapeseed oil) and to the starting mixture, but it increased if compared to the second raw material, i.e. to the poultry fat. The starting mixture proved to be the most resistant to oxidation compared to the interesterification products. The parameters such as acid value and polar fraction content increased after the interesterification. Their increase was proportional to the water content in the enzymatic preparation used. Both the raw materials and the interesterification products are liquid at a room temperature.

Key words: enzymatic interesterification, poultry fat, rapeseed oil, Lipozyme RM IM 

MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ, BOLESŁAW KOWALSKI

WPLYW AKTYWNOŚCI WODY NA STABILNOŚĆ HYDROLITYCZNA I OKSYDATYWNA TŁUSZCZU WYEKSTRAHOWANEGO Z ZIAREN KUKURYDZY

Streszczenie

Tłuszcze zawarte w produktach spożywczych ulegają w naturalnych warunkach wielu przemianom. Zalicza się do nich hydrolizę i autooksydację. Hydroliza tłuszczów prowadzi do powstawania niepełnych acylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych.

Celem pracy było określenie wpływu aktywności wody na stabilność hydrolityczną i oksydacyjną tłuszczu pochodzącego z ziaren kukurydzy. Próbki kukurydzy przechowywano w atmosferze o trzech różnych aktywnościach wody: 0,328; 0,753; 0,903 w temperaturze 25 °C przez trzy miesiące. Po każdym miesiącu przechowywania ekstrahowano tłuszcz i oznaczano liczbę kwasową, zawartość składników polarnych oraz stabilność oksydacyjną.

Przechowywanie ziaren kukurydzy, niezależnie od aktywności wody, powodowało wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej oraz obniżenie stabilności oksydacyjnej w wyekstrahowanym tłuszczu. Największe zmiany hydrolityczne i oksydacyjne występowały w tłuszczu wyizolowanym z ziaren kukurydzy przechowywanych w atmosferze o najwyższej, spośród badanych, aktywności wody.

Słowa kluczowe: kukurydza, hydroliza, lipidy, stabilność oksydacyjna

Wprowadzenie

Kukurydza zwyczajna (*Zea mays L.*) to gatunek rośliny jednorocznej z rodziny wiechlinowatych, należącej do zbóż. Jej cechy powodują, że jest stosowana w żywieniu człowieka oraz użytkowana jako surowiec pastewny i przemysłowy. Do tych celów wykorzystuje się ziarno, całe kolby lub całe rośliny [4, 14].

Większą część ziarna zajmuje bielmo (średnio 82,9 %), w którym skrobia jest głównym składnikiem. Występuje ona w postaci drobnych ziarenek wypełniających wnętrze ziarna. W znacznej ilości występuje też błonnik (średnio 9,5 %), przy czym największa jego część umiejscowiona jest w szypułce [1, 5]. Bielmo i warstwa aleuro-

nowa zawierają też substancje mineralne, ale dużą zawartością tych składników wyróżnia się zarodek – ok. 78 % całej ilości soli mineralnych [5]. Całe ziarno zawiera średnio 4,3 % lipidów. Składnik ten zgromadzony jest głównie w zarodku, który stanowi ok. 11,1 % masy całego ziarna. W tej części ziarna znajduje się ok. 33,2 % tłuszczu [1].

Tłuszcze zawarte zarówno w produktach, które zawierają duże ilości tego składnika, jak i w produktach które charakteryzują się niskim poziomem lipidów, ulegają wielu przemianom w naturalnych warunkach i podczas procesów technologicznych. Przemiany te można rozważać jako pożądane lub niepożądane. Pierwsze z nich to wszelkiego rodzaju modyfikacje. Drugie wywołują niekorzystne zmiany w tłuszczach, które pogarszają wartość żywieniową produktu. Do tych przemian zalicza się hydrolizę i autooksydację [2].

Hydroliza tłuszczów związana jest z rozpadem wiązań estrowych w cząsteczkach triacylogliceroli pod wpływem wody. Proces ten prowadzi do powstawania diacylogliceroli, monoacylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych, a w skrajnych przypadkach glicerolu. Uwolnione na skutek hydrolizy kwasy mogą ulegać dalszym wtórnym przemianom o charakterze oksydacyjnym. Proces ten często ogranicza lub wręcz uniemożliwia wykorzystanie i dalsze przechowywanie artykułów spożywczych [2].

Celem pracy było określenie wpływu aktywności wody na stabilność hydrolityczną i oksydacyjną tłuszczu wyekstrahowanego z ziaren kukurydzy, w trakcie trzymiesięcznego przechowywania, poprzez wykazanie zmian, jakie zachodzą w lipidach wyekstrahowanych z ziaren po każdym miesiącu przechowywania.

Material i metody badań

Ziarno kukurydzy pochodziło z Centrali Nasionnej w Warszawie. Próbkki kukurydzy przechowywano w atmosferze o trzech różnych aktywnościach wody: 0,328; 0,753; 0,903 w temp. 25 °C przez 3 miesiące. Badania prowadzono w eksykatorach zawierających nasycone roztwory soli, zapewniające określone warunki wilgotności względnej powietrza. Po każdym miesiącu przechowywania ekstrahowano tłuszcz i oznaczano liczbę kwasową, zawartość składników polarnych oraz stabilność oksydacyjną. Otrzymane wyniki porównywano z próbą kontrolną, czyli z tłuszczem wyekstrahowanym ze świeżych ziaren kukurydzy oraz przechowywanych w temp. 10 °C. Wilgotność próby kontrolnej nie przekraczała 15 %.

Rozdrobione ziarna kukurydzy poddawano jednokrotnej ekstrakcji na zimno, przy użyciu heksanu. Zawartość tłuszczu w kukurydzy wynosiła około 4,7 %. W tłuszczu wyekstrahowanym oznaczano: liczbę kwasową metodą miareczkową [12], zawartość frakcji polarnej metodą chromatografii kolumnowej (długość kolumny 45 cm, średnica wewnętrzna 2 cm, faza stała Silica gel 60 firmy Merck Sp. z o. o. – wielkość ziaren 0,063 – 0,200 mm tj. 70 – 230 mesh ASTM) [11] oraz stabilność oksydacyjną

metodą Rancimat (temp. pomiaru 120 °C, przepływ powietrza 10 dm³/h) [10]. Każde oznaczenie wykonano w dwóch równoległych powtórzeniach. Znając średnie wartości liczb kwasowych obliczano zawartość wolnych kwasów tłuszczowych. W tym celu wyznaczano masę molową hipotetycznego kwasu tłuszczowego analizowanego surowca. Średnią masę molową hipotetycznego kwasu obliczano na podstawie masy molarnej i procentowej zawartości wybranych kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach tłuszczu wyizolowanego z badanego surowca. Bezwzględna różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wolnych kwasów tłuszczowych nie przekraczała 3 % wartości średniej tych wyników, co jest zgodne z Polską Normą [12]. W przypadku oznaczeń zawartości związków polarnych bezwzględne różnice pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń nie były większe niż 1 %.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej, stosując oprogramowanie Statgraphics Plus v.4.1 oraz arkusz kalkulacyjny Excel. Przeprowadzono analizę wariancji z użyciem testu LSD ($\alpha = 0,05$), przyjmując następujące czynniki doświadczenia: czas przechowywania oraz aktywność wody.

Wyniki i dyskusja

Bardzo ważną rolę w przechowywaniu ziarna zbóż odgrywa woda. Bierze ona udział zarówno w procesach fizycznych, fizjologicznych, chemicznych, jak i mikrobiologicznych. Reakcje chemiczne zachodzą w każdym zakresie aktywności wody, ale z różną szybkością, przy czym w niektórych reakcjach i przy określonych wartościach a_w woda może nawet zmieniać ich kierunek [9]. W procesach psucia się tłuszczów woda działa bezpośrednio, biorąc udział w różnych reakcjach oraz pośrednio umożliwiając działanie drobnoustrojów i enzymów [14, 15]. Zapewnienie odpowiednich warunków podczas magazynowania, a szczególnie odpowiedniej wilgotności i temperatury gwarantuje odpowiednią jakość surowców. W przyjętym modelu badań sprawdzano w jaki sposób skrajne wartości aktywności wody wpływają na procesy hydrolityczne zachodzące w tłuszczu pochodzącym z ziarna.

W trakcie trzymiesięcznego przechowywania ziaren kukurydzy, niezależnie od aktywności wody, nastąpił statystycznie istotny wzrost zawartości frakcji polarnej i wolnych kwasów tłuszczowych w tłuszczu wyekstrahowanym z tych ziaren (tab. 1 i 2). Wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych mógł być spowodowany częściową hydrolizą wiązań estrowych w cząsteczkach triacylogliceroli lipidów kukurydzy [14, 15].

Analizując wpływ aktywności wody na zmiany hydrolityczne nie zaobserwowano statystycznie istotnej różnicy zawartości frakcji polarnej i wolnych kwasów tłuszczowych pomiędzy tłuszczem pochodzącym z kukurydzy przechowywanej w atmosferze o najniższej aktywności wody a próbką kontrolną (tab. 1 i 2). Pomimo niskiej aktywności wody (na poziomie 0,328) w tłuszczu wyekstrahowanym z ziaren kukurydzy

zachodzą jednak przemiany hydrolityczne. Różnice zawartości frakcji polarnej i wolnych kwasów tłuszczowych w tłuszczu po każdym miesiącu przechowywania były statystycznie istotne.

Biorąc pod uwagę wyniki przeprowadzonych badań stwierdzono, że im wyższa była aktywność wody, tym większe zmiany hydrolityczne następowały w tłuszczu kukurydzianym.

Tabela 1

Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w lipidach wyizolowanych z ziaren kukurydzy, w trakcie ich przechowywania w atmosferze o różnej aktywności wody.

Concentration of free fatty acids in lipids isolated from corn grains during their storage in the atmosphere characterized by different water activity.

Aktywność wody Water activity	Okres przechowywania [miesiące] Time of storage [months]	FFA [%]	Odchylenie standardowe Standard deviation	Grupy jednorodne* Homogeneous groups*	Grupy jednorodne* Homogeneous groups*
Próba kontrolna Control sample	0	5,99	± 0,30	a	a
	1	6,50	± 0,13	b	
	2	7,45	± 0,17	c	
	3	7,93	± 0,17	d	
0,328	0	5,99	± 0,30	a	a
	1	6,61	± 0,03	b	
	2	7,52	± 0,15	c	
	3	8,05	± 0,08	d	
0,753	0	5,98	± 0,30	a	b
	1	9,99	± 0,05	b	
	2	12,72	± 0,09	c	
	3	15,32	± 0,14	d	
0,903	0	5,99	± 0,30	a	c
	1	12,51	± 0,05	b	
	2	16,35	± 0,20	c	
	3	19,16	± 0,03	d	

*te same litery oznaczają brak różnic istotnych statystycznie (ANOVA, $p \leq 0,001$)

*the same letters mean that no statistically significant differences occur (ANOVA, p - value $\leq 0,001$)

Tabela 2

Zawartość frakcji polarnej w lipidach wyizolowanych z ziaren kukurydzy w trakcie ich przechowywania w atmosferze o różnej aktywności wody.

Content of polar fraction in lipids isolated from corn grains during their storage in period of storage in the atmosphere characterized by different water activity.

Aktywność wody Water activity	Okres przechowywania [miesiące] Time of storage [months]	PF [%]	Odchylenie standardowe Standard deviation	Grupy jednorodne* Homogeneous groups*	Grupy jednorodne* Homogeneous groups*
Próba kontrolna Control sample	0	6,88	± 0,20	a	a
	1	8,74	± 0,14	b	
	2	13,61	± 0,04	c	
	3	15,01	± 0,16	d	
0,328	0	6,88	± 0,20	a	a
	1	8,71	± 0,01	b	
	2	13,61	± 0,10	c	
	3	15,11	± 0,08	d	
0,753	0	6,88	± 0,20	a	b
	1	11,29	± 0,21	b	
	2	16,14	± 0,16	c	
	3	19,58	± 0,36	d	
0,903	0	6,88	± 0,20	a	c
	1	13,73	± 0,15	b	
	2	19,98	± 0,20	c	
	3	23,83	± 0,13	d	

*te same litery oznaczają brak różnic istotnych statystycznie (ANOVA, $p \leq 0,001$);

*the same letters mean that no statistically significant differences occur (ANOVA, p - value $\leq 0,001$).

Największy wzrost zawartości frakcji polarnej i wolnych kwasów tłuszczowych po trzymiesięcznym okresie przechowywania (o około 13 % FFA i 17 % PF) zaobserwowano w tłuszczu wyizolowanym z ziaren kukurydzy przechowywanych w atmosferze o aktywności wody 0,903. Zawartość tych frakcji po 3. miesiącu przechowywania w próbie kontrolnej wzrosła o 1,94 % FFA i o 8,13 % PF. Jensen i Risbo [6] podają, że w atmosferze o aktywności wody poniżej 0,6 produkt jest stabilny mikrobiologicznie, zachodzą natomiast reakcje chemiczne i enzymatyczne, co wpływa na obniżenie jakości produktu spożywczego.

Występujące w ziarnie kukurydzy lipidy zbudowane są w większości z nienasyconych kwasów tłuszczowych, takich jak linolowy i oleinowy, stanowiących 85 %

ogólnej ilości kwasów tłuszczowych. Szczególnie dużo jest kwasu linolowego – na poziomie około 46 – 60 %. Kwas linolenowy występuje w minimalnych ilościach [3, 8, 13].

Tłuszcz kukurydziany, pomimo wysokiego stopnia nienasycenia, charakteryzuje się dosyć wysoką odpornością na utlenianie, ponieważ zawarte w nim karoteny i tokoferole wykazują działanie przeciwutleniające [7, 14].

Na skutek przechowywania ziaren kukurydzy stabilność oksydacyjna tłuszczu maleje (tab. 3). Znajduje to potwierdzenie w badaniach Wirkowskiej i wsp. [14]. Obniżona odporność tłuszczu na utlenianie może być spowodowana zwiększoną zawartością frakcji nietriacyloglicerolowej [14].

Tabela 3

Stabilność oksydacyjna lipidów wyizolowanych z ziaren kukurydzy w trakcie ich przechowywania w atmosferze o różnej aktywności wody.

Oxidative stability of lipids isolated from corn grains during their storage in the atmosphere characterized by different water activity.

Aktywność wody Water activity	Okres przechowywania [miesiące] Time of storage [months]	Stabilność oksydacyjna Oxidative stability [h]	Odchylenie standardowe Standard deviation	Grupy jednorodne* Homogeneous groups*	Grupy jednorodne* Homogeneous groups*
Próba kontrolna Control sample	0	10,97	± 0,31	a	a
	1	10,10	± 0,10	b	
	2	8,90	± 0,17	c	
	3	8,00	± 0,18	d	
0,328	0	10,97	± 0,31	a	a
	1	10,13	± 0,21	b	
	2	8,66	± 0,06	c	
	3	7,77	± 0,12	d	
0,753	0	10,97	± 0,31	a	b
	1	8,60	± 0,10	b	
	2	6,31	± 0,09	c	
	3	3,91	± 0,18	d	
0,903	0	10,97	± 0,31	a	c
	1	6,23	± 0,15	b	
	2	3,18	± 0,20	c	
	3	1,07	± 0,17	d	

*te same litery oznaczają brak różnic istotnych statystycznie (ANOVA, $p \leq 0,001$)

*the same letters mean that no statistically significant differences occur (ANOVA, p - value $\leq 0,001$)

Stabilność oksydacyjna po trzymiesięcznym okresie przechowywania w tłuszczu wyizolowanym z próby kontrolnej obniżyła się o około 3 h, podobnie jak w tłuszczu z ziaren przetrzymywanych w atmosferze o aktywności wody 0,328. W tłuszczu wyizolowanym z ziaren przechowywanych przez 3 miesiące w atmosferze o aktywności wody 0,753 stabilność oksydacyjna obniżyła się o około 7 h, natomiast w tłuszczu wyekstrahowanym z ziaren przechowywanych przy aktywności wody 0,903 nastąpiło zmniejszenie stabilności oksydacyjnej o prawie 10 h. Wykazano statystycznie istotną zależność wpływu aktywności wody na stabilność oksydacyjną tłuszczu z kukurydzy (tab. 3).

W reakcjach autooksydacji, związanych z wolnymi rodnikami, woda może przyspieszać lub hamować utlenianie. W środowisku charakteryzującym się małą wartością a_w reakcja utleniania zachodzi, ale wzrost zawartości wody może zmniejszyć szybkość reakcji, co tłumaczy się inaktywacją katalizatorów, tworzeniem wiązań wodorowych z nadtlennkami i prawdopodobnie zmniejszaniem ilości wolnych rodników. Działanie antyoksydacyjne wody podczas utleniania tłuszczu osiąga najwyższą wartość w przypadku a_w odpowiadającej warstwie monomolekularnej. Dalsze zwiększanie a_w do zakresu średniej wilgotności zwiększa szybkość reakcji autooksydacji. Jest to spowodowane zmniejszaniem się lepkości środowiska wodnego, rozpuszczaniem katalizatorów i zwiększaniem ruchliwości reakcji. Następuje także pęcznienie substancji hydrofilnych i eksponowanie nowych powierzchni reakcji. Rola wody jest w tych warunkach prooksydacyjna [9].

Według Jensena i Risbo [6], w produktach zawierających duże ilości kwasów nienasyconych następuje obniżenie stabilności oksydacyjnej podczas przechowywania i stabilność ta jest zależna od wilgotności.

Wnioski

1. Przechowywanie ziarniaków kukurydzy, niezależnie od aktywności wody, powoduje wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej oraz obniżenie stabilności oksydacyjnej wyekstrahowanego tłuszczu.
2. Największe zmiany hydrolityczne i oksydacyjne następują w tłuszczu wyizolowanym z ziaren kukurydzy przechowywanych w atmosferze o najwyższej spośród badanych aktywności wody.
3. Nie zaobserwowano statystycznie istotnej różnicy zawartości frakcji polarnej i wolnych kwasów tłuszczowych, a także stabilności oksydacyjnej pomiędzy tłuszczem pochodzącym z kukurydzy przechowywanej w atmosferze o najniższej aktywności wody a próbą kontrolną.
4. Wzrost zawartości frakcji polarnej może wpływać na obniżenie stabilności oksydacyjnej tłuszczu pochodzącego z ziaren kukurydzy.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Center for Crops Utilization Research, INFORM.
- [2] Drozdowski B. Lipidy. W: Chemia żywności. WNT, Warszawa 2007, s. 73-142.
- [3] Feng F., Myers D.J., Hojilla-Evangelista M.P., Miller K.A., Johnson L.A., Singh S.K.: Quality of corn oil obtained by sequential extraction processing. *Cereal Chemistry*, 2002, **79** (5), 707-709.
- [4] Gąsiorowski H.: Kukurydza. Wiadomości ogólne, część 1. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2005, **10**, 31-33.
- [5] Gąsiorowski H.: Kukurydza. Dalszy ciąg budowy oraz skład chemiczny ziarniaków. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2005, **12**, 8-10.
- [6] Jensen P.N., Risbo J.: Oxidative stability of snack and cereal products in relation to moisture sorption. *Food Chem.*, 2007, **103**, 717-724.
- [7] Małecka M.: Składniki frakcji nietriacyloglicerolowej olejów roślinnych jako przeciwutleniacze. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30** (3), 123-130.
- [8] Naz S., Sheikh H., Siddiqi R., Sayeed S.A.: Oxidative stability of olive, corn and soybean oil under different conditions. *Food Chem.*, 2004, **88**, 253-259.
- [9] Pijanowski E., Dłużewski M., Dłużewska A., Jarczyk A.: Ogólna technologia żywności. WNT, Warszawa 1997, s. 339-395, 508-532.
- [10] PN-ISO 6886: 1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie stabilności oksydatywnej (test przyspieszonego utleniania).
- [11] PN-EN ISO 8420:2004. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości związków polarnych.
- [12] PN-ISO 660:2005. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [13] Singh J., Singh N., Saxena S.K.: Effect of fatty acids on the rheological properties of corn and potato starch. *J. Food Eng.*, 2002, **52**, 9-16.
- [14] Wirkowska M., Bryś J., Ratusz K., Kowalski B.: Stabilność przeciwutleniająca lipidów kukurydzy. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47), 356-362.
- [15] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1991, s. 103-115.

IMPACT OF WATER ACTIVITY ON HYDROLYTIC & OXIDATIVE STABILITY OF FAT EXTRACTED FROM CORN GRAINS

Summary

Fats contained in food products undergo various transformations under the natural conditions. Hydrolysis and auto-oxidation are ranked among them. The hydrolysis of fats causes incomplete acylglycerides and free fatty acids to form.

The objective of this study was to determine the impact of water activity on the hydrolytic and oxidative stability of fat derived from corn grains. The samples of corn grains were stored in the atmosphere characterized by three levels of water activity: 0.328; 0.753; and 0.903, at a temperature of 25°C, during a

three month period. After each of the storage months, the fat was extracted and the parameters: acid value, content of polar fractions, and oxidative stability were determined.

No matter what water activity was, storing the corn grain caused that, in the extracted fat, the contents of free fatty acids and polar fractions increased, and the oxidative stability decreased. The highest hydrolytic and oxidative changes occurred in the fat isolated from the corn grains stored in the atmosphere showing the highest water activity among all the atmospheres studied.

Key words: corn, hydrolysis, fat, oxidative stability ☒

MAŁGORZATA KARWOWSKA

WPLYW ZASTOSOWANIA EKSTRAKTU LUCERNY W ŻYWIENIU ŚWIŃ NA BARWĘ MIĘSA

Streszczenie

Celem badań była ocena wpływu dodatku ekstraktu lucerny w żywieniu świń na barwę połówicy i jej zmiany podczas 6-dniowego przechowywania. Zakres badań obejmował ocenę jakości połowicy grupy kontrolnej, pozyskanych ze świń żywionych tradycyjnie (bez udziału ekstraktu lucerny) oraz eksperymentalnej, pozyskanych ze świń żywionych dietą wzbogaconą w ekstrakt lucerny.

Badaniami objęto 80 mieszańców [(Polish Large White x Polish Landrace) x Duroc] o masie początkowej około 14 kg. W doświadczeniu wyodrębniono 2 grupy żywieniowe zwierząt; każda grupa liczyła 20 loszek i 20 knurów. Dieta świń grupy kontrolnej nie zawierała dodatku żadnych stymulatorów wzrostu, natomiast dieta świń grupy doświadczalnej była wzbogacona ekstraktem lucerny (2 g na 1 kg paszy). Próbkę mięsa przechowywano w warunkach chłodniczych (temperatura 4 °C) przez 6 dni od uboju. Po 2, 4 i 6 dobach od uboju wykonywano oznaczenia wybranych parametrów jakości mięsa. Zakres badań obejmował oznaczenie: kwasowości, parametrów barwy w układzie CIE L*a*b*. Pomiaru parametrów barwy dokonano metodą odbiciową z wykorzystaniem kolorymetru spektralnego X-Rite 8200.

Uzyskane wyniki badań wykazały, że zastosowanie ekstraktu lucerny w żywieniu świń wpłynęło na wartości parametrów barwy mięsa. Stwierdzono, że w całym okresie przechowywania mięso pozyskane ze świń żywionych dietą wzbogaconą w ekstrakt lucerny cechowało się wyższą wartością parametru a*, a więc wyższym udziałem barwy czerwonej.

Słowa kluczowe: mięso wieprzowe, ekstrakt lucerny, barwa

Wprowadzenie

Jakość mięsa wieprzowego uwarunkowana jest przez czynniki genetyczne (rasę, płęć) i wiek oraz przez grupę czynników obejmujących m.in. warunki odchowu zwierząt, uboju zwierząt i postępowania z tuszami bezpośrednio po uboju [12, 15]. Bardzo duże znaczenie na cechy jakościowe wieprzowiny ma jakość użytych składników do sporządzania mieszanek paszowych, co wpływa na zdrowie zwierząt, a przez to na ich

efekty produkcyjne. Alternatywą stosowania antybiotyków jako stymulatorów wzrostu w mieszankach paszowych jest dodatek do paszy mieszanek zielonych [14, 16]. Badania przeprowadzone przez Paszmę i Wawrzyńskiego [14] wykazały, że zastosowany 2 % dodatek ziół do paszy tuczników wpłynął korzystnie na niektóre cechy produkcyjne i umięśnienie tusz, a także na wartość dietetyczną pozyskanej wieprzowiny. Lucerna i jej produkty (susz, preparat z liści lucerny) stanowiąc może interesujący składnik mieszanek paszowych w żywieniu różnych zwierząt [1, 5, 6, 8]. Doniesienia literaturowe na temat przeciwutleniających właściwości lucerny [3] sugerują możliwość jej wykorzystania w żywieniu świń.

Celem prowadzonych badań była ocena wpływu dodatku ekstraktu lucerny do paszy tuczników na cechy jakościowe mięsa.

Materiał i metody badań

Badaniami objęto 80 mieszańców [(Polish Large White x Polish Landrace) x Duroc] o masie początkowej około 14 kg. W doświadczeniu wyodrębniono 2 grupy żywieniowe zwierząt; każda grupa liczyła 20 loszek i 20 knurów. Tuczniaki miały swobodny dostęp do paszy, których wartość pokarmowa była zgodna z zaleceniami norm żywienia świń NRC [13] w poszczególnych okresach technologicznych. Dieta kontrolna nie zawierała dodatku żadnych stymulatorów wzrostu. W grupie doświadczalnej do paszy dodawano ekstrakt lucerny (2 g na 1 kg paszy). Ekstrakt przygotowywano przez wyciskanie soku z liści lucerny, a następnie zagęszczanie i suszenie metodą rozpyłową. Przeprowadzono ubój 16 zwierząt o średniej masie ciała 125 kg. Badania żywieniowe wykonywano w Instytucie Żywienia Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Cechy jakości mięsa badano w mięśniach najdłuższych grzbietu tusz wieprzowych. W pobranych próbkach określano pH oraz barwę mięsa po 2, 4 i 6 dobach przechowywania w temperaturze 4 °C. Parametr ten wybrano z uwagi na to, że akceptacja konsumentów mięsa zależy w dużym stopniu od jego barwy [4].

Pomiar kwasowości wykonywano przy użyciu miernika cyfrowego CPC-501 (ELMETRON) i elektrody zespolonej, typ ERH-111. Oznaczenia wykonano w czterech powtórzeniach w każdej próbce mięsa.

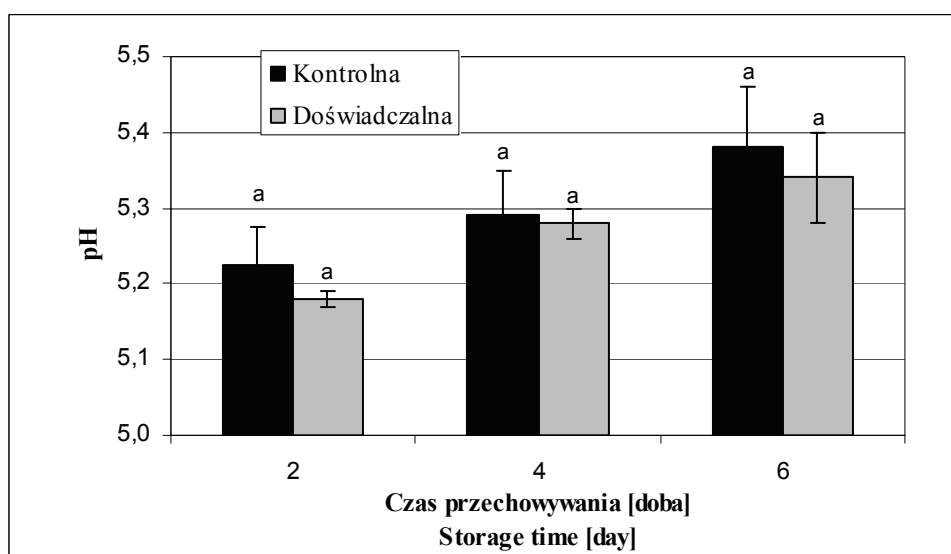
Barwę mierzono metodą odbiciową przy użyciu kolorymetru sferycznego 8200 Series firmy X-Rite. Wyniki wyrażano w systemie CIE $L^*a^*b^*$, gdzie L^* określa jasność barwy, a^* chromatyczność w zakresie czerwono-zielonym i b^* w zakresie żółto-niebieskim. Mierzono także widmo spektrofotometryczne odbiciowe w zakresie od 400 do 700 nm. Pomiarzy prowadzono przy użyciu źródła światła D65 i standardowego obserwatora kolorymetrycznego o polu widzenia 10° [1]. Całkowitą zmianę barwy próbek w ciągu 6-dniowego przechowywania wyliczono z równania:

$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$ [9]. Oznaczenia badanych wyróżników wykonano

w czterech powtórzeniach w każdej próbce mięsa. Wyniki opracowano statystycznie. Do oceny istotności różnic ($P > 0,05$) zastosowano test T-Tukey'a.

Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczeń wartości pH badanych próbek mięsa wskazują na obniżenie kwasowości podczas 6-dniowego przechowywania próbek w temperaturze 4 °C (rys. 1). Nie wykazano statystycznie istotnych różnic wartości kwasowości próbek mięsa pozyskanych z tuczników grupy kontrolnej i doświadczalnej ($P > 0,05$).

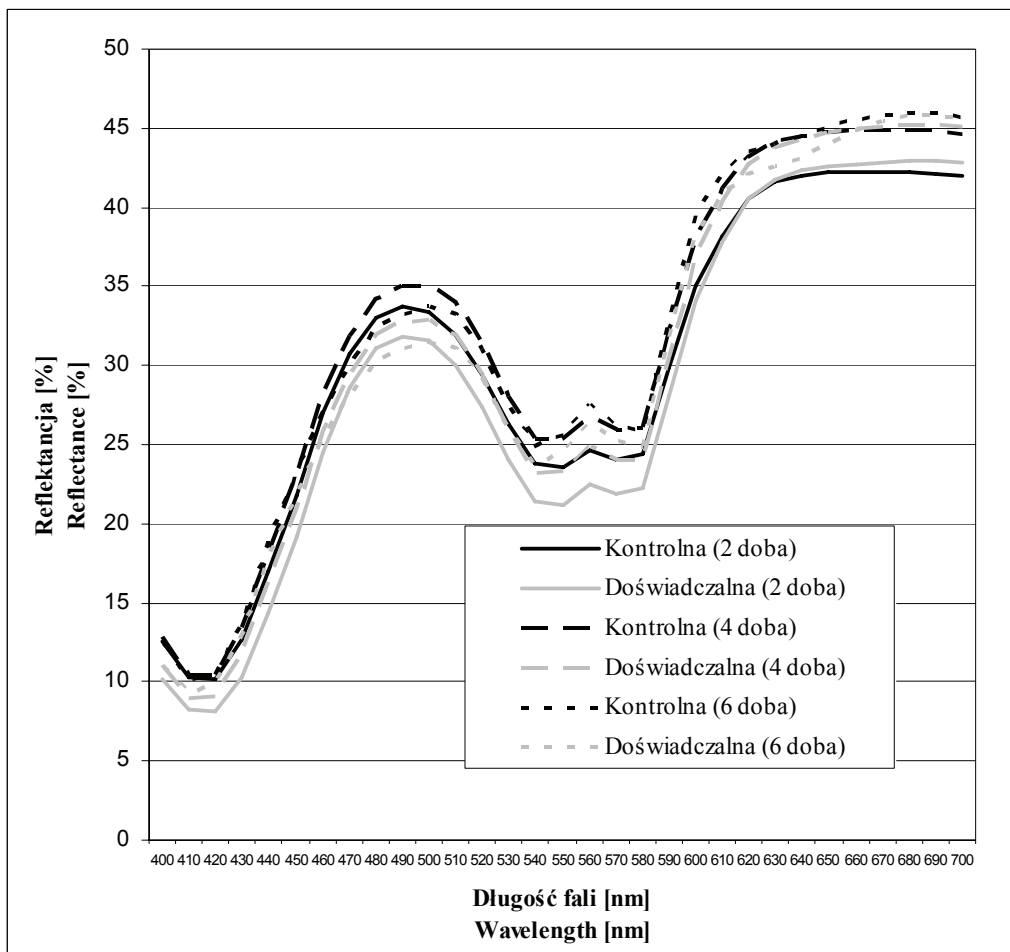


Rys. 1. Wartości pH mięsa wieprzowego pochodzącego z tuczników karmionych paszą z dodatkiem ekstraktu lucerny (grupa doświadczalna) oraz z tuczników grupy kontrolnej.

Fig. 1. pH value of pig meat derived from fatteners fed a diet with alfalfa extract added (experimental group) and from control group.

Widma spektrofotometryczne odbiciowe, zmierzone w próbkach mięsa po 2, 4 i 6 dobach przechowywania przedstawiono na rys. 2. Na wszystkich wykresach widm uzyskanych w próbkach mięsa grupy kontrolnej i doświadczalnej obserwowano podobne minima (obniżenie krzywych) oraz maksima (piki). Wykazano, że w badanym zakresie długości fal występuje wyraźny pik przy 490 - 500 nm oraz obniżenie krzywych przy 420 i 540 - 560 nm. Kształt krzywych refleksyjności we wszystkich próbkach mięsa był bardzo podobny. W próbkach mięsa pozyskanych z tuczników żywionych paszą z dodatkiem ekstraktu lucerny stwierdzono nieznacznie obniżenie krzywej refleksyjności w porównaniu z krzywymi uzyskanymi w próbkach mięsa grupy kontrolnej (rys. 2). Poziom refleksyjności próbek mięsa przechowywanych przez 4 i 6 dni kształto-

wał się na wyższym poziomie w porównaniu z próbkami, których widmo spektrofotometryczne było mierzone po 2 dobach przechowywania.



Rys. 2. Widmo odbiciowe mięsa wieprzowego pochodzącego z tuczników karmionych paszą z dodatkiem ekstraktu lucerny (grupa doświadczalna) oraz z tuczników grupy kontrolnej.

Fig. 2. Reflectance spectrum of pig meat derived from fatteners fed a diet with alfalfa extract added (experimental group) and from control group.

Barwa jest bardzo ważnym wyróżnikiem jakości mięsa w ocenie konsumenta. Może być kształtowana przez wiele czynników. Badania Lindahl i wsp. [11] wykazały wpływ rasy świń na barwę mięsa. Uzyskane w niniejszym doświadczeniu wyniki badań oraz przeprowadzona analiza statystyczna parametrów barwy ($P > 0,05$) nie wykazały istotnego wpływu zastosowanego sposobu żywienia tuczników na wartość parametru L^* i b^* barwy (tab. 1). W miarę upływu czasu przechowywania obserwowano

obniżenie wartości parametru L* barwy, a więc ciemnienie mięsa. Stwierdzono natomiast istotnie wyższe wartości parametru a* barwy próbek mięsa grupy doświadczalnej w porównaniu z grupą kontrolną, co może świadczyć o wpływie składników lucerny dodawanej do paszy świń grupy doświadczalnej. Uzyskane wartości całkowitej zmiany barwy ΔE^* (tab. 1) świadczą, że mięso pozyskane ze zwierząt żywionych paszą z 2% dodatkiem ekstraktu lucerny charakteryzowało się większą stabilnością barwy po 6 dobach przechowywania w porównaniu z mięsem zwierząt grupy kontrolnej. Można przypuszczać, że odpowiedzialne za stabilność barwy są związki o działaniu przeciwutleniającym, zawarte w lucernie, do których należą między innymi kwas ferulowy czy witamina C [3].

Tabela 1

Parametry barwy mięsa wieprzowego pochodzącego z tuczników karmionych paszą z dodatkiem ekstraktu lucerny (grupa doświadczalna) oraz z tuczników grupy kontrolnej.

Colour parameters of pig meat derived from fatteners fed a diet with alfalfa extract added (experimental group) and from control group.

Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($P > 0,05$) /Mean values denoted by the same letters do not differ statistically significantly ($P > 0.05$).

Próba Sample	Parametr Parameter	Czas przechowywania [doba] Storage time [day]		
		2	4	6
Kontrolna Control	L*	61,94 ^a	60,87 ^a	59,9 ^a
	a*	3,85 ^a	3,95 ^a	4,68 ^a
	b*	11,33 ^a	11,78 ^a	12,11 ^a
	ΔE^*		1,16 ^a	2,30 ^a
Doświadczalna Experimental	L*	60,09 ^a	61,67 ^a	60,07 ^a
	a*	5,07 ^b	4,79 ^b	4,69 ^a
	b*	12,62 ^a	11,89 ^a	12,40 ^a
	ΔE^*		1,76 ^a	0,43 ^b

Badania przeprowadzone na szynkach wędzonych parzonych [9] wyprodukowanych z surowca pozyskanego z tuczników żywionych paszą z dodatkiem ekstraktu lucerny również nie wykazały wpływu zastosowanego żywienia na barwę szynek.

Wnioski

1. Wyniki pomiaru kwasowości mięsa (pH) wskazują na brak statystycznie istotnych różnic w wartości omawianej właściwości mięsa pozyskanego z tuczników żywionych paszą kontrolną, a także wzbogaconą ekstraktem lucerny.

2. Mięso zwierząt żywionych paszą z dodatkiem ekstraktu lucerny charakteryzowało się niezmienną jasnością w porównaniu z mięsem zwierząt z grupy kontrolnej. Stwierdzono, że w całym okresie przechowywania mięso pozyskane ze świń z grupy doświadczalnej cechowało się wyższą wartością parametru a^* , a więc wyższym udziałem barwy czerwonej.
3. Mięso tuczników otrzymujących paszę z 2 % dodatkiem ekstraktu lucerny charakteryzowało się mniejszą wartością całkowitej zmiany barwy (ΔE^*) po 6 dobach chłodniczego przechowywania, co świadczy o korzystnym wpływie składników lucerny na trwałość barwy mięsa.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 – 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] American Meat Science Association (AMSA– Guidelines for Meat Colour Evaluation – AMSA, Savoy) 2005.
- [2] Becker D. E., Hanson L. J., Jensen A. H.: Dehydrated alfalfa meal as a dietary ingredient for swine. *J. Anim. Sci.*, 1956, **15**, 820-829.
- [3] Ben Aziz A., Grossman S., Budowski P., Ascarelli I., Bondi A.: Antioxidant properties of lucerne extracts. *J. Sci. Food Agric.*, 2006, **19**, **10**, 605-608.
- [4] Brewer M.S., Zhu L.G., Bidner B., Meisinger D.J., McKeith F.K.: Measuring pork color: effects of bloom time, muscle, pH and relationship to instrumental parameters. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 169-176.
- [5] Güçlü, Kocaoğlu B., İscan K.M., Uyanık F., Eren M., Ağca A. Can: Effect of Alfalfa Meal in diets of laying quails on performance, egg quality and some serum parameters. *Arch. Anim. Nutr.*, 2004, **58**, **3**, 255-263(9).
- [6] Heitman H., Meyer J.H.: Alfalfa meal as a source of energy by swine. *J. Anim. Sci.*, 1959, **18**, 796-804.
- [7] Hernández T., Martínez C., Hernández A., Urbano G.: Protein quality of alfalfa protein concentrates obtained by freezing. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 797-802.
- [8] Hopkins D.L., Nicholson A.: Meat quality of weather lambs grazed on either saltbush (*Atriplex nummularia*) plus supplements or lucerne (*Medicago sativa*). *Meat Sci.*, 1999, **51**, 91-95.
- [9] Karwowska M., Dolatowski Z.J., Grela E.: The effect of dietary supplementation with extracted alfalfa meal on oxidation stability of cooked ham. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57**, 4(B), 271-274.
- [10] Kłossowska B., Tyszkiewicz S.: Wybrane czynniki determinujące barwę mięsa szynki surowo dojrzewających produkowanych na małą skalę. *Rocz. IPMiT*, 2000, **37**, 127-135.
- [11] Lindahl G., Lundström K., Tornberg E.: Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Sci.*, 2001, **59**, 141-151.
- [12] Łyczyński A., Pospiech E., Bartkowiak Z., Urbaniak M.: Mięśność i jakość mięsa w zależności od genotypu i systemu żywienia świń. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2003, **4** (37), 287-298.
- [13] NRC, Nutrient Requirements of Swine. Tenth Revised Edition, Washington, D.C. 1998.
- [14] Paschma J., Wawrzyński M.: Effect of using herbs in pig diets on growth parameters, carcass traits and dietetic value of pork. *Pol. J. Nat. Sci.*, 2007, **4**, 71-76.

- [15] Rosenvold K., Andersen H.J.: Factors of significance for pork quality - a review. *Meat Sci.*, 2003, **64**, 219–237
- [16] Varley M.A.: Alternatives to antibiotics growth promoters for post-weaned piglets. In: Proceedings of the Pig Veterinary Society Meeting. Cheshire, UK 5-6 May 2004. *The Pig Journal*, 2004, **54**, 161-167.


EFFECT OF APPLYING ALFALFA EXTRACT TO THE DIET OF PIGS ON MEAT COLOUR

Summary

The objective of the study was to assess the effect of addition of alfalfa extract to the diet of pigs on the colour of loin and its changes during 6 days of storage. The scope of this study comprised the quality assessment of loins in the control group derived from pigs fed traditionally (i.e. without the alfalfa extract added) and in the experimental group of pigs fed a diet enriched by an alfalfa extract.

The study comprised 80 hybrid fatteners [(Polish Large White x Polish Landrace) x Duroc] of about 14 kg of initial body weight. Two feedings groups, 20 gilts and 20 boars each, were formed in the experiment. The control group received a feed containing no growth stimulants added whereas the experimental group was fed a diet enriched by the alfalfa extract (2 g per 1 kg diet). Upon the slaughter, meat samples were stored at the refrigerating conditions (4 °C) during a period of 6 days. The selected meat quality parameters were determined 2, 4, and 4 days after the slaughter. The scope of determined parameters comprised the acidity and the parameters of colour according to the CIE L*a*b system. The colour parameters were measured using a reflection method with a spherical colorimeter (X-Rite) 8200.

The results obtained proved that the application of alfalfa extract to the diet of pigs impacted the values of meat colour parameters. It was found that during the entire storage period, the meat derived from pigs fed the alfalfa-enriched diet was characterized by the higher value of a* parameter, thus, by a higher content rate of red colour.

Key words: pig loin, alfalfa extract, colour 

JOANNA STADNIK

WPLYW SONIKACJI WIEPRZOWEGO MIĘSA PSE NA ZMIANY POWIERZCHNI HYDROFOBOWEJ BIAŁEK MIOFIBRYLARNYCH

Streszczenie

Wyniki badań nad aplikacją fal ultradźwiękowych do kształtowania jakości mięsa wskazują, że jej zastosowanie wywołuje zmiany fizykochemicznych właściwości tkanki, szczególnie interakcji woda-białko.

Celem badań było określenie wpływu obróbki ultradźwiękowej mięsa wieprzowego o cechach PSE w stanie *rigor mortis* (po 24 h od uboju) na zmiany konformacyjne białek miofibryli, znajdujące odzwierciedlenie w zmianach hydrofobowości powierzchniowej i ultrastruktury sarkomeru włókna mięśniowego.

Badaniom poddano mięso wieprzowe (*m. biceps femoris* - mięsień dwugłowy uda) z półtuszy wychładzanych przez 24 h do temp. 7 °C. Na podstawie pomiaru pH i wartości parametru L^* w systemie $L^*a^*b^*$, mięśnie klasyfikowano jako PSE lub normalne. Spośród mięśni z objawami PSE jeden stanowił próbkę kontrolną (próbka K - PSE), a drugi poddawano obróbce w polu ultradźwiękowym o częstotliwości ok. 45 kHz (próbka U45 - PSE). Po sonikacji próbki przechowywano w warunkach chłodniczych (temperatura 4 °C) przez 96 h od uboju. Zakres badań obejmował: oznaczenie kwasowości, ocenę struktury oraz pomiar powierzchni hydrofobowej wyizolowanej frakcji białek miofibrylarnych.

Wykazano, że mięśnie normalne (próbka N) w całym zakresie analizowanego czasu od uboju charakteryzowały się wyższymi wartościami pH niż mięśnie próbki K - PSE i U45 - PSE. W chwili rozpoczęcia eksperymentu najniższą wartość hydrofobowości powierzchniowej odnotowano w próbce U45 - PSE. Największą powierzchnią hydrofobową (ok. 90 %) białka badanych próbek mięsa charakteryzowały się po 48 h od uboju. Podczas dalszego przechowywania nastąpiło obniżenie wartości badanej cechy. Uzyskane wyniki świadczą o wtórnym oddziaływaniu obróbki ultradźwiękowej na przemiany białek miofibrylarnych. Interakcja białek miofibrylarnych z wodą, zaliczana do właściwości powierzchniowych, stanowi odzwierciedlenie tych przemian.

Słowa kluczowe: sonikacja, mięso PSE, hydrofobowość powierzchniowa

Wprowadzenie

Istotnym kryterium wartości biologicznej i funkcjonalnej białek mięśniowych jest ich interakcja z wodą [13, 21]. Woda wpływa na właściwości technologiczne i fizyko-

chemiczne, a przede wszystkim decyduje o cechach sensorycznych i kruchości mięsa [3, 9, 20]. Oddziaływanie polipeptydowych łańcuchów białkowych z cząsteczkami wody w tkance mięśniowej jest odzwierciedleniem budowy strukturalnej, a szczególnie stopnia interakcji białek miofibrylarnych, kwasowości i siły jonowej środowiska. Moc oddziaływania bocznych grup aminokwasów z wodą determinuje konformację cząsteczek białkowych [2]. Siła hydratacji, w zależności od charakterystyki powierzchni cząsteczki białka i składu jonowego podłoża, sprzyja lub uniemożliwia oddziaływanie między cząsteczkami. Powłoki hydratacyjne tworzone lub eliminowane w wyniku oddziaływań międzycząsteczkowych często wymuszają zmiany konformacyjne makrocząsteczek białkowych, powodując modyfikację ich właściwości i funkcji biologicznych [15, 18].

Jednym z najważniejszych problemów badawczych, w aspekcie kształtowania jakości technologicznej i konsumpcyjnej mięsa po uboju, jest interakcja białek mięsa z wodą i jej utrzymywanie w trakcie poubojowych przemian i procesów przetwórczych [20]. Zagadnienie to ma szczególne znaczenie w przypadku mięsa wodnistej, określanego jako PSE (ang. pale, soft, exudative). Dane literaturowe [6, 17, 19, 22] wskazują, że podstawową przyczyną występowania tej wady mięsa są genetycznie uwarunkowane nieprawidłowości mechanizmów przemian energetycznych ujawniające się po uboju i wpływające na strukturę białek mięśniowych.

Jedną z metod poubojowego kształtowania interakcji woda - białko jest oddziaływanie fali ultradźwiękowych na mięso bezpośrednio po uboju, jak również w późniejszym okresie dojrzewania, w stanie *rigor mortis* [4, 7, 16]. Wprowadzenie drgań ultradźwiękowych do struktur sarkomeru włókna mięśniowego może powodować ruch określonych grup biologicznych na zasadzie zjawiska zaciskania i rozciągania w skali mikro lub rozpad struktur w wyniku możliwej kawitacji. Prowadzone są również badania nad procesem dojrzewania przy wykorzystaniu ultradźwięków ukierunkowane na bezkawitacyjne przemiany struktur, co można realizować stosując niskie natężenia drgań ultradźwiękowych [4]. Wyniki przeprowadzonych badań nad wpływem obróbki ultradźwiękowej na tkankę mięśniową wskazują, że wywołuje ona zmiany jej fizykochemicznych właściwości [5, 12, 23]. Są one spowodowane zmianą struktur białek miofibrylarnych odpowiedzialnych za dojrzewanie, a głównie uwodnienie mięsa. Dalsze badania nad wpływem ultradźwięków na właściwości technologiczne mięsa, szczególnie mięsa PSE, i proces jego przetwarzania mogą być przyczynkiem do wyjaśnienia mechanizmów przemian struktur białkowych tkanki mięśniowej i ewentualnego wykorzystania ultradźwięków do kierunkowego kształtowania jakości.

Celem badań było określenie wpływu obróbki ultradźwiękowej mięsa wieprzowego o cechach PSE w stanie *rigor mortis* (po 24 h od uboju) na zmiany konformacyjne białek miofibryli, znajdujące odzwierciedlenie w zmianach hydrofobowości powierzchniowej i ultrastruktury sarkomeru włókna mięśniowego.

Material i metody badań

Mięso wieprzowe (*m. biceps femoris* - mięsień dwugłowy uda) pozyskiwano z półtuszy tuczników o pokroju zbliżonym do świń rasy wbp (wielka biała polska), o masie przyżyciowej 110 - 120 kg wychładzanych przez 24 h do temp. 7 °C. Dokonywano pomiaru wartości pH za pomocą elektrody kombinowanej OSH 12 - 00 oraz parametru L^* w systemie $L^*a^*b^*$ metodą odbiciową przy użyciu spektrofotometru sferycznego X - Rite 8200 z otworem pomiarowym o średnicy 12,7 mm. Stosowano źródło światła D_{65} i standardowy obserwator kolorymetryczny o polu widzenia 10°. Na podstawie pomiaru pH i wartości parametru L^* , mięśnie klasyfikowano jako PSE ($L^* > 50$; $pH_u \leq 5,6$) lub normalne ($pH_u 5,6 - 6,0$; $L^* = 42 - 50$; próbka N) [24]. Spośród mięśni z objawami PSE (z tej samej sztuki) o zbliżonej masie, jeden stanowił próbkę kontrolną (próbka K - PSE), a drugi poddawano obróbce w polu ultradźwiękowym o częstotliwości ok. 45 kHz (próbka U45 - PSE). Natężenie drgań wynosiło ok. $2 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$, a czas obróbki 2 min. Po sonikacji próbki przechowywano w warunkach chłodniczych (4°C) przez 96 h od uboju. Po 0, 24, 48 i 72 h od obróbki ultradźwiękowej wykonywano oznaczenia następujących parametrów:

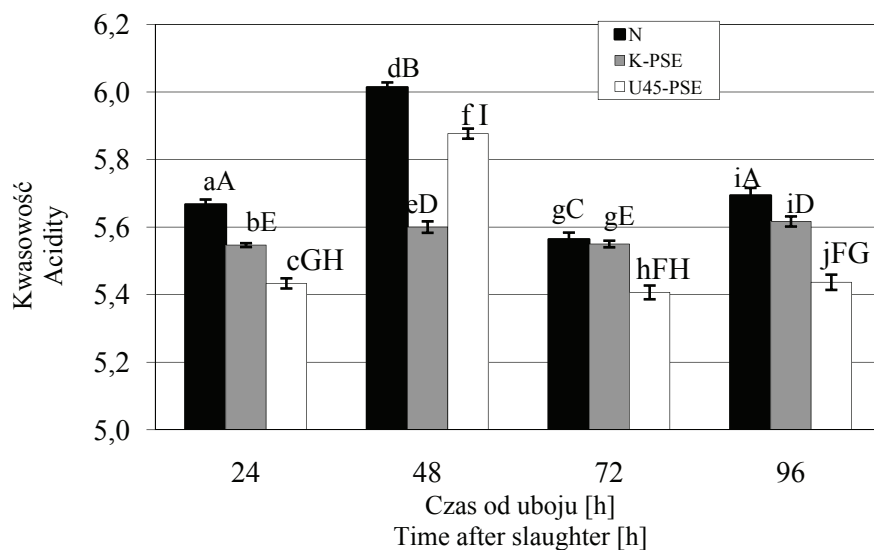
- kwasowość mięsa określano przez pomiar pH za pomocą pH-metru (CPC – 501 Elmetron) wyposażonego w zespoloną elektrodę sztyletową, którą wprowadzano w mięsień na głębokość około 5 cm. Po ustaleniu wskazań odczytywano wynik z dokładnością do 0,01;
- powierzchnię hydrofobową roztworów frakcji białek miofibrylarnych (o stężeniu 0,5 %) wyznaczano metodą Lieske i Konrada [14]. Istota metody polega na przyłączaniu przez hydrofobowe fragmenty białka związku powierzchniowo czynnego Tween 80 (sorbinian polioksyetylenu), a następnie ilościowym oznaczeniu zdolności kompleksowania testowanego barwnika (Bio - Rad). Powierzchnię hydrofobową wyraża stosunek oznaczonych reszt niepolarnych do sumy reszt polarnych i niepolarnych, [%]. W celu wyizolowania białek miofibrylarnych rozdrobnione, przy użyciu wilka z tarczą z otworami o \varnothing 3 mm, mięso trzykrotnie poddawano homogenizacji z wodą destylowaną i wirowaniu. Osad otrzymany po ostatnim wirowaniu homogenizowano z 0,6 M NaCl w 0,1 M buforze fosforanowym (pH 6,2) [1]. Wartość absorbancji roztworów białek z dodatkiem i bez dodatku związku powierzchniowo czynnego mierzono względem 0,1 M buforu fosforanowego (pH 6,2) przy $\lambda = 595 \text{ nm}$ z użyciem spektrofotometru Nicolet Evolution 300 (Thermo Electron Corporation);
- oceny struktury próbek mięsa po 24 i 96 h od uboju [8] dokonywano przy użyciu mikroskopu elektronowego Tesla. Preparaty mięsa wycięte w kilku miejscach próbki na głębokości 30 mm wstępnie utrwalano w 4 % aldehydzie glutarowym, a następnie w 0,1 M buforze kakodylowym o pH 7,4 przez 12 h. Po kolejnym utrwaleniu w tetratlenku osmu preparaty odwadniano alkoholem etylowym i tlen-

kiem propylenu. Po odwodnieniu preparaty nasycano żywicą i po polimeryzacji zabarwiano i cięto na skrawki półcienkie (0,5 - 0,7 μm) i ultracienkie (60 nm) za pomocą ultramikrotomu Reichert'am - U₃.

Badania przeprowadzono na 6 różnych partiach surowca, każdy pomiar w 3 powtórzeniach. Otrzymane wyniki badań poddano analizie statystycznej, istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi (na poziomie istotności $\alpha = 0,05$) zweryfikowano testem T - Tukey'a. Obliczenia wykonano przy użyciu programu Microsoft Office Excel 2003.

Wyniki i dyskusja

Analizując przebieg zmian wartości pH w funkcji czasu przechowywania mięsa wieprzowego (rys. 1) stwierdzono, że mięśnie normalne (próbka N) w całym zakresie analizowanego czasu od uboju charakteryzowały się wyższymi wartościami pH niż mięśnie próbek K - PSE i U45 - PSE. Statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami pH próbek N a K - PSE nie stwierdzono po 72 i 96 h od uboju.

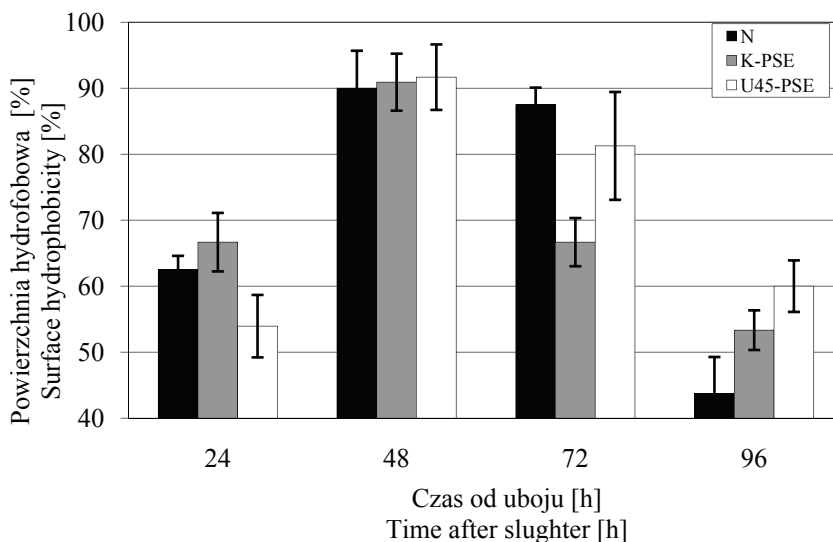


Objaśnienia: / Explanatory notes: Wartości średnie oznaczone tymi samymi wielkimi literami ^{A-1} w obrębie tej samej próbki i małymi literami ^{a-j} pomiędzy różnymi próbkami nie różnią się statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$) / Means denoted by the same capital letters ^{A-1} within the same sample or by the same small letters ^{a-j} among different samples do not differ statistically significantly ($\alpha=0.05$).

Rys. 1. Kwasowość (pH) mięsa wieprzowego normalnego i PSE (poddanego i niepoddanego sonifikacji), składowanego przez 96 h w warunkach chłodniczych.

Fig. 1. Acidity (pH) of normal and PSE pork meat (treated and not treated using sonication) and stored for 96 h under the chilled conditions.

W chwili rozpoczęcia eksperymentu (po 24 h od uboju) najniższą wartość hydrofobowości powierzchniowej (52,9 %) odnotowano w próbce U45 - PSE (rys. 2). Wielkość powierzchni hydrofobowej białek miofibrilarnych wyizolowanych z próbek N i K - PSE była zbliżona i kształtowała się na poziomie 62,0 - 66,0 %.



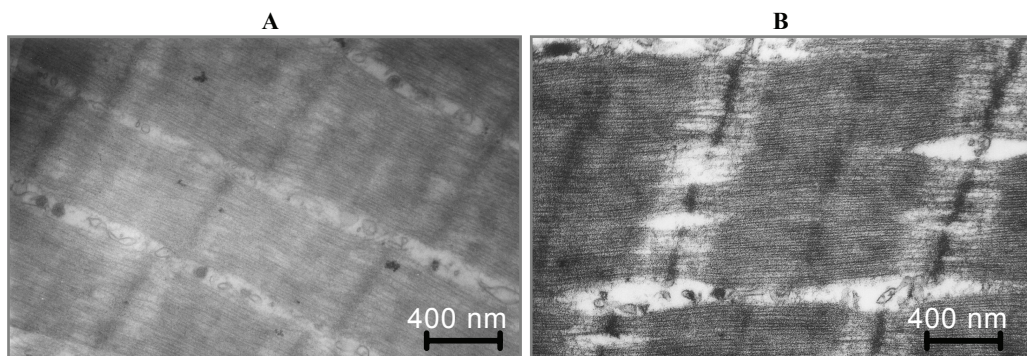
Rys. 2. Powierzchnia hydrofobowa białek miofibrilarnych mięsa wieprzowego normalnego i PSE (podanego i niepoddanego sonifikacji), składowanego przez 96 h w warunkach chłodniczych.

Fig. 2. Surface hydrophobicity of myofibrillar proteins of normal and PSE pork meat (treated and not treated using sonication) and stored for 96 h under the chilled conditions.

Oznaczenia hydrofobowości, będącej indykatorem oddziaływań białko - białko i białko - woda, wykazały, że wielkość powierzchni hydrofobowej próbki U45 - PSE po 72 i 96 h od uboju była wyższa, a bezpośrednio po sonikacji niższa niż próbki K - PSE. Świadczy to o wpływie sonikacji na zróżnicowanie ekspozycji grup hydrofobowych, a zatem zmiany konformacyjne białek mięsa tych próbek. Interakcja białek miofibrilarnych z wodą, zaliczana do właściwości powierzchniowych, jest odzwierciedleniem tych przemian. Przyczyn tego zjawiska można doszukiwać się w zróżnicowanym przebiegu procesu przemian poubojowych mięsa sonikowanego i próbki kontrolnej. Potwierdzają to wyniki wcześniejszych badań, które wykazały, że próbki mięsa PSE poddane sonikacji charakteryzowały się mniejszymi ubytkami masy w postaci wycieku chłodniczego niż próbki kontrolne [23]. Hydrofobowość powierzchniowa jest cechą determinującą biologiczne i funkcjonalne właściwości białek. Analizując zmiany wielkości powierzchni hydrofobowej frakcji białek miofibrilarnych, stanowiących podstawową grupę białek mięśniowych odpowiedzialnych za utrzymywanie wody, starano się ocenić, w jaki sposób przemiany poubojowe i sonikacja mięsa po 24 h od uboju wpływają na zmiany konformacyjne struktur białkowych miofibryli. Wyniki badań

[10, 11] wskazują, że istnieje silna korelacja pomiędzy rozpuszczalnością białek, zdolnością emulgowania tłuszczu i tworzenia żeli a ich hydrofobowością. Pomiar hydrofobowości pozwala zatem w sposób pośredni przewidywać właściwości funkcjonalne białek. Zmiany hydrofobowości uwarunkowane są zmianami strukturalnymi białek pod wpływem procesów technologicznych, czynników środowiskowych (pH, siła jonowa). Nadmierne obniżenie pH powoduje zmniejszenie aktywności jonowej białka, jego mniejszą rozpuszczalność i znaczne obniżenie zdolności wiązania wody i co się z tym wiąże, zmniejszenie przydatności przetwórczej mięsa.

Obrazy mikroskopowe wycinków tkanki mięśniowej surowca wieprzowego po 24 h od uboju wykazały istotne różnice w budowie włókien badanych próbek mięsa. Włókna w próbce mięsa normalnego (N) (fot. 1A) i mięsa PSE niepoddanego działaniu ultradźwięków (K - PSE) (fot. 2A) występowały w znacznej odległości od siebie. Szczególnie na przekroju włókien mięsa próbki N obserwuje się wolne przestrzenie, znacznych rozmiarów, wypełnione elementami morfologicznymi.



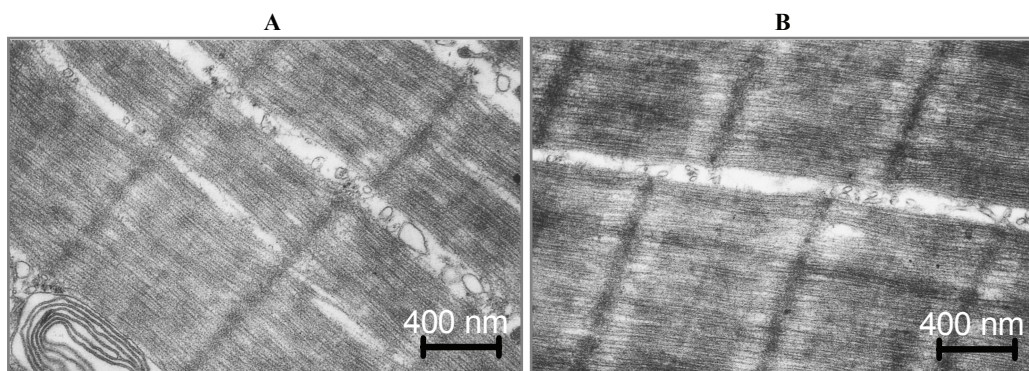
Fot. 1. Mikrostruktura włókien mięśniowych (przekrój podłużny) próbki N (x 24 000): po 24 h od uboju (A) i po 96 h od uboju (B).

Photo. 1. Microstructure of muscle fibres (longitudinal section) of the N sample (x 24 000): 24 h after slaughter (A), and 96 h after slaughter (B).

Elementy strukturalne sarkomerów włókien tej próbki mięsa, z wyjątkiem linii Z, są słabo widoczne (fot. 1A). Na obrazie mikroskopowym próbki mięsa K - PSE obserwowano rozluźnienie w obrębie poszczególnych włókien, jak i pomiędzy nimi (fot. 2A).

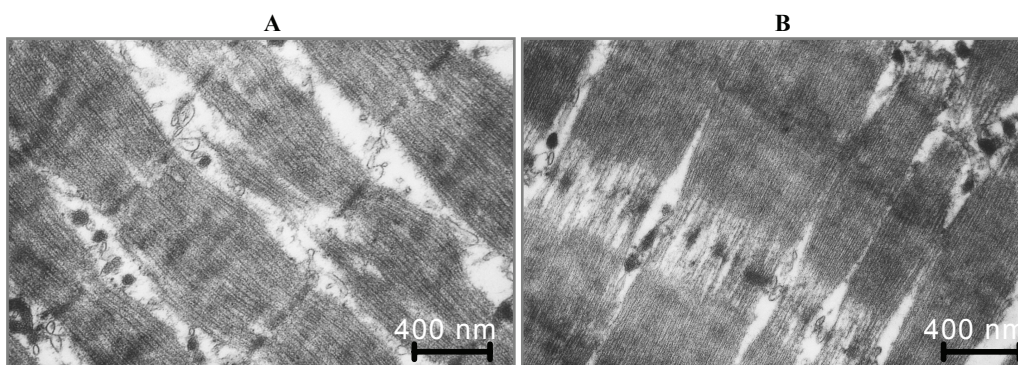
Obraz przekroju podłużnego mięsa próbki U45 - PSE uzyskany przy użyciu mikroskopu elektronowego (fot. 3A) wskazuje, że włókienka mięśniowe uległy rozluźnieniu na całej długości, szczególnie w pobliżu linii Z sarkomerów. Na obrazach przekrojów podłużnych włókien próbek mięsa po 96 h chłodniczego składowania (fot. 1B, 2B, 3B) obserwuje się częściowy rozpad włókien mięśniowych przejawiający się ich fragmentacją. Obrazy uzyskane z mikroskopu elektronowego wskazują, że po upływie

96 h od uboju największym rozpadem elementów strukturalnych włókien mięśniowych charakteryzowała się próbka U45 - PSE (fot. 3B).



Fot. 2. Mikrostruktura włókien mięśniowych (przekrój podłużny) próbki K - PSE (x 24 000): po 24 h od uboju (A) i po 96 h od uboju (B).

Photo. 2. Microstructure of muscle fibres (longitudinal section) of the K - PSE sample (x 24 000): 24 h after slaughter (A), and 96 h after slaughter (B).



Fot. 3. Mikrostruktura włókien mięśniowych (przekrój podłużny) próbki U45 - PSE (x 24 000): po 24 h od uboju (A) po 96 h od uboju i (B).

Photo. 3. Microstructure of muscle fibres (longitudinal section) of the U45 - PSE sample (x 24 000): 24 h after slaughter (A), and 96 h after slaughter (B).

Włókna próbki K - PSE charakteryzują się dość dobrze widocznymi liniami Z i M oraz prążkami A i I (fot. 2B). Na przekroju podłużnym obrazu mikrostruktury włókien próbki N obserwuje się wolne przestrzenie zarówno pomiędzy włóknami, jak i w obrębie sarkomerów (fot. 3B).

Różnice w hydrofobowości powierzchniowej wskazują na zróżnicowany potencjał elektrostatyczny fragmentów powierzchni białka, decydujący o jego przestrzen-

nym kształcie i interakcji z wodą oraz innymi składnikami komórki mięśniowej [10, 11]. W okresie przemian poubojowych, jak też w wyniku oddziaływania fal ultradźwiękowych, może dochodzić do blokowania grup hydrofilowych białek przez inne grupy i tym samym zmniejszania ilości grup wchodzących w interakcje z wodą. Może to być również wynikiem interakcji w obrębie wewnętrznych struktur białek miofibrylarnych [12]. Zmiany odległości w obrębie struktur białkowych tkanki, obserwowane na mikrofotografiach mikrostruktury, potwierdzają te zależności. Jednoznaczna ocena przemian białkowych na tym etapie badań jest trudna, gdyż białka będące przedmiotem niniejszej analizy stanowią układy biologiczne o dużym stopniu złożoności, a interpretację uzyskanych wyników mogą umożliwić jedynie dalsze badania na poziomie molekularnym.

Wnioski

1. Obróbka mięsa o cechach PSE falami ultradźwiękowymi spowodowała wzrost wielkości powierzchni hydrofobowej białek miofibrylarnych wyizolowanych po 72 i 96 h od uboju. Przyczyn tego zjawiska można doszukiwać się w zróżnicowanym przebiegu procesu przemian poubojowych mięsa sonikowanego i próbki kontrolnej.
2. Różnice w hydrofobowości powierzchniowej wskazują na zróżnicowany potencjał elektrostatyczny fragmentów powierzchni białka, decydujący o jego przestrzennym kształcie i interakcji z wodą oraz innymi składnikami komórki mięśniowej. Świadczy to o wpływie sonikacji na zróżnicowanie ekspozycji grup hydrofobowych, a zatem zmiany konformacyjne białek mięsa tych próbek.
3. Obrazy mikroskopowe wycinków tkanki mięśniowej surowca wieprzowego wykazały istotne różnice w budowie włókien badanych próbek mięsa, szczególnie w zakresie kształtu i odległości w obrębie struktur białkowych tkanki mięśniowej.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Cheng C. S., Parrish Jr., F. C.: Molecular changes in the salt - soluble myofibrillar proteins of bovine muscle. *J. Food Sci.*, 1978, **43**, 461-463.
- [2] Csermely P.: Water and cellular folding processes. *Cell. Mol. Biol.*, 2001, **47** (5), 1-10.
- [3] den Hertog - Meischke M. J. A., van Laack R. J. L. M., Smulders F. J. M.: The water - holding capacity of fresh meat. *Vet. Quart.*, 1997, **19** (4), 175-181.
- [4] Dolatowski Z. J.: Wpływ obróbki ultradźwiękami o niskiej częstotliwości na strukturę i cechy jakościowe mięsa. *Rozprawy naukowe AR w Lublinie*, 221, Lublin 1999.

- [5] Dolatowski Z. J., Stadnik J., Stasiak D.: Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2007, **6** (3), 89-99.
- [6] Dolatowski Z. J., Stasiak D. M., Giemza S.: Effects of sonication on properties of reduced pH meat. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2001, **10/51**, **3** (S), 192-196.
- [7] Dolatowski Z. J., Twarda J.: Einfluss von Ultraschall auf das Wasserbindungsvermögen von Rindfleisch. *Fleischwirtschaft*, 2004, **12**, 95-99.
- [8] Glauert A. M. (red.): *Practical methods in electron microscopy*. North - Holland Publishing Company, Amsterdam 1974.
- [9] Huff-Lonergan E., Lonergan S. M.: Mechanism of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.*, 2005, **71**, 194-204.
- [10] Konieczny P., Uchman W.: Comparative characterization of surface hydrophobicity and other physico-chemical properties of selected protein preparations. *EJPAU*, 2002, **5** (2).
- [11] Konieczny P.: Hydrofobowość powierzchniowa jako czynnik determinujący wybrane właściwości funkcjonalne preparatów białkowych. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu. Rozprawy Naukowe*, 319, Poznań 2001.
- [12] Latoch A.: Wpływ sonifikacji na właściwości żelu miofibryli podczas dojrzewania mięsa wołowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5** (54), 367-373.
- [13] Lewicki P. P.: Water as the determinant of food engineering properties. A review. *J. Food Eng.*, 2004, **61**, 483-495.
- [14] Lieske B., Konrad G.: A new approach to estimate surface hydrophobicity of proteins. *Milchwissenschaft*, 1994, **49** (12), 663-666.
- [15] Mattos C.: Protein - water interactions in a dynamic world. *Trends Biochem. Sci.*, 2002, **27** (4), 203-208.
- [16] McClements D. J.: Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends Food Sci. Tech.*, 1995, **6**, 293-299.
- [17] Olkiewicz M., Kłossowska B. M.: Effect of some additives on the water binding ability and consistency of the model product containing PSE meat. *Acta Agrophysica*, 2002, **77**, 73-85.
- [18] Pettitt B. M., Makarov V. A., Andrews B. K.: Protein hydration density: theory, simulations and crystallography. *Curr. Opin. Struc. Biol.*, 1998, **8**, 218-221.
- [19] Pospiech E., Borzuta K.: Cechy surowcowe a jakość mięsa. *Rocz. IPMiT*, 1998, **35/1**, 7-33.
- [20] Schäfer A., Rosenvold K., Purslow P. P., Andersen H. J., Henckel P.: Physiological and structural events *post mortem* of importance for drip loss in pork. *Meat Sci.*, 2002, **61**, 355-366.
- [21] Smith J. C., Merzel F., Verma Ch. S., Fischer S.: Protein hydration water: Structure and thermodynamics. *J. Mol. Liq.*, 2002, **101/1**, **3**, 27-33.
- [22] Sobina I.: *Badania zmian jakości mięsa wieprzowego normalnego i wadliwego (PSE i DFD) w procesie autolizy w zależności od temperatury składowania. Rozprawy habilitacyjne i monografie. ART 562, Olsztyn 1998.*
- [23] Twarda J., Dolatowski Z. J.: The effect of sonication on the colour and WHC of normal and PSE pork. *Anim. Sci.*, 2006, **1**, 184-185.
- [24] Warner R. D., Kauffman R. G., Greaser M. L.: Muscle protein changes *post mortem* in relation to pork quality traits. *Meat Sci.*, 1997, **45** (3), 339-352.

IMPACT OF PSE PORK MEAT SONICATION ON CHANGES IN HYDROPHOBIC SURFACE OF MYOFIBRILLAR PROTEINS

S u m m a r y

Results of the research into the application of ultrasound waves to develop meat quality point out that it induces changes in physicochemical properties of tissue, in particular water-protein interactions.

The objective of this study was to assess the impact of ultrasound treatment of pork meat showing PSE features during the *rigor mortis* period (24 h after slaughter) on the conformational changes in proteins of myofibre as reflected by changes in the surface hydrophobicity and ultrastructure of muscle fibre sarcomere.

The research was performed using a pork meat (*m. biceps femoris* – thigh biceps muscle) taken from carcasses chilled to 7 °C for 24 h. On the basis of the pH and L* parameter (L*a*b* colour space), the muscles were classified either as PSE or as normal. One of the PSE muscles constituted a control sample (K – PSE sample) whereas the other was treated in an ultrasound field with a frequency of 45 kHz (U45 – PSE sample). Upon sonication, the meat samples were stored at 4°C for 96 h after slaughter. The scope of analysis comprised: determining meat acidity, assessing ultrastructure, and measuring hydrophobicity of isolated myofibrillar proteins.

It was proved that the normal muscles (N sample) were characterized by higher pH values than the muscles of K-PSE and U45-PSE samples during the whole period after slaughter. At the beginning of the experiment, the lowest value of surface hydrophobicity was reported in the U45 – PSE sample. The proteins of the meat samples investigated were characterized by the largest hydrophobic surface (about 90 %) 48 h after slaughter. During the further storing of meat, the value of the feature studied decreased. The results obtained prove that the ultrasound treatment has a secondary impact on the transformations of myofibrillar proteins. The water – myofibrillar protein interaction, counted among surface properties, constitutes a reflection of those transformations.

Key words: sonication, PSE meat, surface hydrophobicity ☒

JOLANTA KRZYCZKOWSKA, IZABELA STOLARZEWICZ, DOMINIKA BELLOK, MAŁGORZATA BELLOK, EWA BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK

WPLYW MODYFIKACJI POŻYWKI NA BOKATALITYCZNE WŁAŚCIWOŚCI DROŻDŻY

Streszczenie

Drożdże stanowią bogate źródło enzymów wykorzystywanych w procesach biotechnologicznych przemysłu spożywczego. Działanie enzymów polega na katalizowaniu reakcji chemicznych nie tylko w organizmach żywych, ale także i poza nimi, zatem drożdże mogą również spełniać ważną rolę w syntezach chemicznych. Z punktu widzenia przetwarzania produktów spożywczych szczególnie istotne są reakcje estryfikacji i hydrolizy estrów.

Celem pracy było określenie wpływu składu pożywki na aktywność katalityczną trzech gatunków drożdży *Rhodotorula glutinis*, *Pichia jadinii* i *Saccharomyces cerevisiae*, na przykładzie reakcji modelowej, jaką jest hydroliza laurynianu fenylu. Badane gatunki drożdży, celem porównania, hodowano w standardowych warunkach (podłoże YPD) oraz na pożywkach wzbogacanych w różne źródła azotu oraz węgla.

Najsukuteczniejsze w hydrolizie estru, przy udziale w pożywce hodowanej oliwy z oliwek, były drożdże z gatunku *Pichia jadinii*, (ok. 50 % przereagowania laurynianu fenylu po 10 h, w porównaniu z 8 % przereagowaniem przy standardowej pożywce YPD), natomiast gatunek *Rhodotorula glutinis* najsukuteczniej hydrolizował badany ester podczas hodowli w obecności mocznika (powyżej 50 % po 5 h w porównaniu z 8 % przy zastosowaniu YPD). W przypadku *Saccharomyces cerevisiae*, hodowanego w obecności oliwy z oliwek, przereagowanie rzędu 50 % osiągnięto dopiero po 40 h. Można zatem wnioskować, że właściwe modyfikacje pożywki pozwalają na stymulowanie lipolitycznych zdolności poszczególnych gatunków drożdży.

Słowa kluczowe: lipazy, *Rhodotorula glutinis*, *Pichia jadinii*, *Saccharomyces cerevisiae*, pożywka mikrobiologiczna

Wprowadzenie

Drożdże wykorzystywane są w biotechnologii i mikrobiologii żywności, zarówno w procesach fermentacyjnych, jak i w przekształcaniu i wzbogacaniu produktów spo-

Mgr inż. J. Krzyczkowska, dr inż. I. Stolarzewicz, Katedra Chemii, mgr inż. D. Bellok, mgr inż. M. Bellok, dr hab. E. Białecką-Florjańczyk, prof. SGGW, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

żywczych. Stanowią one bogate źródło enzymów, spośród których ważną grupą o wszechstronnym zastosowaniu są lipazy. Przemysłowe wykorzystanie lipaz dotyczy restrukturyzacji tłuszczów, produkcji związków smakowo-zapachowych, produktów specjalnego przeznaczenia czy bioemulgatorów; ponadto odgrywają one ważną rolę jako selektywne katalizatory reakcji chemicznych, przede wszystkim hydrolizy i syntezy estrów [4, 5]. Handlowe lipazy pochodzenia mikrobiologicznego wydzielane są np. z takich drożdży, jak *Candida antarctica*, *Candida rugosa* czy *Candida cylindracea*; ciągle jednak poszukuje się nowych mikroorganizmów zdolnych do produkcji lipaz. Lipazy z drożdży są szczególnie cenione w procesach biotechnologicznych, ponieważ drożdże są postrzegane przez konsumentów jako bezpieczne (znajdują się na liście GRAS) [10]. Z danych literaturowych wynika, że również inne gatunki drożdży np. *Rhodotorula glutinis* [3], *Geotrichum candidum* [7], a także *Saccharomyces cerevisiae* [6, 8, 9] wytwarzają pewne ilości lipaz. Poszczególne gatunki drożdży charakteryzują się różną zdolnością do biosyntezy lipaz, zarówno pozakomórkowych, jak i wewnątrzkomórkowych; zależy ona między innymi od składu podłoża i warunków, w których prowadzona jest hodowla.

Celem pracy było określenie wpływu składu podłoża hodowlanego na aktywność hydrolityczną drożdży *Pichia jadinii* i *Rhodotorula glutinis*, a następnie dokonanie porównania z wynikami drożdży piekarskich *Saccharomyces cerevisiae*. Badania przeprowadzono na przykładzie reakcji modelowej, którą była hydroliza laurynianu fenylu. Kwas laurynowy (dodekanowy) należy do kwasów tłuszczowych, zatem postęp hydrolizy jego estrów jest ściśle związany z obecnością lipaz w środowisku reakcji.

Materiał i metody badań

Do badań użyto drożdży: *Rhodotorula glutinis*, *Pichia jadinii* i *Saccharomyces cerevisiae*, pochodzących z kolekcji Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW w Warszawie oraz liofilizowanych drożdży piekarskich firmy Lesaffre. Materiał mikrobiologiczny przechowywano w temp. 4 °C, na skosach YPD (2 % glukozy, 2 % peptonu, 1 % ekstraktu drożdżowego, pH = 5) z dodatkiem 2 % agaru. Podczas hodowli wglębnych wykorzystywano płynne podłoże namnażające YPD oraz podłoża stymulujące wydzielanie lipaz, o zróżnicowanym składzie źródeł węgla (oliwa z oliwek, olej kukurydziany, olej palmowy) i azotu (mocznik, pepton) – dokładny skład podłoży podano w tab. 1. Wszystkie podłoża sterylizowano w autoklawie, w temp. 121 °C przez 5 min.

Doświadczenie rozpoczynano od przeszczepienia materiału biologicznego ze skosów na płynne podłoże YPD. Kolbę płaskodenną o pojemności 500 cm³, wypełnioną 80 cm³ podłoża YPD, przeszczepiano drożdżami pobranymi ze skosów, stosując metodę zmywu przy użyciu 5 cm³ jałowej wody destylowanej. Komórki namnażano przez 48 h, w temp. 28 °C, wytrząsając kolbki na wytrząsarce posuwisto-zwrotnej przy

200 obr./min. Po tym czasie zawiesinę przelewano do wyjałowionych gilz i wirowano przez 10 min przy 1500 obr./min. Otrzymany supernatant zlewano z osadu, a biomasę drożdży przenoszono do kolb płaskodennych (obj. 500 cm³) zawierających 80 cm³ zmodyfikowanego podłoża. Hodowlę prowadzono przez okres kolejnych 5 dni, stosując te same warunki. Następnie zawartość kolb wirowano przez 10 min przy 3500 obr./min, po czym uzyskany supernatant wykorzystywano w reakcji hydrolizy, a w namnożonej biomacie oznaczano zawartość suchej substancji przy użyciu wagosuszarki.

Tabela 1

Skład podłoży hodowlanych (zróżnicowane źródła węgla i azotu) oraz uzysk biomasy.

Composition of culture media (different carbon and nitrogen sources) and cell biomass.

Nr No	Rodzaj podłoża Type of medium	Skład podłoża Composition of medium	Uzysk biomasy [g/l] Cell biomass [g/l]	
			<i>Pichia jadinii</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>
1.	YPD	20 g/l glukozy / glucose 20 g/l peptonu / peptone 10 g/l ekstraktu drożdżowego yeast extract	13,5	16,0
2.	Podłoże z mocznikiem Medium containing urea	20 g/l glukozy / glucose 10 g/l oliwy z oliwek / olive oil 2 g/l mocznika / urea 10 g ekstraktu drożdżowego yeast extract	17,1	16,2
3.	Podłoże azotowe Medium containing nitrogen	20 g/l glukozy / glucose 2 g/l mocznika / urea 3 g/l peptonu / peptone 10 g/l ekstraktu drożdżowego yeast extract	15,8	16,8
4.	Podłoże z olejem palmowym Medium containing palm oil	20 g/l glukozy / glucose 10 g/l oleju palmowego / palm oil 20 g/l peptonu / peptone 10 g/l ekstraktu drożdżowego yeast extract	22,0	26,0
5.	Podłoże z oliwą z oliwek Medium containing olive oil	20 g/l glukozy / glucose 10 g/l oliwy z oliwek / olive oil 20 g/l peptonu / peptone 10g/l ekstraktu drożdżowego yeast extract	18,9	28,9
6.	Podłoże z olejem kukurydzianym Medium containing corn oil	20 g/l glukozy glucose 10 g/l oleju kukurydzianego corn oil 20 g/l peptonu / peptone 10 g/l ekstraktu drożdżowego yeast extract	22,7	25,0

Reakcja hydrolizy

Do kolb płaskodennych (poj. 500 cm³) wprowadzano 90 cm³ supernatantu (w przypadku drożdży liofilizowanych naważano 3 g drożdży, 3 g sacharozy i odmierzano 60 cm³ wody destylowanej) i 0,75 mmola laurynianu fenylu, rozpuszczonego w 0,2 cm³ etanolu. Kolby umieszczano na wytrząsarce posuwisto-zwrotnej (200 obr./min) w temp. 28 °C. Te same warunki zachowano przy prowadzeniu reakcji z drożdżami liofilizowanymi. Postęp reakcji hydrolizy (procentowy ubytek substratu – laurynianu fenylu i przyrost produktu – fenolu) śledzono przez 72 h, pobierając próbki w odstępach 1 h przez pierwsze 6 h, następnie po 24, 48 i 72 h. Mieszaninę reakcyjną analizowano przy użyciu chromatografu gazowego Shimadzu GC-171, kolumna kapilarna BPX 70, detektor płomieniowo-jonizacyjny, gaz nośny - azot, stosując następujący profil zmian temperatury: 120 °C przez 1 min, przyrost 30 °C/1 min do 180 °C, kolejno przyrost 5 °C/1min do 230 °C i przetrzymanie w tej temperaturze przez 5 min. Rejestrację rozdziału chromatograficznego laurynianu fenylu i fenolu dokonywano z użyciem programu Chromax 2005.

Wyniki i dyskusja

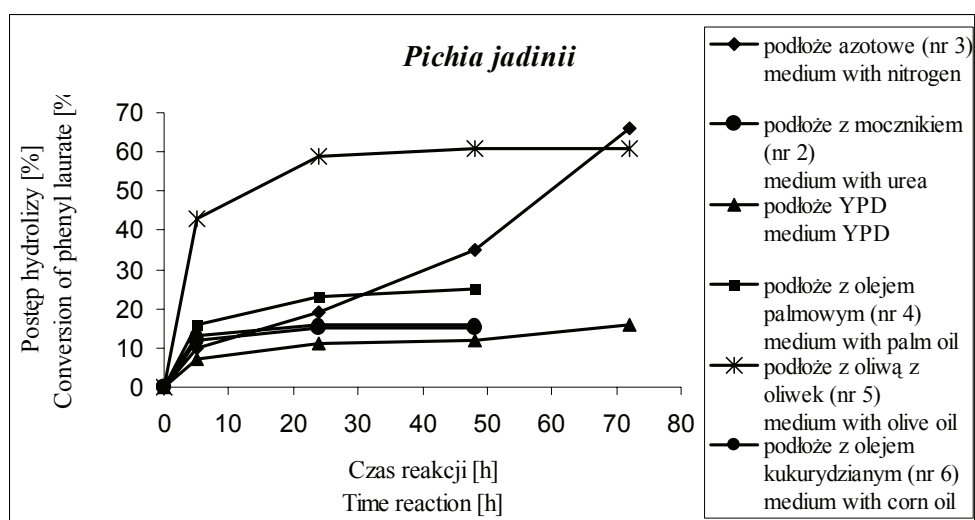
Postęp hydrolizy laurynianu fenylu przy udziale drożdży *Pichia jadinii* i *Rhodotorula glutinis*, hodowanych na pożywkach wzbogacanych w różne źródła węgla (przede wszystkim substancje lipidowe, takie jak oleje: palmowy, kukurydziany bądź oliwa z oliwek) i azotu przedstawiono na rys. 1. i 2. W tab. 1. podano skład stosowanych podłoży hodowlanych oraz uzysk biomasy z poszczególnych hodowli.

W celu porównania wybrane reakcje przeprowadzono z udziałem drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, hodowanych w analogicznych warunkach oraz dostępnych handlowo liofilizowanych drożdży piekarskich (Lesaffre) (rys. 3). Te ostatnie są najczęściej stosowane w laboratoriach chemicznych, ponieważ ich użycie nie wymaga zaplecza mikrobiologicznego.

W standardowym podłożu YPD drożdże *Rhodotorula glutinis* wykazywały znacznie większą aktywność katalityczną (całkowite przereagowanie po 70 h) niż *Pichia jadinii* (ok. 16 % w tym samym czasie).

W przypadku *Rhodotorula glutinis* zastosowanie podłoży ze zwiększoną zawartością azotu (podłoże nr 2 i 3) wpływało korzystnie na przebieg reakcji; całkowite przereagowanie osiągnięto po 48 h w porównaniu z 70 % przy użyciu podłoża YPD, przy czym relatywnie największe różnice zaobserwowano w pierwszej fazie reakcji (do 5 h). Natomiast wzbogacenie podłoża w składniki lipidowe (podłoża nr 4, 5, 6) hamowało, w porównaniu z YPD, efekt katalityczny. Drożdże *Pichia jadinii* najefektywniej katalizowały hydrolizę badanego estru, gdy zastosowano supernatant z hodowli z dodatkiem oliwy z oliwek – przereagowanie rzędu 40 % po upływie 5 h w porównaniu

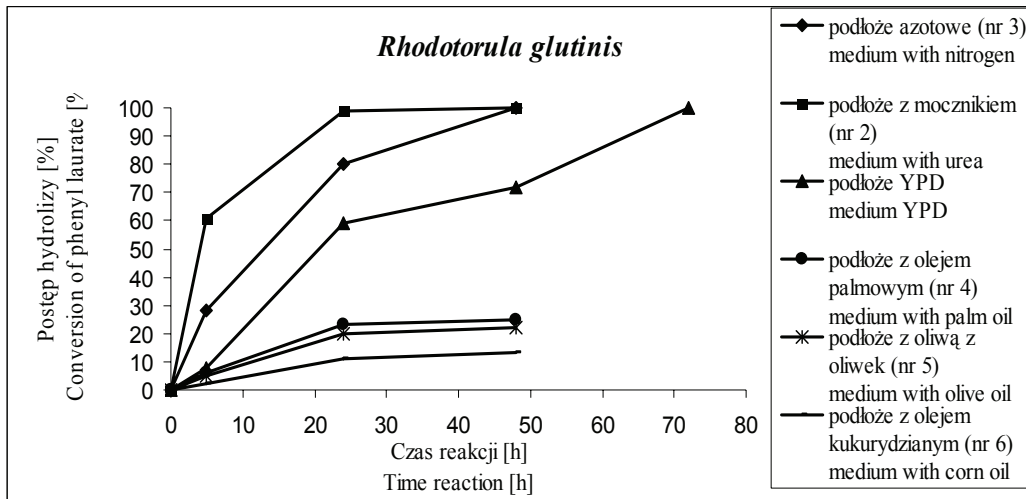
z 7 % po tym samym czasie w podłożu YPD. Po dodaniu do podłoży oleju palmowego bądź oleju kukurydzianego stymulacja lipolitycznych zdolności *Pichia jadinii* była znikoma. Wynikać to może z różnicy w składzie kwasów tłuszczowych zastosowanych olejów roślinnych. O ile podłoże ze zwiększoną zawartością azotu było skuteczne w obu przypadkach, to obecność mocznika wpłynęła korzystnie tylko na hydrolizę w obecności drożdży *Rhodotorula glutinis*. Można to powiązać ze zdolnością tych drożdży do produkcji ureazy, dzięki czemu są one w stanie, w odróżnieniu od *Pichia jadinii*, metabolizować mocznik.



Rys. 1. Wpływ składu podłoża hodowlanego na aktywność katalityczną drożdży *Pichia jadinii* w reakcji hydrolizy laurynianu fenylu.

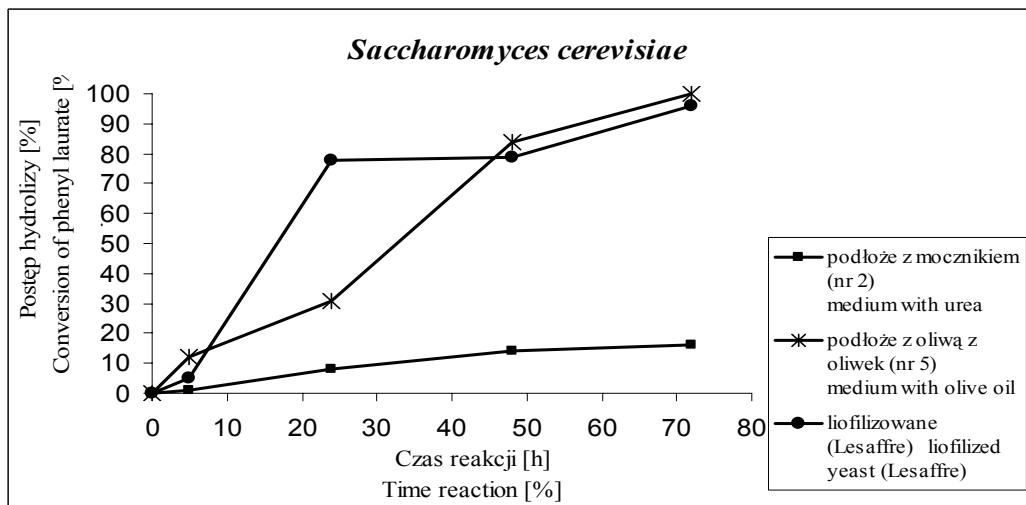
Fig. 1. Effect of the composition of medium on the catalytic activity of *Pichia jadinii* yeast under the hydrolysis reaction of phenyl laurate.

Przy użyciu drożdży *Pichia jadinii* zaobserwowano zahamowanie wzrostu prze-reagowania po upływie ok. 20 h od rozpoczęcia hydrolizy. Można przypuszczać, że po tym okresie następował spadek aktywności lipaz, co praktycznie oznacza zatrzymanie postępu reakcji. Drożdże *Rhodotorula glutinis* wykazywały podobny efekt w warunkach niestymulujących zdolności lipolitycznych (podłoże nr 4, 5 i 6). Natomiast w pozostałych przypadkach (podłoże YPD i podłoże ze zwiększoną zawartością azotu) nie zaobserwowano zahamowania reakcji przed osiągnięciem jej zakończenia. Również w przypadku drożdży *Pichia jadinii*, w obecności podłoża azotowego (nr 3), stymulującego wydzielanie lipaz, nie nastąpiło zahamowanie reakcji po upływie 70 h od jej rozpoczęcia.



Rys. 2. Wpływ składu podłoża hodowlanego na aktywność katalityczną drożdży *Rhodotorula glutinis* w reakcji hydrolizy laurynianu fenylu.

Fig. 2. Effect of the composition of medium on the catalytic activity of *Rhodotorula glutinis* under the hydrolysis reaction of phenyl laurate.



Rys. 3. Wpływ składu podłoża hodowlanego na aktywność katalityczną drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w reakcji hydrolizy laurynianu fenylu.

Fig. 3. Effect of the composition of medium on the catalytic activity of *Saccharomyces cerevisiae* on the hydrolysis of phenyl laurate.

Wyniki te częściowo pokrywają się z rezultatami otrzymanymi w przypadku typowo lipolitycznych drożdży, takich jak *Candida rugosa* [2] czy *Yarrowia lipolytica* [1] i wskazują na indukujący wpływ oliwy z oliwek (*Pichia*) czy możliwości przyswajania azotu (*Pichia*, *Rhodotorula*) na biosyntezę enzymów lipolitycznych.

Podłoża lipidowe powodują wzrost ilości otrzymanej biomasy, natomiast nie stwierdzono jednoznacznej korelacji pomiędzy ilością biomasy i zdolnością lipolityczną badanych szczepów (tab. 1).

Najbardziej efektywne z zastosowanych podłoży (tj. podłoże z dodatkiem mocznika i oliwy z oliwek) użyto do reakcji przeprowadzonych w obecności drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. W reakcjach z udziałem tych drożdży dodatek mocznika hamował hydrolizę, natomiast w obecności oliwy z oliwek hydroliza przebiegała, w przybliżeniu, ze stałą szybkością, osiągając całkowite przereagowanie po upływie 72 h. Podobny stopień zaawansowania hydrolizy laurynianu fenylu otrzymano przy bezpośrednim użyciu w reakcji dostępnych handlowo liofilizowanych drożdży piekarskich (Lesaffre). Zaobserwowano jednak istotną różnicę w profilu zmian stężenia produktu w czasie: przy użyciu supernatantu otrzymanego w obecności oliwy reakcja hydrolizy rozpoczynała się od momentu dodania substratu, natomiast przy użyciu wyłącznie drożdży liofilizowanych reakcja wymagała dość długiego okresu inkubacji (ok. 7 h). Prawdopodobnie lipazy pozakomórkowe pojawiają się dopiero w ostatnim etapie logarytmicznej fazy wzrostu, wcześniej były gromadzone wewnątrz komórek.

Wnioski

1. Właściwa modyfikacja pożywki przy zastosowaniu poszczególnych gatunków drożdży przyczynia się istotnie do zwiększania efektu katalitycznego w reakcji hydrolizy estrów kwasów tłuszczowych.
2. Mocznik okazał się najlepszym źródłem wzmagającym zdolności lipolityczne drożdży *Rhodotorula glutinis*.
3. Spośród zastosowanych podłoży lipidowych, przy użyciu drożdży *Pichia jadinii*, efekt katalityczny zaobserwowano jedynie w przypadku dodania oliwy z oliwek.
4. Liofilizowane drożdże piekarskie *Saccharomyces cerevisiae* są zdolne do katalizowania hydrolizy estrów kwasów tłuszczowych; prawdopodobnie zatem mogą być producentem lipaz, pod warunkiem odpowiednio długiego czasu reakcji, umożliwiającego wydzielenie lipaz pozakomórkowych.

Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Corzo G., Revah S.: Production and characteristics of the lipase from *Yarrowia lipolytica* 681. Bio-resource Technol., 1999, **70**, 173-180.
- [2] Dalmau E., Montesinos J.L., Lotti M., Casas C.: Effect of different carbon sources on lipase production by *Candida rugosa*. Enzyme Mikrob. Technol., 2000 **26**, 657-663.
- [3] Hatzinikolaou, D.G., Kourentzi E., Stamatis H., Christakopoulos P., Kolisis F.N., Kekos D., Macris B.J.: A novel lipolytic activity of *Rhodotorula glutinis* cells: Production, partial characterization and application in the synthesis of esters. J. Bios. Bioeng., 1999, **88**, 53-56.
- [4] Jaeger K-E., Eggert T.: Lipases for biotechnology. Curr. Opin. Biotech., 2002, **13**, 390-397.
- [5] Krzyczkowska J., Stolarzewicz I. Wpływ immobilizacji na aktywność katalityczną drożdży piekarskich *Saccharomyces cerevisiae*. Doktorant a rozwój nauk rolniczych. Wielokierunkowość badań w rolnictwie. Zeszyty Naukowe AR w Krakowie, 2008, **444 (2)**, 413-420.
- [6] Nurminen T., Suomalainen H.: The lipolytic activities of isolated cell envelope fractions of baker's yeast. Biochem. J., 1970, **118**, 759-763.
- [7] Rywińska A., Witkowska D.: Utylizacja odpadów tłuszczowych z udziałem wybranych szczepów *Geotrichum candidum*. Acta Sci. Pol. Biotechnologia, 2006, **5**, 27-38.
- [8] Schousboe I.: Triacylglycerol lipase activity in baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). Bioch. Biophys. Acta, 1976, **450**, 165-174.
- [9] Shirazi S.H., Rahman S.R., Rahman M.M.: Production of extracellular lipases by *Saccharomyces cerevisiae*. World J. Microb. Biotech., 1998, **14**, 595-597.
- [10] Vakhlu J., Kour A.: Yeast lipases: enzyme purification, biochemical properties and gene cloning. Electronic J. Biotechnol., 2006, **9 (1)**.


EFFECT OF MEDIUM MODIFICATION ON BIO-CATALYTIC PROPERTIES OF YEASTS

S u m m a r y

Yeasts constitute a rich source of enzymes used in biotechnological processes in food industry. The activity of enzymes consists in catalyzing chemical reactions not only in live organisms, but, also, outside those live organisms, thus, yeasts can also fulfil an important role in chemical syntheses. From the point of view of food products processing, the reactions of esterification and hydrolysis of esters are particularly essential.

The objective of this paper was to determine the impact of medium composition on the catalytic activity of three kinds of yeasts: *Pichia jadinii*, *Rhodotorula glutinis*, and *Saccharomyces cerevisiae* exemplified by a model reaction of hydrolysis of phenyl laurate. The yeasts studied were cultured under the typical conditions (YDP medium) and on media enriched by various sources of nitrogen and carbon.

The *Pichia jadinii* yeasts proved to be most efficient in the hydrolysis of esters with a medium containing olive oil (about 50 % of the conversion of phenyl laurate after 10 h compared to 8 % of conversion using a standard YPD medium). As for *Rhodotorula glutinis*, the ester studied hydrolyzed most efficiently while being culture with the participation of urea (more than 50 % after the 5 h compared with 8 % with the YPD medium applied). In the case of *Saccharomyces cerevisiae*, cultured in the presence of olive oil, a level of 50% of the conversion was reached as late as after 40 h. Therefore, it can be concluded that proper modifications of medium allow for the stimulation of lipolytic activity of individual kinds of yeasts.

Key words: lipase, *Rhodotorula glutinis*, *Pichia jadinii*, *Saccharomyces cerevisiae*, microbiological medium 

ALICJA KOŚMIDER, KAMILA MYSZKA, KATARZYNA CZACZYK

OGRANICZONA DOSTĘPNOŚĆ SKŁADNIKÓW ODŻYWCZYCH W ŚRODOWISKU JAKO INDUKTOR WZROSTU OPORNOŚCI DROBNOUSTROJÓW NA CZYNNIKI ANTYMIKROBIOLOGICZNE

Streszczenie

W dostępnej literaturze pojawiają się doniesienia świadczące o tym, że ograniczona dostępność składników pokarmowych w środowisku wzrostu drobnoustrojów indukuje ich oporność na czynniki antymikrobiologiczne. Celem przeprowadzonych doświadczeń była weryfikacja tej hipotezy badawczej.

Określono wpływ ograniczonej dostępności składników pokarmowych w medium hodowlanym, na oporność drobnoustrojów *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris* i *Pseudomonas aeruginosa* na działanie wybranych środków dezynfekcyjnych: formaldehydu, nadtlenu wodoru oraz IV-rzędowych soli amoniowych.

Wyznaczenie minimalnych stężeń hamujących wzrost drobnoustrojów w 90 % (wskaźnik MIC_{90%}, ang. *minimal inhibitory concentration*) i minimalnych stężeń bójczych (wskaźnik MBC, ang. *minimal bactericidal concentration*) badanych środków dezynfekcyjnych wykonano metodą zawieszinową. Analizę zmian profilu białek ogólnych drobnoustrojów przeprowadzono metodą elektroforezy jednokierunkowej w warunkach denaturujących (SDS-PAGE).

Na podstawie przeprowadzonych badań nie stwierdzono wpływu ograniczonej dostępności składników pokarmowych w pożywce oraz czasu trwania hodowli na wzrost oporności drobnoustrojów poddanych działaniu wybranych środków dezynfekcyjnych. Najskuteczniejsze działanie bójcze wobec *Enterococcus faecalis* wykazały IV-rzędowe sole amoniowe, a w przypadku komórek *Proteus vulgaris* i *Pseudomonas aeruginosa* ekspozycja na formaldehyd. Stwierdzono także, że hodowla komórek *Pseudomonas aeruginosa*, prowadzona na podłożu o ograniczonej dostępności składników pokarmowych, indukowała zmiany profilu białek ogólnych tych drobnoustrojów.

Słowa kluczowe: stres głodowy, oporność, MIC, MBC

Wprowadzenie

Zmniejszenie wrażliwości drobnoustrojów inkubowanych w warunkach głodowych na środki antymikrobiologiczne może stanowić zagrożenie i może być przyczyną

Mgr inż. A. Kośmider, dr inż. K. Myszka, dr hab. inż. K. Czaczyk, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań

wielu komplikacji w leczeniu zatruc pokarmowych i innych schorzeń. Ograniczona dostępność składników pokarmowych w środowisku wzrostu jest bezpośrednim induktorem zmian morfologicznych i fizjologicznych mikroorganizmów, chroniących komórki przed degradacyjnym wpływem substancji toksycznych [13]. Pod wpływem szoków środowiskowych inhibicja szeregu szlaków metabolicznych różnych drobnoustrojów np. *Escherichia* spp., *Salmonella* spp., *Vibrio* spp., kształtuje ich wysoką oporność na czynniki antymikrobiologiczne [17]. Efektem stresu głodowego wywołanego u drobnoustrojów jest zahamowanie wzrostu i syntezy ściany komórkowej bakterii [7, 9]. Faza zastoju stanowi okres przygotowawczy, w trakcie którego bakterie przebudowują swój aparat enzymatyczny [7, 8, 9]. Zwolnieniu tempa wzrostu towarzyszą zmiany morfologiczne. Bakterie Gram-ujemne np. *Escherichia coli* w stadium żyjących lecz nie dających się hodować mikroorganizmów (ang. *viable but nonculturable* - VBNC), przybierają postać kulistą i mają mniejsze wymiary niż aktywne fizjologicznie komórki wegetatywne [5, 11, 17]. Bakterie Gram-dodatnie przy deficytowej dostępności składników pokarmowych w pożywce nie kurczą się, ale wskutek asymetrycznego podziału komórki mogą przybierać formy o zdecydowanie mniejszych wymiarach [5]. U drobnoustrojów poddanych stresowi głodowemu stwierdzono także zmiany fizjologiczne, objawiające się wzmożoną sekrecją egzopolisacharydów oraz zmianami konformacyjnymi błonowych kwasów tłuszczowych [5, 13, 17]. Zdaniem badaczy zmiany te są reakcją adaptacyjną drobnoustrojów na stres środowiskowy i warunkują one komórkową oporność przed autolizą wywołaną przez środki dezynfekcyjne [5]. W warunkach stresu głodowego drobnoustroje zdolne są także do syntezy specyficznych białek stresowych i genów głodzenia [3, 6, 15].

W celu skutecznego usuwania aktywnych mikroorganizmów z powierzchni użytkowych, ważne jest obliczenie wartości klasycznych wskaźników MIC_{90%} i MBC w warunkach imitujących naturalne nisze ekologiczne. Skuteczną strategią jest także lepsze zrozumienie natury składników komórkowych i ich funkcji w oporności drobnoustrojów w warunkach głodowych na czynniki toksyczne.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu ograniczonej dostępności składników pokarmowych w medium hodowlanym na oporność drobnoustrojów *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris* i *Pseudomonas aeruginosa* na działanie wybranych środków dezynfekcyjnych, takich jak: formaldehyd, nadtlenek wodoru i IV-rzędowe sole amoniowe.

Material i metody badań

Przedmiotem badań były 3 szczepy bakterii chorobotwórczych: *Enterococcus faecalis* ATCC 7080, *Proteus vulgaris* ATCC 6380 i *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145.

W badaniach użyto następujących środków dezynfekcyjnych: formaldehydu (POCH, Gliwice), nadtlenu wodoru (STANDARD, Lublin) i chlorku didecylodimetyloamoniowego (kationowa QAC) (Jodex, Poznań)

Warunki prowadzenia hodowli

Hodowle mikroorganizmów prowadzono na pożywkach płynnych do namnażania *Enterococcus faecalis*: pepton K (BTL, Łódź) (15 g/l), ekstrakt mięsny (BTL, Łódź) (4,5 g/l), glukoza (Chempur, Piekary Śląskie) (7,5 g/l), azydek sodu (POCH, Gliwice) (0,2 g/l), chlorek sodu (Chempur, Piekary Śląskie) (7,5 g/l) [4], *Proteus vulgaris*: gotowa pożywka do namnażania *Enterobacteriaceae* wg Mossela [12], *Pseudomonas aeruginosa*: gotowa pożywka ABGP wg Schuberta [16]. Jako podłoże stałe do wzrostu drobnoustrojów zastosowano agar wzbogacony (BTL, Łódź) (30 g/l) z glukozą (Chempur, Piekary Śląskie) (10 g/l) [17]. Hodowle prowadzono w warunkach dynamicznych (100 obr./min). Jako optymalne warunki hodowli przyjęto podstawowy skład pożywek do namnażania drobnoustrojów i temp. 37 °C. Badając wpływ stresu głodowego na komórki bakterii, zawartość składników pokarmowych w medium hodowlanym zredukowano 10-krotnie. Hodowle prowadzono przez 144 h, przeszczepiając co 48 h 10 % hodowli drobnoustrojów do świeżych pożywek o optymalnym i 10-krotnie zredukowanym składzie. Oznaczeń dokonywano po 48 h i 144 h hodowli, odpowiadającym odpowiednio fazie wzrostu logarytmicznego drobnoustrojów oraz fazie stacjonarnej.

Oznaczanie ogólnej liczby drobnoustrojów

Liczbę badanych mikroorganizmów w warunkach optymalnego i głodowego środowiska wzrostu określano metodą płytkową Kocha. Z kolejnych rozcieńczeń dziesiętnych wykonywano posiewy, przenosząc po 1 ml zawiesiny do dwóch równoległych płytek Petriego. Zawartość płytek Petriego zalewano ok. 15 ml upłynnionego podłoża. Płytki Petriego inkubowano przez 24 h w temp. 37 °C, następnie dokonywano odczytu wyników.

Wyznaczenie wskaźników MIC₉₀ % i MBC

Wskaźniki MIC₉₀% i MBC badanych preparatów dezynfekcyjnych określano metodą zawiesinową. Do wyznaczenia wskaźników MIC₉₀% i MBC [%]: 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 1; 2; 3; 5 i 7 roztworów formaldehydu, następnie [%]: 0,5; 1; 2; 3; 5; 7; 8 i 10 roztworów nadtlenu wodoru oraz [%]: 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 1; 3; 5; 7 roztworów IV-rzędowych soli amoniowych, drobnoustroje poddano 15 min ekspozycji na działanie tych preparatów dezynfekcyjnych.

Do probówek zawierających 9 ml płynnej pożywki namnażającej wprowadzano po 1 ml badanego środka dezynfekcyjnego o odpowiednim stężeniu i hodowlę testowanego szczepu bakteryjnego o gęstości $10^7 - 10^8$ jtk/ml. Po 15 min wykonywano posiew metodą płytkową Kocha. Wyznaczenia wskaźników MIC_{90%} i MBC dokonywano po 24 h inkubacji prób w temp. 37 °C.

Elektroforetyczna identyfikacja zmian profilu białek ogólnych (SDS-PAGE)

Do oceny zmian profilu białek ogólnych wytypowano drobnoustroje *Pseudomonas aeruginosa* i poddawano je 15 min ekspozycji na działanie 2 % wodnego roztworu nadtlenu wodoru. Hodowle bakterii prowadzono w warunkach dynamicznych na podłożu płynnym przeznaczonym do namnażania komórek *Pseudomonas aeruginosa* przez 144 h. Osad komórek poddawano lizie 8 M roztworem mocznika. Zawartość wyekstrahowanych białek komórkowych w próbach oznaczano spektrofotometrycznie metodą Bradforda [2]. Rozdziału wyizolowanych biopolimerów dokonywano techniką jednokierunkowej elektroforezy w warunkach denaturujących (SDS-PAGE) przy napięciu 100 V wg Laemmli [10]. W doświadczeniach zastosowano 12 % żel poliakrylamidowy. Czas trwania rozdziału wynosił 1,5 h. Jako wzorzec zastosowano mieszaninę białek o znanej masie cząsteczkowej (Sigma, USA). Wizualizację rozdzielonych na żelach poliakrylamidowych białek komórkowych prowadzono techniką wybarwiania pasm solami srebra [1].

Wyniki i dyskusja

W pierwszym etapie pracy zbadano wpływ ograniczonej dostępności składników odżywczych w pożywce, jako potencjalnego induktora wzrostu oporności komórek *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris* i *Pseudomonas aeruginosa*, na wybrane czynniki antymikrobiologiczne. W tab. 1., 2. i 3. przedstawiono wyniki tych badań.

Po przeprowadzeniu eksperymentów, mających na celu wyznaczenie wskaźników MIC_{90%} i MBC badanych środków dezynfekcyjnych, stwierdzono, że bakterie *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris* i *Pseudomonas aeruginosa* inkubowane na pożywkach o optymalnej i 10-krotnie zredukowanej zawartości składników pokarmowych, poddane 15 min ekspozycji na działanie wybranych stężeń roztworu formaldehydu, nie wykazały znaczących różnic wzrostu oporności w warunkach głodowych. Nie zaobserwowano również wpływu czasu trwania hodowli na zmianę wartości wskaźników MIC_{90%} i MBC, które wahały się w granicach 0,5-2 %.

Wyznaczone wskaźniki MIC_{90%} i MBC nadtlenu wodoru, z wykorzystaniem drobnoustrojów *Enterococcus faecalis* w 48 h hodowli, w warunkach optymalnej i ograniczonej zawartości składników pokarmowych cechowały się zbliżoną wartością. Podobne wartości wskaźnika MIC_{90%} dla tego drobnoustroju zanotowano także w 144 h

Tabela 1

Wartości współczynników MIC_{90%} i MBC formaldehydu w zależności od dostępności składników pokarmowych w pożywce hodowlanej.
 Values of MIC_{90%} and MBC of formaldehyde depending on the availability of nutrients in the culture medium.

Środek dezynfekcyjny Disinfectant	Czas hodowli [h] Time of incubation [h]	Dostępność składników pokarmowych w pożywce Availability of nutrients in the culture medium											
		optymalna optimal						10-krotnie zredukowana tenfold reduced					
		MIC _{90%}			MBC			MIC _{90%}			MBC		
Formaldehyd Formaldehyde		<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>	<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>	<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>	<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>
	48	1	0,5	2	2	0,5	2	1	0,5	0,5	2	0,5	0,5
	144	0,5	0,5	0,5	2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	2	0,5	0,5

E. faec.-*Enterococcus faecalis*; *P. vulg.*-*Proteus vulgaris*; *P. aerug.*-*Pseudomonas aeruginosa*

Tabela 2

Wartości współczynników MIC_{90%} i MBC nadtlenu wodoru w zależności od dostępności składników pokarmowych w pożywce hodowlanej.
 Values of MIC_{90%} and MBC of hydrogen peroxide depending on the availability of nutrients in the culture medium.

Środek dezynfekcyjny Disinfectant	Czas hodowli [h] Time of incubation [h]	Dostępność składników pokarmowych w pożywce Availability of nutrients in the culture medium											
		optymalna optimal						10-krotnie zredukowana tenfold reduced					
		MIC _{90%}			MBC			MIC _{90%}			MBC		
Nadtlenek wodoru Hydrogen peroxide		<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>	<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>	<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>	<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>
	48	2	x	10	2	x	x	2	2	7	3	3	x
	144	0,5	x	x	2	x	x	2	8	2	3	10	3

E. faec.-*Enterococcus faecalis*; *P. vulg.*-*Proteus vulgaris*; *P. aerug.*-*Pseudomonas aeruginosa*;
 x - nie wyznaczono (określana wartość nie znalazła się w badanym przedziale stężeń preparatu)
 x - not determined (the value being determined was not comprised by the studied concentration range of the preparation)

Tabela 3

Wartości współczynników MIC_{90%} i MBC IV-rzędowych soli amoniowych w zależności od dostępności składników pokarmowych w pożywce hodowlanej.

Values of MIC_{90%} and MBC of quaternary ammonium compounds depending on the availability of nutrients in the culture medium.

Środek dezynfekcyjny Disinfectant	Czas hodowli [h] Time of incubation [h]	Dostępność składników pokarmowych w pożywce Availability of nutrients in the culture medium											
		optymalna optimal						10-krotnie zredukowana tenfold reduced					
IV-rzędowe sole amoniowe Quaternary ammonium compounds	[h]	MIC _{90%}			MBC			MIC _{90%}			MBC		
		<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>	<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>	<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>	<i>E. faec.</i>	<i>P. vulg.</i>	<i>P. aerug.</i>
		48	x	x	3	0,3	x	x	x	x	x	0,3	0,2
144	x	x	0,5	0,3	x	x	x	x	x	0,3	0,1	0,1	

E. faec.- *Enterococcus faecalis*; *P. vulg.*- *Proteus vulgaris*; *P. aerug.*- *Pseudomonas aeruginosa*;

x - nie wyznaczono (określana wartość nie znalazła się w badanym przedziale stężeń preparatu)

x - not determined (the value being determined was not comprised by the studied concentration range of the preparation)

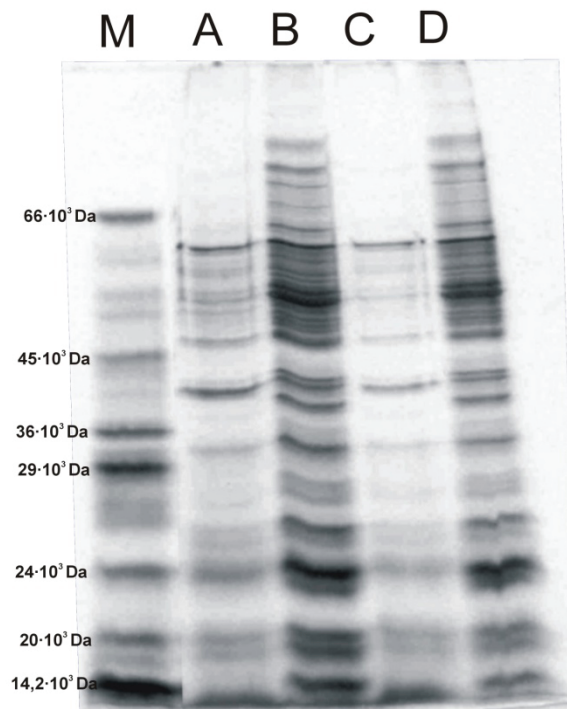
trwania procesu. Widoczne różnice w stopniu wrażliwości badanych komórek na zastosowany środek dezynfekcyjny odnotowano podczas wyznaczenia wskaźnika MBC w fazie stacjonarnej. Całkowite zamieranie komórek *Enterococcus faecalis*, prowadzonych w warunkach optymalnego wzrostu, odnotowano po użyciu 2 % roztworu nadtlenu wodoru. Bakterie poddane stresowi głodowemu wykazywały mniejszą wrażliwość i moment całkowitej inaktywacji badanych komórek zaobserwowano po zastosowaniu 3 % roztworu preparatu. Analizując wartości wskaźników MIC_{90%} i MBC komórek *Proteus vulgaris* stwierdzono wyższą oporność drobnoustrojów w warunkach optymalnych. Zastosowane stężenia roztworów nadtlenu wodoru nie spowodowały wyraźnej inhibicji wzrostu komórek *Proteus vulgaris*. W przeprowadzonych eksperymentach odnotowano wpływ czasu trwania hodowli *Proteus vulgaris* w warunkach głodowych na wzrost oporności komórek na działanie nadtlenu wodoru. Zastosowanie tego środka dezynfekcyjnego w stężeniach w zakresie 1- 3 % oraz 8 % spowodowało 90 % inhibicję wzrostu odpowiednio 48 h i 144 h hodowli badanych drobnoustrojów. Widoczne różnice wrażliwości na zastosowany środek dezynfekcyjny odnotowano także przy wyznaczeniu wskaźnika MBC. Całkowite zamieranie 48 h hodowli *Pro-*

teus vulgaris prowadzonej w warunkach głodowych wzrostu zaobserwowano przy użyciu 3 % roztworu nadtlenu wodoru, a w 144 h hodowli – po zastosowaniu 10 % roztworu badanej substancji dezynfekującej. Nadtlenek wodoru zastosowany na komórki *Pseudomonas aeruginosa* okazał się całkowicie nieskuteczny w przypadku hodowli o optymalnej podaży składników odżywczych. W żadnym z przeprowadzonych eksperymentów zastosowane stężenia nadtlenu wodoru nie działały bakteriobójczo na komórki inkubowane w warunkach optymalnej zawartości źródeł węgla i azotu przez 144 h. Ekspozycja drobnoustrojów *Pseudomonas aeruginosa* inkubowanych w warunkach głodowych przez 144 h na działanie 3 % roztworu nadtlenu wodoru spowodowało całkowitą eradykację tych mikroorganizmów. W powyższym wariancie doświadczenia, wartość wskaźnika MIC_{90%} wyniosła 2.

W większości przeprowadzonych eksperymentów nie zanotowano inhibicji wzrostu drobnoustrojów w optymalnych i głodowych warunkach środowiska przy ekspozycji badanych drobnoustrojów na działanie zastosowanych stężeń IV-rzędowych soli amoniowych. W żadnym z przeprowadzonych doświadczeń nie zaobserwowano działania bójczego tego środka na mikroorganizmy *Proteus vulgaris* i *Pseudomonas aeruginosa* w warunkach optymalnych. W przypadku komórek *Enterococcus faecalis* wskaźnik MBC wyniósł 0,3. Stosując warunki głodowe hodowli, oporność drobnoustrojów *Proteus vulgaris* i *Pseudomonas aeruginosa* obniżyła się i całkowita inaktywacja komórek następowała już przy zastosowaniu 0,1 – 0,3 % stężenia IV-rzędowych soli amoniowych. W przypadku komórek *Enterococcus faecalis* wartość wskaźnika MBC pozostała na poziomie 0,3.

W większości przeprowadzonych doświadczeń nie stwierdzono znaczącego wzrostu oporności komórek, inkubowanych przy 10-krotnie zredukowanej podaży związków chemicznych w pożywce, na zastosowane stężenia badanych środków dezynfekujących. W niniejszej pracy wydłużenie czasu trwania hodowli nie spowodowało wzrostu oporności komórek na zastosowane czynniki toksyczne. Odmienne rezultaty uzyskali Pichereau i wsp. [14], badając stopień wrażliwości komórek *Enterococcus faecalis*, inkubowanych przy ograniczonym dostępie źródeł węgla w pożywce, na środki przeciwdrobnoustrojowe. Zdaniem tych badaczy, warunki głodowe środowiska wzrostu są induktorem silnej krzyżowej ochrony w komórkach, przeciwdziałaniu takich substancji toksycznych, jak etanol i sole kwasów żółciowych. Zwiększoną oporność drobnoustrojów pozyskanych z naturalnych nisz ekologicznych zaobserwowano także wśród innych grup mikroorganizmów np. podczas badań przeprowadzonych przez Państwowy Zakład Higieny (PZH) [18] z wykorzystaniem grzybów *Candida albicans*, wyizolowanych ze środowiska szpitalnego i ekspozowanych na działanie takich środków dezynfekcyjnych, jak: chloramina, aldehyd glutarowy, formaldehyd i pochodne fenolu. Większość zastosowanych szczepów przez PZH, wyizolowanych ze środowiska szpitalnego, tolerowało wysokie stężenia środków dezynfekcyjnych, w porównaniu

ze szczepem laboratoryjnym *Candida albicans*. Ponadto niektóre szczepy *Candida albicans* wyizolowane od chorych pacjentów lub kolonizujących urządzenia medyczne, odznaczały się wyższą przeżywalnością po bezpośredniej ekspozycji na wybrane stężenia środków dezynfekcyjnych niż szczepy laboratoryjne.



Rys. 1. Wpływ dostępności składników pokarmowych w pożywce na profil zewnątrzkomórkowych białek komórek *Pseudomonas aeruginosa* (A - inkubowanych w warunkach głodowych, B - inkubowanych w warunkach optymalnych, C - inkubowanych w warunkach głodowych i poddanych ekspozycji na działanie środka dezynfekcyjnego, D - inkubowanych w warunkach optymalnych i poddanych ekspozycji na działanie środka dezynfekcyjnego, M - marker ciężaru cząsteczkowego).

Fig. 1. Effect of availability of nutrients in the culture medium on the extra-cellular protein profile of *Pseudomonas aeruginosa* cells (A - incubated under starvation conditions, B - incubated under optimal conditions, C - incubated under starvation conditions and treated by a disinfectant, D - incubated under optimal conditions and treated by a disinfectant, M - molecular weight marker).

W przedstawionych badaniach stwierdzono, że zastosowane środki dezynfekcyjne nie spowodowały w większości przypadków narastania oporności badanych drobnoustrojów w warunkach głodowych. Dobór odpowiedniego środka ma więc kluczowe znaczenie w walce z mikroflorą patogenną. Brak zmniejszenia wrażliwości wynikać może także z faktu, że drobnoustroje narażone na subletalne warunki bytowania znacz-

nie wydłużają czas generacji. Takie prawidłowości zaobserwowano w hodowli *Escherichia coli* prowadzonej na pożywce zawierającej jako źródło węgla i energii laktozę w stężeniu 90 mg/l [9]. Średnie tempo wzrostu badanych mikroorganizmów w tych warunkach inkubacji wynosiło 53 min. Zmniejszenie stężenia laktozy w podłożu hodowlanym do poziomu 9 mg/l, wydłużyło okres międzypodziałowy komórek do 550 min. Na skutek zahamowania wzrostu i biosyntezy ściany komórkowej, działanie środka antymikrobiologicznego w postaci penicyliny stało się nieskuteczne [9]. Zastosowany w niniejszej pracy 144 h czas inkubacji, prawdopodobnie nie spowodował jeszcze wykształcenia pełnych mechanizmów narastania oporności drobnoustrojów. W celu sprawdzenia tej hipotezy przeprowadzono analizę białek ogólnych wybranej grupy drobnoustrojów, poddanej stresowi głodowemu w stacjonarnej fazie wzrostu.

W drugim etapie badań oceniano wpływ ograniczonej dostępności składników odżywczych w środowisku wzrostu na zmiany profilu białek ogólnych *Pseudomonas aeruginosa* po ekspozycji na 2 % roztwór nadtlenu wodoru. Wpływ optymalnej i ograniczonej dostępności składników pokarmowych w środowisku wzrostu na zmiany profilu białek ogólnych komórek *Pseudomonas aeruginosa* przedstawiono na rys. 1. Równoczesny rozdział mieszaniny białek wzorcowych i wyekstrahowanych białek komórkowych umożliwił przeprowadzenie analizy porównawczej względnych mas cząsteczkowych.

Wielu autorów wykazuje indukcję genów kodujących specyficzne białka pozwalające przetrwać drobnoustrojom stres głodowy i inne niekorzystne czynniki hodowlane [3, 6, 15]. Zmiany w profilach ogólnych białek *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, powodowane oddziaływaniem na komórki ciepła, soli kwasów żółciowych i chlorku sodu, stwierdzono w badaniach przeprowadzonych przez Rince i wsp. [15]. Warunki stresowe środowiska wzrostu indukowały powstanie aż 167 nowych białek, z czego 6 makromolekuł określono jako podstawowe białka stresowe GSP (ang. *general stress proteins*). Odmienne wyniki uzyskano w niniejszej pracy. Nie stwierdzono biosyntezy przez badane mikroorganizmy nowych białek w warunkach stresu głodowego. Zauważono jednak różnice efektywności biosyntezy ogólnych białek wytwarzanych przez badane drobnoustroje w warunkach optymalnej i zredukowanej dostępności składników pokarmowych. Intensywność barwy rozdzielonych na żelu poliakrylamidowym biopolimerów o względnej masie cząsteczkowej mieszczącej się w zakresie $14,2 \cdot 10^3$ – $36 \cdot 10^3$ Da, wskazuje na wyraźne ograniczenie biosyntezy tych związków przez komórki *Pseudomonas aeruginosa* w warunkach głodowych. W powyższym wariantcie doświadczenia nie stwierdzono biosyntezy przez badane mikroorganizmy wysokocząsteczkowych białek o względnej masie cząsteczkowej powyżej $66 \cdot 10^3$ Da. Ekspozycja komórek *Pseudomonas aeruginosa*, hodowanych przy ograniczonym dostępie składników odżywczych w środowisku wzrostu, na działanie 2 % roztworu nadtlenu wodoru indukowała zmniejszenie wydajności biosyntezy związków o masie cząsteczkowej

mieszczącej się w zakresie $24 \cdot 10^3 - 66 \cdot 10^3$ Da. Takich zależności nie zaobserwowano u drobnoustrojów inkubowanych przy optymalnej zawartości źródeł węgla i azotu w pożywce i narażonych na działanie danej substancji dezynfekującej.

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki świadczą o tym, że warunki głodowe, którym poddane zostały drobnoustroje, nie spowodowały znaczących różnic we wzroście oporności w porównaniu z hodowlą prowadzoną w warunkach o optymalnej podaży składników pokarmowych. Stwierdzono, że proces nabywania oporności przez badane mikroorganizmy jest okresem długim, o czym świadczą zmiany intensywności biosyntezy białek ogólnych przez drobnoustroje poddane stresowi głodowemu i ekspozycji na zastosowany środek dezynfekcyjny po 144 h hodowli.

Wnioski

1. Nie stwierdzono wpływu ograniczonej dostępności składników pokarmowych w pożywce na wzrost oporności drobnoustrojów poddanych działaniu wybranych stężeń środków dezynfekcyjnych.
2. W większości wariantów eksperymentów wydłużenie czasu trwania hodowli mikroorganizmów na podłożu o zredukowanej zawartości substancji odżywczych nie wpłynęło na wzrost oporności komórek na zastosowane środki dezynfekcyjne. Spośród przebadanych substancji antymikrobiologicznych, najefektywniejsze działanie hamujące wzrost testowanych drobnoustrojów (redukcja o 90 %) odnotowano po zastosowaniu wodnych roztworów formaldehydu.
4. W przeprowadzonych doświadczeniach całkowite zamieranie komórek *Enterococcus faecalis* w badanym płynie hodowlanym następowało po zastosowaniu IV-rzędowych soli amoniowych. Najskuteczniejsze działanie bakteriobójcze względem komórek *Proteus vulgaris* i *Pseudomonas aeruginosa* wykazano w przypadku wodnych roztworów formaldehydu.
5. Hodowla komórek *Pseudomonas aeruginosa*, prowadzona na podłożu o ograniczonej dostępności składników pokarmowych, indukowała zmiany w profilu białek ogólnych. Po narażeniu badanych komórek na działanie wodnego roztworu nadtlenu wodoru stwierdzono ograniczenie biosyntezy biopolimerów o względnej masie cząsteczkowej mieszczącej się w zakresie $24 \cdot 10^3 - 66 \cdot 10^3$ Da.

Badania prowadzono w ramach projektu badawczego MNiSW N N312 3265 33. Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Blum H., Beier H., Gross H., J.: Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. *Electroporesis*, 1987, **8** (1), 93-99.
- [2] Bradford M.M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 1976, **72**, 248-254.
- [3] Brzostek K.: Mechanizmy regulacji czynników wirulencji *Yersinia enterocolitica*. *Post. Mikrobiol.*, 2004, **43** (1), 7-38.
- [4] Burbianka M.: *Mikrobiologia żywności*. PZWL, Warszawa 1983.
- [5] Dahm H., Strzelczyk E.: Żyjące lecz nie dające się hodować bakterie. *Post. Mikrobiol.*, 2004, **43**, 251-265.
- [6] Giard J.C., Hartke A., Flahaut S., Boutibonnes P., Auffray Y.: Glucose starvation response in *Enterococcus faecalis* JH2-2: survival and protein analysis. *Res. Microbiol.*, 1997, **148**, 27-35.
- [7] <http://www.ietu.katowice.pl/wpr/Aktualnosci/Czestochowa/Referaty/Smylla.pdf>
- [8] Jones T., Gill C. O., McMullen. L.M.: The behavior of log phase *Escherichia coli* at temperatures below the minimum for sustained growth. *Food Microbiol.*, 2002, **19**, 83-90.
- [9] Kunicki-Goldfinger W.J.H.: *Życie bakterii*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2001.
- [10] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, **222**, 680-685.
- [11] Lange R., Hengge-Aronis R.: Growth phase-regulated expression of *bolA* and morphology of stationary-phase *Escherichia coli* cells are controlled by the novel sigma factor σ^S . *J. Bacteriol.*, 1991, **173**, 4474-4481.
- [12] Mossel D.A.A.: The examination of foods for *Enterobacteriaceae* using a test of the type generally adapted for the detection of salmonellae. *J. Appl. Bacteriol.*, 1963, **24**, 444-452.
- [13] Myszka K., Czaczyk K.: Ograniczona dostępność składników odżywczych w środowisku wzrostu jako induktor zmian metabolicznych u bakterii heterotroficznych. *Post. Mikrobiol.*, 2006, **45** (2), 87-95.
- [14] Pichereau V., Hartke A., Yanick A.: Review. Starvation and osmotic stress induced multiresistances influence of extracellular compounds. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **55**, 19-25.
- [15] Rince A., Flahaut S., Auffray Y.: Identification of general stress genes in *Enterococcus faecalis*. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **55**, 87-91.
- [16] Schubert R.: The use of arginine brilliantgreen glucose peptone broth (ABGP Medium) as a primary culture medium for *Pseudomonas aeruginosa*. *Zbl. Bakt. Hyg. B*, 1989, **187**, 266-268.
- [17] Siegle D.A., Kolter R.: MiniReview. Life after log. *J. Bacteriol.*, 1992, **174** (2), 345-348.
- [18] Tadeusiak B.: Wrażliwość na środki dezynfekujące szczepów *Candida albicans* izolowanych ze środowiska szpitalnego. *Roczn. PZH*, 1998, **49**, 73-86.
- [19] Trojanowska K., Giebel H., Gołębiowska B.: *Mikrobiologia żywności*. Wyd. AR w Poznaniu, Poznań 1996.

LIMITED AVAILABILITY OF NUTRIENTS IN ENVIRONMENT AS INDUCER OF INCREASE IN THE RESISTANCE OF MICRO-ORGANISMS AGAINST ANTIMICROBIAL FACTORS

Summary

In the reference literature available, there are reports that the limited availability of nutrients in the culture medium of micro-organisms induces their resistance against antimicrobial factors. The objective of the conducted experiments was to verify this research hypothesis.

The effect was determined of the limited availability of nutrients in a culture medium on the resistance of *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris*, and *Pseudomonas aeruginosa* against the action of three selected disinfection agents: formaldehyde, hydrogen peroxide, and quaternary ammonium salts.

A suspension method was applied to determine MIC_{90%} (*minimal inhibitory concentration*), i.e. minimal concentration levels inhibiting the growth of micro-organisms in 90% disinfection agents studied, and MBC (*minimal bactericidal concentration*), i.e. minimal, bactericidal concentration levels. The analysis of changes in the profile of total proteins of micro-organisms was performed using a single-direction electrophoresis method under denaturing conditions (known as SDS-PAGE method, i.e. sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis).

Based on the experiments accomplished it was found that neither the limited availability of nutrients in the culture medium nor the time of incubation had any impact on the increase in the resistance of micro-organisms treated by the three selected disinfectants. The quaternary ammonium salts proved to have the most effective bactericidal activity against *Enterococcus faecalis*, whereas in the case of *Proteus vulgaris* and *Pseudomonas aeruginosa* cells - the formaldehyde agent. It was also found that the incubation of *Pseudomonas aeruginosa* cells grown in a medium with a limited availability of nutrients induced changes in the profile of general proteins of this micro-organism.

Key words: starvation stress, resistance, MIC, MBC ☒

IWONA NAMYSŁAW, EWA CZARNIECKA-SKUBINA, INGRID WACHOWICZ

OCENA PRAWIDŁOWOŚCI PRZYGOTOWANIA POTRAW Z WARZYW I ZIEMNIAKÓW W WARUNKACH DOMOWYCH

Streszczenie

Celem badań było określenie sposobu przygotowania potraw z warzyw i ziemniaków w warunkach domowych oraz ocena jego prawidłowości w odniesieniu do zasad obowiązujących w technologii gastronomicznej. Badania przeprowadzono metodą wywiadu bezpośredniego wśród 500 dorosłych osób z województwa mazowieckiego. Kwestionariusz ankiety zawierał pytania dotyczące przygotowania dań z warzyw: rodzaju surowców, półproduktów oraz gotowych dań wykorzystywanych do przygotowania posiłków, sposobu i warunków prowadzenia obróbki wstępnej oraz cieplnej, a także przechowywania potraw.

Badania wykazały, że do przygotowania posiłków z warzyw w domu respondenci zazwyczaj wykorzystują surowce świeże, rzadziej poddane przemysłowej obróbce wstępnej, a sporadycznie różnorodne przetwory z warzyw. Warzywa w postaci gotowych dań są najczęściej kupowane przez badanych jako sałatki i surówki. Około 80 % osób przygotowuje surówki i sałatki również samodzielnie w domu. Z dań warzywnych respondenci samodzielnie przygotowują także bigos, gołąbki oraz zapiekanki i placki ziemniaczane.

Tylko 31,4 % respondentów prawidłowo przeprowadza proces obróbki wstępnej warzyw i ziemniaków. Niewielka grupa respondentów stosuje metody obróbki cieplnej ziemniaków sprzyjające zachowaniu ich wartości odżywczej, takie jak: gotowanie w kuchence mikrofalowej, szybkowarze czy w garnku na parze. Najpopularniejszą metodą obróbki cieplnej warzyw zielonych jest ich gotowanie w wodzie lub na parze. Popularny w polskiej diecie barszcz czerwony 35 % respondentów przyrządza wykorzystując gotowy produkt z opakowania kartonowego bądź z koncentratu. Wśród respondentów przygotowujących samodzielnie tę potrawę w domu, zaledwie 10,2 % stosuje poprawną technologię. Powyżej 60 % respondentów przechowuje gotowe posiłki z warzyw prawidłowo w lodówce.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że posiłki z warzyw, pod względem technologicznym nie zawsze są przygotowywane prawidłowo. Nieprawidłowości dotyczą postępowania z surowcem zarówno podczas obróbki wstępnej, jak i cieplnej. Wykazano, że większość respondentów prawidłowo przechowuje gotowe posiłki.

Słowa kluczowe: warzywa, ziemniaki, przygotowanie kulinarne, jakość

Wprowadzenie

Na jakość sensoryczną i zdrowotną, w tym bezpieczeństwo przygotowywanych potraw, wpływa zachowanie właściwych parametrów procesu oraz odpowiednie postępowanie technologiczne, a także przestrzeganie zasad higieny na wszystkich etapach przygotowania posiłków – począwszy od przechowywania surowców i półproduktów, poprzez obróbkę wstępną, cieplną, na przechowywaniu gotowych posiłków kończąc. Nieprawidłowości w tym zakresie prowadzą do uzyskania wyrobów o niewłaściwej, zazwyczaj niskiej jakości lub nawet niebezpiecznych z punktu widzenia zdrowia konsumenta. Wyniki wielu badań [10, 15, 19] wskazują, że ponad 50 % zatruc pokarmowych spowodowanych jest nieprawidłowym przygotowaniem żywności w warunkach domowych, w tym nieprawidłowo prowadzoną obróbką cieplną, niską jakością stosowanych surowców, a także brakiem zachowania zasad higieny w trakcie przygotowania posiłków.

Jakość warzyw determinują: wartość odżywcza, jakość sensoryczna oraz bezpieczeństwo zdrowotne. Na podstawie wielu badań [2, 3, 4, 6] wiadomo jest, że sposób gotowania warzyw i ziemniaków powinien uwzględniać wartość odżywczą i poziom zanieczyszczeń chemicznych – azotany(III) i (V), kadm, ołów – w surowcu. Warzywa stanowią grupę produktów żywnościowych dostarczających wielu składników odżywczych, zarówno niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania naszego organizmu, jak też niepożądanych ze względów zdrowotnych. Według wyżej wymienionych autorów warzywa o niskim stopniu zanieczyszczenia należy gotować w małej ilości wody, co pozwala lepiej zachować wartość odżywczą. Z kolei warzywa, takie jak np. korzeniowe (marchew, buraki), mające tendencję do kumulacji chemicznych zanieczyszczeń, lepiej gotować w dużej ilości wody, przy wydłużonym czasie trwania procesu, co pozwala na lepsze usunięcie tych zanieczyszczeń.

Istotne jest upowszechnianie wśród konsumentów wiedzy na temat prawidłowego postępowania w procesie kulinarnym. Wielu autorów [9, 13, 14, 17] wskazuje na konieczność edukacji konsumentów w zakresie prawidłowego prowadzenia procesu technologicznego w celu zapewnienia właściwej jakości potraw, a szczególnie bezpieczeństwa mikrobiologicznego.

Celem badań było określenie sposobu przygotowania potraw z warzyw i ziemniaków w warunkach domowych oraz ocena jego prawidłowości w odniesieniu do zasad obowiązujących w technologii gastronomicznej. Należy podkreślić, że w Polsce problematyka ta jest wyjątkowo istotna, gdyż przygotowywanie posiłków w domu jest powszechne. Ponadto poniższe badania dotyczą warzyw i ziemniaków, czyli grupy potraw przygotowywanych i spożywanych z dużą częstotliwością tj. codziennie lub kilka razy w tygodniu, a więc mających istotne znaczenie żywieniowe i zdrowotne. Ważne jest zatem, aby potrawy były przygotowywane prawidłowo, zgodnie ze znany-

mi w tym zakresie zaleceniami. Celowe było więc podjęcie tego rodzaju badań, zwłaszcza, że na ten temat jest stosunkowo niewiele opublikowanych informacji.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono metodą wywiadu bezpośredniego wśród 500 dorosłych osób z województwa mazowieckiego, które wyraziły zgodę na wypełnienie kwestionariusza ankiety złożonego z dwóch części. Pierwsza część zawierała pytania (9), które dotyczyły rodzaju wykorzystywanych surowców, półproduktów oraz wyrobów gotowych z warzyw i ziemniaków do przygotowywania posiłków w warunkach domowych, sposobu przeprowadzania obróbki wstępnej i cieplnej warzyw oraz ziemniaków, jak również sposobu przechowywania przygotowanych potraw z warzyw i ziemniaków. Pytania w ankiecie miały charakter zamknięty. Druga część kwestionariusza ankiety dotyczyła charakterystyki respondentów: płci, wieku, wykształcenia, zatrudnienia, liczby osób w gospodarstwie domowym, wysokości dochodu. Charakterystykę respondentów przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Charakterystyka badanej grupy respondentów.
Characterization fo the group of respondents.

Cechy populacji Population features	Grupa Group	Respondenci / Respondents	
		Liczba Number [n]	[%]
Ogółem / Total		500	100
Płeć Gender	kobiety / women	357	71,4
	mężczyźni / men	134	26,8
	brak odpowiedzi / no answer	9	1,8
Wiek Age	poniżej 25 lat / under 25 years	108	21,6
	25 – 40 lat / 25-40 years	174	34,8
	41 – 60 lat / 41 – 60 years	175	35,0
	powyżej 60 lat / over 60 years	34	6,8
	brak odpowiedzi / no answer	9	1,8
Wykształcenie Education	podstawowe / elementary school	11	2,2
	zawodowe / vocational school	57	11,4
	średnie / secondary school	190	38,0
	niepełne wyższe, wyższe / incomplete higher or complete higher	231	46,2
	brak odpowiedzi / no answer	11	2,2

c.d. tab. 1

Zatrudnienie Employment with as	praca w sektorze państwowym /public sector	132	26,4
	praca w sektorze prywatnym / private sector	241	48,2
	wolny zawód / freelance	22	4,4
	rolnik / farmer	5	1,0
	bezrobotny / unemployed	5	1,0
	student / student	40	8,0
	emeryt/rencista / pensioner	42	8,4
	brak odpowiedzi / no answer	13	2,6
Liczba osób w gospodarstwie domowym Number of people in household	1	58	11,6
	2	112	22,4
	3	123	24,6
	4	149	29,8
	5	32	6,4
	6	8	1,6
	8	1	0,2
brak odpowiedzi / no answer	17	3,4	
Dochód/osobę Income per person	do 500 zł / to 500 PLN	26	5,2
	501 – 1000 zł / 501 – 1000 PLN	125	25,0
	1001 – 1500 zł / 1001 – 1500 PLN	92	18,4
	1501 – 2000 zł / 1501 – 2000 PLN	137	27,4
	powyżej 2001 zł / over 2001 PLN	99	19,8
	brak odpowiedzi / no answer	21	4,2

Okolo 70 % respondentów stanowiły osoby między 25. a 60. rokiem życia. Przeważającą grupę badanych stanowiły kobiety (71,4 %), osoby o wykształceniu średnim (38 %) lub wyższym (46,2 %), zatrudnione w sektorze prywatnym (48,2 %) lub państwowym (26,4 %), prowadzące gospodarstwa domowe o liczbie do 4 osób i mające zróżnicowane dochody netto na 1 osobę (tab. 1).

Analizę statystyczną uzyskanych wyników wykonano z wykorzystaniem pakietu statystycznego „Statistica” PL dla Windows v.5.5. Analizowano wpływ cech badanej populacji (płeć, wiek, wykształcenie, zatrudnienie, dochód) na wykorzystanie różnych form warzyw i ziemniaków oraz właściwe postępowanie kulinarne z tymi surowcami w warunkach domowych. Zastosowano test χ^2 z poprawką Yatesa. Występowanie statystycznie istotnych różnic badano przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wśród badanych respondentów 97,5 % osób samodzielnie przygotowuje posiłki w domu, natomiast 2,5 % korzysta z posiłków poza domem bądź nie przygotowuje ich samodzielnie.

Wykorzystanie surowców, półproduktów i wyrobów gotowych z warzyw i ziemniaków

Do przygotowania posiłków z warzyw i ziemniaków w domu respondenci zazwyczaj wykorzystują surowce świeże, rzadziej poddane przemysłowej obróbce wstępnej, a sporadycznie różnorodne przetwory z warzyw i ziemniaków (tab. 2). Około 84 % respondentów świeże warzywa i ziemniaki wykorzystuje do przygotowania dań dość często tj. codziennie bądź kilka razy w tygodniu. Rzadziej tj. raz bądź kilka razy w tygodniu respondenci stosują warzywa poddane przemysłowej obróbce wstępnej. Mrożone przetwory z warzyw i ziemniaków takie jak: warzywa, mieszanki warzyw na zupę, warzywa na patelnię czy frytki są stosowane przez respondentów kilka razy w miesiącu lub sporadycznie (tab. 2). Statystycznie istotnie częściej wymienione wyżej surowce wykorzystują mężczyźni, osoby z wyższym wykształceniem, a także osoby o dochodach powyżej 1000 zł netto.

Koncentrat pomidorowy jest dość popularny do przygotowania dań wśród respondentów, a zwłaszcza mężczyzn i osób poniżej 25. roku życia, wykorzystuje go 40 % badanych osób kilka razy w tygodniu. Suszone warzywa, w tym także suszone nasiona roślin strączkowych, są mniej popularne wśród respondentów, około 44 - 55 % osób stosuje je sporadycznie (tab. 2). Wykazano, że nasiona roślin strączkowych istotnie częściej wykorzystują do przygotowania potraw osoby do 40. roku życia, co prawdopodobnie spowodowane jest właściwościami wzdymającymi strączkowych.

Warzywa w postaci gotowych dań są najczęściej kupowane przez badanych jako sałatki i surówki. Codziennie bądź kilka razy w tygodniu kupuje je około 40 % badanych. Są to zwykle osoby poniżej 25. roku życia, o średnim lub wyższym wykształceniu. Ponad 80 % osób przygotowuje surówki i sałatki również samodzielnie w domu, przy czym sałatki istotnie częściej przygotowują kobiety.

Zapytano respondentów jakie inne dania z warzyw i ziemniaków przygotowują samodzielnie w domu. Respondenci najczęściej wskazywali: bigos (69,4 %) i gołąbki (59,8 %), a wśród dań przygotowywanych ze świeżych ziemniaków: zapiekanki z ziemniaków (42 %) i placki ziemniaczane (82,2 %). Placki ziemniaczane nieliczni respondenci przygotowują również z koncentratu (3,4 %) bądź kupują mrożone placki (3,4 %), a tylko 3,8 % badanych kupuje gotowe wyroby, przeznaczone jedynie do podgrzania. Należy podkreślić, że większość tych dań statystycznie istotnie częściej przygotowują w warunkach domowych kobiety i osoby w wieku pomiędzy 41. a 60. rokiem życia.

Tabela 2

Surowce, półprodukty i wyroby gotowe z warzyw i ziemniaków stosowane do przygotowania dań w warunkach domowych.

Raw products, semi-finished products and ready-to-cook products of vegetables and potatoes used to prepare dishes under the dome conditions.

Rodzaj Kind	Częstotliwość stosowania [% odpowiedzi] Frequency of use [% of answers]							Brak odpowiedzi No answer
	codziennie every day	kilka razy w tyg. a few times a week	raz w tyg. once a week	kilka razy w miesiącu a few times a month	raz w miesiącu once a month	sporadycznie sporadically	w ogóle nie never at all	
Warzywa świeże i ziemniaki Fresh vegetables and potatoes	38,8	44,8	6,2	4,0	1,0	0,2	3,8	1,2
Warzywa świeże, obrane, rozdrobnione Fresh, peeled and ground down vegeta- bles	12,4	34,4	10,6	9,2	2,0	8,8	21,4	
Mrożonki warzywne Frozen vegetables	0,2	14,8	15,8	28,4	6,6	20,8	12,2	
Mrożone mieszanki warzyw na zupę Frozen mixed vegetables for soup	1,2	8,8	10,2	20,4	7,8	29,2	21,2	
Warzywa na patelnię Vegetables for frying on pan	1,2	6,4	10,4	16,8	12,4	32,0	19,6	
Mrożone frytki Frozen French fries	0,2	2,8	5,4	11,4	5,8	49,2	24,0	
Koncentrat pomidorowy Tomato concentrate	0,6	12,8	15,0	40,2	9,2	15,2	5,8	
Suszone warzywa Dried vegetables	0	1,8	26,0	17,2	8,8	55,0	13,4	
Suszone warzywa strączkowe Dried leguminous vegetables	0	1,6	46,0	21,0	12,2	43,6	15,8	
Sałatki/ Salads	10,6	27,8	9,6	15,2	4,6	12,2	18,8	
Surówki/ Crudités	18,0	32,0	9,2	12,8	2,0	10,0	14,8	

Obróbka wstępna warzyw i ziemniaków

Nie stwierdzono istotnego statystycznie wpływu poziomu wykształcenia badanych na prawidłowość postępowania podczas obróbki wstępnej z warzywami i ziemniakami. Zaobserwowano natomiast, że postępowanie to uzależnione jest od płci i wieku respondentów.

Tylko 31,4 % badanych prawidłowo przeprowadza proces obróbki wstępnej warzyw i ziemniaków, tj. myje surowiec przed i po obróbce. Znaczny procent (44,4 %) badanych, w tym istotnie częściej osoby powyżej 41. roku życia przystępuje do obierania warzyw i ziemniaków bez ich wstępnego umycia. Jest to przyczyną przenoszenia zanieczyszczeń z powierzchni do wewnątrz surowca.

Li-Cohen i Bruhn [3] w badaniach nad sposobem postępowania amerykańskich konsumentów ze świeżymi produktami na etapie zakupu, transportu, przechowywania i przetwarzania, przeprowadzonych wśród 2000 osób, stwierdzili, że 80 % respondentów myje warzywa i owoce przed ich dalszą obróbką bądź spożyciem. Jak wynika z przeprowadzonych badań, polski konsument wymaga w tym zakresie edukacji.

W technologii gastronomicznej wykorzystuje się również krótkie moczenie po obróbce wstępnej, w celu zapobiegania enzymatycznemu ciemnieniu warzyw i ziemniaków, które polega na utlenianiu związków fenolowych (głównie tyrozyny) pod wpływem działania enzymu z grupy fenolaz (oksydazy-o-difenolowej) do chinonów, kondensujących następnie do ciemno zabarwionych barwników - melanin. Ciemnieniu warzyw można zapobiec poprzez odcięcie dostępu tlenu, przez zalanie wodą lub roztworem z dodatkiem 2 % soli [20]. Umieszczenie surowca w wodzie z solą pozwala obniżyć aktywność enzymów odpowiedzialnych za reakcje brązowienia, a także ograniczyć dostęp tlenu.

Około 16 % badanych osób, po procesie obróbki wstępnej pozostawia surowiec zalany wodą na krótki okres. Są to istotnie częściej osoby w wieku poniżej 25 lat. Niestety 9,4 % respondentów, w tym statystycznie istotnie częściej mężczyźni, wskazuje, że pozostawia warzywa i ziemniaki po obróbce wstępnej zalane zimną wodą na godzinę albo dłużej. Należy tego unikać, gdyż może to być przyczyną wypłukiwania cennych składników odżywczych do wody, jak również substancji smakowo-zapachowych [3].

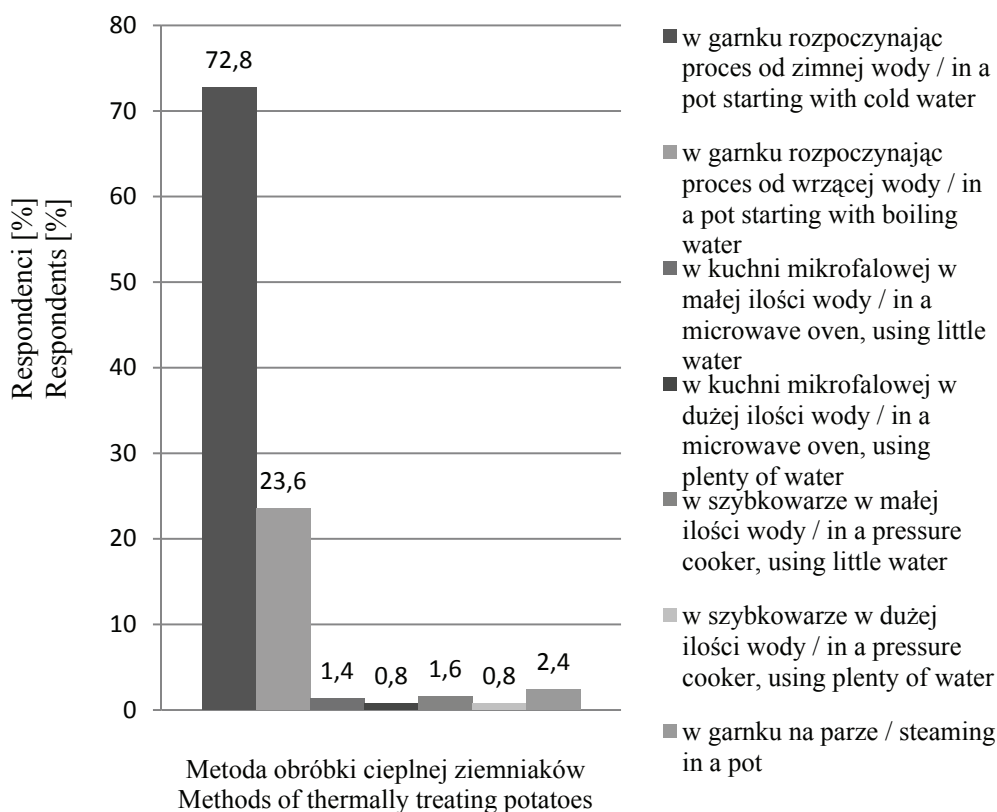
Warzywa poddane obróbce wstępnej są też wyjątkowo narażone na zakażenie wtórne drobnoustrojami, ponieważ nie są poddawane działaniu wysokiej temperatury czy innych czynników hamujących ich rozwój. Podczas obierania i rozdrabniania ogólna liczba drobnoustrojów może zwiększyć się kilkadziesiąt razy, ze względu na dobre warunki do ich wzrostu tj.: pH środowiska 5,8 – 6,0; znaczne zwiększenie zniszczonej tkanki i odsłoniętą powierzchnię surowca [1].

Podsumowując, proces obróbki wstępnej warzyw i ziemniaków jest poprawnie wykonywany przez około 45 % badanych respondentów.

Obróbka cieplna ziemniaków i warzyw

Ziemniaki

Wykazano, że w przypadku obróbki cieplnej ziemniaków aż 72,8 % osób, bez względu na płeć, wiek czy wykształcenie (rys. 1) rozpoczyna proces gotowania od zimnej wody, podczas gdy prawidłowo powinno się zaczynać od wody wrzącej, z uwagi na ograniczenie strat składników odżywczych [11]. Ziemniaki gotuje przy rozpoczęciu procesu od wrzącej wody jedynie 23,6 % badanych respondentów, istotnie częściej takie postępowanie technologiczne stosują kobiety.



Rys.1. Sposoby obróbki cieplnej ziemniaków stosowane przez respondentów (n = 500).

Fig. 1. Methods of thermally treating potatoes as used by the respondents (n = 500).

Należy tu podkreślić niekorzystne oddziaływanie tradycyjnej metody gotowania w garnku w wodzie, z rozpoczęciem procesu od zimnej wody. Jak podają niektórzy autorzy [4], stosując tę metodę uzyskuje się największe straty witaminy C (41 %

w ziemniakach i 39 % w brukselce), z uwagi na stworzenie optymalnych warunków działania enzymu – askorbinazy, odpowiedzialnej za rozkład tej witaminy, której optimum aktywności przypada na temp. 40 – 70 °C.

Pozostawienie ziemniaków po obraniu w wodzie na dłuższy czas i dodatkowo gotowanie ich w wodzie, rozpoczynając proces od zimnej wody, może przyczynić się więc do znacznych strat składników odżywczych. Kunachowicz i Nadolna [12] podają, że podczas moczenia obranych ziemniaków straty witaminy C wynoszą około 10 %. Proces moczenia warzyw może mieć także pozytywne skutki. Według Wachowicz i Czarnieckiej-Skubiny [18], moczenie marchwi przez 2 h sprzyja wyplukiwaniu zanieczyszczeń chemicznych: do 24 % azotanów(V), do 37 % azotanów(III), do 12 % kadmu i 16 % ołowiu. Jednak przekroczenie tego czasu moczenia powodowało znaczne obniżenie jakości sensorycznej.

Niewielka grupa respondentów (niezależnie od płci, wieku czy wykształcenia) stosuje metody obróbki cieplnej ziemniaków sprzyjające zachowaniu ich wartości odżywczej, takie jak: gotowanie w kuchence mikrofalowej (około 2,2 % badanych), szybkowarze (2,4 %) czy w garnku na parze (2,4 %) (rys. 1). Jak podają Czarniecka-Skubina i Gołaszewska [4], gotowanie w kuchni mikrofalowej jest jednym ze sposobów na zachowanie wysokiej wartości odżywczej gotowanych warzyw i ziemniaków. Wynika to z faktu, że temperatura wzrasta szybko, powodując inaktywację enzymów odpowiedzialnych za straty witamin. Ponadto zostaje znacznie skrócony czas procesu w stosunku do tradycyjnej metody gotowania w wodzie, co także wpływa ochronnie na witaminy i składniki mineralne. Nie występuje też wtedy intensywne wrzenie roztworu i nie powoduje ono rozrywania tkanek i komórek, a przez to zmniejsza także wyplukiwanie witamin i składników mineralnych do roztworu wodnego. Stosując tę metodę można ograniczyć straty witamin nawet dwukrotnie.

Podsumowując, proces obróbki cieplnej ziemniaków, tak powszechnie stosowanych w Polsce jako dodatek skrobiowy do drugiego dania czy jako samodzielna potrawa, jest przeprowadzany przez większość respondentów w sposób nieprawidłowy tj. przy rozpoczęciu procesu gotowania od zalania ich zimną wodą, co powoduje duże straty witaminy C i składników mineralnych. Mimo, że spożycie ziemniaków w Polsce ma tendencję spadkową (z 223 kg w latach 60., do około 140 kg w latach 90. i 121 kg w 2007 r.), to ziemniaki wciąż odgrywają ważną rolę w pokryciu dziennego oraz rocznego zapotrzebowania na witaminę C i składniki mineralne, dlatego istotne jest zachowanie ich jak najwyższej wartości odżywczej.

Warzywa zielone

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że respondenci zwykle gotują warzywa zielone w garnku w wodzie (89,6 %), stosując różne ilości wody oraz przykrywanie bądź nie (rys. 2). Metody gotowania w szybkowarze, w kuchni mikrofalowej

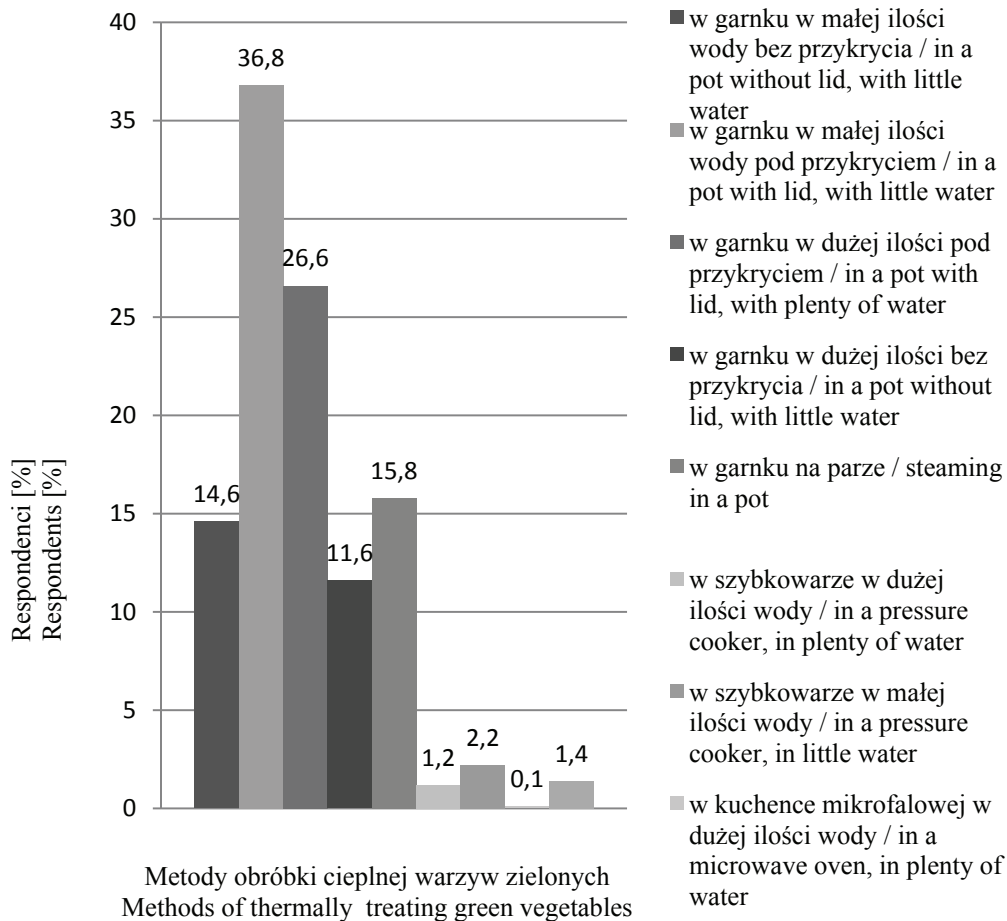
czy na parze, korzystne pod względem zachowania wartości odżywczej, ale niekorzystne z uwagi na barwę warzyw zielonych były stosowane przez nich rzadziej (odpowiednio 3,4; 1,5 i 15,8 % badanych) (rys. 2). Prawidłową metodę gotowania warzyw zielonych tj. w garnku w dużej ilości wody i bez przykrycia w początkowej fazie procesu stosowało jedynie 11,6 % respondentów. Nie stwierdzono istotnego wpływu płci, wieku czy wykształcenia badanych na sposób postępowania z warzywami zielonymi w czasie obróbki cieplnej.

Należy podkreślić, że podczas gotowania warzyw zielonych istotne jest zarówno zachowanie wysokiej wartości odżywczej, jak również atrakcyjności sensorycznej, a zwłaszcza odpowiedniej barwy.

W przypadku warzyw zielonych barwa najlepiej zostaje zachowana przy prowadzeniu procesu gotowania od zimnej wody. Występujący w zielonych warzywach enzym chlorofilaza może działać dłużej w niższej temperaturze, zmieniając chlorofil w chlorofilinę, o intensywnej zielonej barwie [7]. Według badań Szydłowskiej i Czarnieckiej-Skubiny [16] w brokułach gotowanych od wrzącej wody zmiany barwy są większe niż wówczas, gdy gotowano je rozpoczynając proces od zimnej wody. Największe zmiany barwy występują podczas gotowania na parze i w piecu konwekcyjno-parowym, z uwagi na wydłużenie czasu prowadzenia procesu. Zachowaniu zielonej barwy warzyw podczas gotowania w wodzie sprzyja w tym przypadku również ułatwione wylugowanie i rozcieńczenie kwasów organicznych zawartych w tkankach, które mogą powodować powstanie, pod wpływem ciepła, oliwkowozielonej barwy (wynik przekształcenia się zielonego chlorofilu w oliwkowozieloną feofitynę). Brak przykrycia w początkowej fazie obróbki cieplnej również ułatwia odparowanie lotnych kwasów organicznych.

Jak wskazują Czarniecka-Skubina i wsp. [2], gotowanie na parze i w kuchni mikrofalowej warzyw zielonych (brukselki) powoduje ograniczenie strat witaminy C od 14 do 26 %, jednak uzyskuje się produkt o niższej jakości sensorycznej z uwagi na barwę. Według Czarnieckiej-Skubiny [5] gotowanie brukselki w garnku, rozpoczynając proces od zimnej wody, pozwala uzyskać produkt oceniany znacznie wyżej pod tym względem, co w konsekwencji ma wpływ na lepsze postrzeganie jakości sensorycznej tak przygotowywanej brukselki niż gdy proces prowadzono od wody wrzącej lub gdy gotowano w małej ilości wody w szybkowarze, w garnku akutermicznym czy w kuchence mikrofalowej.

Tak więc jedynie około 10 % respondentów w prawidłowy sposób przygotowuje warzywa zielone w warunkach domowych, tak by uzyskać zarówno dobrą jakość sensoryczną, jak i wartość odżywczą. Większość badanych poprawnie gotuje te warzywa, stosując proces gotowania w wodzie.



Rys. 2. Sposoby obróbki cieplnej warzyw zielonych stosowane przez respondentów, (n = 500).

Fig. 2. Methods of thermally treating green vegetables as used by the respondents, (n = 500).

Buraki czerwone

W przypadku pytań dotyczących właściwego postępowania kulinarnego podczas gotowania buraków czerwonych nie stwierdzono wpływu płci, wieku czy wykształcenia respondentów na sposób ich przygotowania. Popularna w polskich gospodarstwach domowych potrawa - barszcz czerwony jest przyrządzana przez 35 % respondentów z koncentratu bądź wykorzystywany jest gotowy produkt w opakowaniu kartonowym. Wśród respondentów przygotowujących samodzielnie tę potrawę w domu ze świeżych buraków, zaledwie 10,2 % stosuje prawidłową technologię, tj. gotowanie buraków w całości w skórce, a po obraniu, rozdrobnieniu, zalaniu wodą i zakwaszeniu wywaru, krótkie podgrzewanie. Ponad połowa badanych (54,8 %) przygotowuje barszcz czer-

wony gotując rozdrobnione po obraniu: w plastry (30,4 %), kostkę (7,8 %) bądź starte na tarce (16,6 %), buraki w zakwaszonej wodzie. Powoduje to znaczne wylugowanie i rozkład barwników oraz ma istotny wpływ na jakość uzyskanego wywaru. Barwa jest bowiem istotnym czynnikiem determinującym jakość barszczu czerwonego.

Prowadząc badania dotyczące procesu kulinarnego buraków stwierdzono [6, 18], że najlepszą jakość sensoryczną (w tym wysokie noty barwy) uzyskuje się, gotując buraki w całości ze skórką, rozpoczynając proces od zimnej lub wrzącej wody. Niższą jakość sensoryczną uzyskują gotowane, obrane i rozdrobnione w plastry lub kostkę buraki, a znaczne obniżenie jakości obserwowano podczas gotowania startych buraków, w których większość barwników ulega rozkładowi. W celu uzyskania właściwej barwy buraków przeznaczonych na jarzynę Czarniecka-Skubina i wsp. [6] zalecają stosowanie gotowania w małej ilości wody (w szybkowarze na parze, w garnku akumulatornym, w kuchence mikrofalowej).

Mimo, że barszcz czerwony jest zupą popularną w Polsce, niewielu respondentów potrafi ją przygotować w sposób poprawny technologicznie. Prawdopodobnie też z tych przyczyn, ale także i z wygody, często wykorzystują gotowy produkt.

Przechowywanie posiłków z warzyw i ziemniaków

Ponad 60 % badanych respondentów przechowuje gotowe posiłki z warzyw w lodówce. Nieliczni zamrażają je. Nieprawidłowo, w temperaturze pokojowej, przechowują gotowe posiłki z warzyw nieliczne osoby. Wiele osób w ogóle nie przechowuje dań z warzyw i ziemniaków. Respondenci unikali odpowiedzi na pytanie, jak długo przechowują gotowe posiłki. Na to pytanie odpowiedziały nieliczne osoby (tab. 3).

Jak wskazują Szydłowska i Czarniecka-Skubina [16], temperatura i czas gotowania oraz sposób przechowywania po obróbce cieplnej są czynnikami determinującymi jakość sensoryczną uzyskanej potrawy. Uwzględniając aspekty higieniczne potrawy, zaleca się jej schłodzenie i przechowywanie w warunkach chłodniczych, bądź przechowywanie potraw gorących w temp. minimum 63 °C, ponieważ takie warunki będą ograniczać rozwój mikroflory bakteryjnej. Czas przechowywania w wysokiej temperaturze nie powinien jednak przekraczać 2 h z uwagi na znaczne obniżenie jakości sensorycznej [8, 16]. Potrawy i półprodukty poddane obróbce cieplnej należy przechowywać nie dłużej niż 72 h, zaś w przypadku potraw niepoddanych obróbce cieplnej - nie dłużej niż 48 h [8].

Tabela 3

Przechowywanie posiłków po przygotowaniu przez respondentów (n=500).
Storing dishes upon their preparation by the respondents (n=500).

Potrawa Dish	Respondenci [%] Respondents [%]				
	Sposób przechowywania dań / Methods of storing meals				
	Zamrażanie Freezing	Chłodzenie Chilling	Przechowywanie w szafce Storing in a cupboard	Przechowywanie w naczyniu na kuchence Storing in a pot on the cooker	Nie przechowują The respondents do not store dishes
Gotowane ziemniaki Cooked potatoes	0,8	58,4	2,8	3,0	35,0
Gotowane warzywa Cooked vegetables	2,4	68,2	0,4	3,2	25,8
Zupy warzywne Vegetable soups	1,8	84,2	0,2	1,4	12,4
Surówki / Crudités	0,4	78,2	0,8	0,8	19,8
Salatki / Salads	0,6	82,0	0,4	0,4	16,6

Wnioski

1. Ponad 80 % badanych, codziennie bądź kilka razy w tygodniu, wykorzystywało świeże warzywa i ziemniaki do przygotowania dań w domu. Przetwory z warzyw i ziemniaków były stosowane do przygotowania posiłków rzadko. Natomiast warzywa w postaci dań gotowych zwykle kupowano jako sałatki i surówki.
2. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że posiłki z warzyw, z technologicznego punktu widzenia, nie zawsze są prawidłowo przygotowywane w warunkach domowych. Nieprawidłowości dotyczą postępowania z surowcem zarówno podczas obróbki wstępnej, jak i obróbki cieplnej. Wykazano natomiast, że większość respondentów prawidłowo przechowuje gotowe posiłki w warunkach chłodniczych.
3. Ponad 40 % badanych przystępowało do procesu obróbki wstępnej bez mycia surowca, zanieczyszczając go w ten sposób. Około 10 % respondentów deklarowało, że po obraniu zostawia warzywa lub ziemniaki zalane zimną wodą nawet do kilku godzin w temperaturze pokojowej, co może być powodem wypłukiwania składni-

- ków odżywczych, substancji smakowo-zapachowych, ale również sprzyjać rozwojowi drobnoustrojów.
4. Konsumenci przygotowujący dania z warzyw i ziemniaków w warunkach domowych nie potrafili dobrać właściwej obróbki cieplnej surowca. Ponad 70 % badanych rozpoczynało proces gotowania ziemniaków nieprawidłowo od zimnej wody, powodując tym znaczne straty składników odżywczych. Niewielu z badanych stosowało metody gotowania sprzyjające zachowaniu wysokiej wartości odżywczej, takie jak: gotowanie w kuchence mikrofalowej, szybkowarze czy w garnku na parze. Prawidłową technologię przygotowania ziemniaków stosowało około 20 %, a warzyw zielonych i buraków około 10 % badanych.
 5. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na konieczność edukacji polskich konsumentów w zakresie prawidłowego prowadzenia procesu technologicznego w celu zapewnienia właściwej jakości potraw, w tym bezpieczeństwa mikrobiologicznego.

Praca była prezentowana podczas XIII Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.

Literatura

- [1] Ahvenainen R.: New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends Food Sci. Technol.*, 1996, **2** (7), 179 – 187.
- [2] Czarniecka-Skubina E., Kowalska K., Zalewski S.: Effect of cooking methods on vitamin C, nitrates and nitrites contents and sensory quality in Brussels sprouts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1993, **2/43**, 4, 85 – 92.
- [3] Czarniecka-Skubina E., Wachowicz I., Zalewski S.: Effect of storage and culinary process parameters on sensory quality, carotenoid content as well as nitrate and nitrite contamination level in boiled carrot. *Hyg. Nutr. Foodservice Catering*, 1996, **1**, 191 - 202.
- [4] Czarniecka-Skubina E., Gołaszewska B.: Wpływ procesu kulinarnego na jakość wybranych warzyw. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **2** (27), 103 - 116.
- [5] Czarniecka-Skubina E.: Effect of the material form, storage and cooking methods on the quality of Brussels sprouts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **11/52**, 3, 75 - 82.
- [6] Czarniecka-Skubina E., Gołaszewska B., Wachowicz I.: Effect of culinary process on beet roots quality. *EJPAU, series Food Sci. Technol.*, 2003, **6**, 1.
- [7] Czarniecka-Skubina E., Sałek M.: Zmiany barwy produktów żywnościowych podczas przygotowania potraw. W: *Podstawy technologii gastronomicznej*, Zalewski S. (red.), WNT, Warszawa 2003, s. 96 – 113.
- [8] Czarniecka-Skubina E., Grzebińska W.: Warunki techniczno-higieniczne produkcji żywności ze szczególnym uwzględnieniem potraw. W: *Higiena produkcji żywności*, Kołozyn-Krajewska D. (red.), Wyd. SGGW, Wyd. III., Warszawa 2007.
- [9] Finch C., Daniel E.: Food safety knowledge and behavior of emergency food relief organization workers: effects of food safety training intervention. *J. Env. Health*, 2005, **67** (9), 30 – 34.

- [10] Klontz K.C., Timbo B., Fein S., Levy A.: Prevalence of selected food consumption and preparation behaviours in the United States. *J. Food Protect.*, 1995, **58**, 1405 – 1411.
- [11] Kożuchowska B.: Cenne bulwy. *Przegl. Gastron.*, 2000, **9**, 18 – 19.
- [12] Kunachowicz H., Nadolna I.: Współczesne poglądy na zagadnienie wpływu procesów przetwarzania żywności na zachowanie witamin ze szczególnym uwzględnieniem procesów kulinarnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004, **37**, 2, 105 – 111.
- [13] Li-Cohen A.E., Bruhn C.M.: Safety of consumer handling of fresh produce from the time of purchase to the plate: A comprehensive consumer survey. *J. Food Protect.*, 2002, **65**, 1287 - 1296.
- [14] Medeiros L.C., Kendall P., Hillers V., Chen G., DiMascola S.: Identification and classification of consumer food-handling behaviors for food safety education. *J. Amer. Diet. Assoc.*, 2001, **101**, 11, 1326 – 1339.
- [15] Redmon E.C., Griffith C.J.: Consumer food handling in the home: a review of food safety studies. *J. Food Protect.*, 2002, **66** (1), 130 - 161.
- [16] Szydłowska A., Czarniecka-Skubina E.: Wpływ sposobu gotowania i przechowywania po ugotowaniu na temperaturę, wydajność i jakość sensoryczną brokułów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1** (46), 117 – 132.
- [17] Unusan N.: Consumer food safety knowledge and practices in the home in Turkey. *Food Control*, 2007, **18**, 45 – 51.
- [18] Wachowicz I., Czarniecka-Skubina E.: Wpływ procesu kulinarnego na wybrane mierniki jakości marchwi i buraków. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3** (40) Supl., 204-218.
- [19] Williamson D.M., Gravani R.B., Lawless H.T.: Correlating food safety knowledge with home food-preparation practices. *Food Technol.*, 1992, **46**, 94 – 100.
- [20] Zalewski S. (red.): *Podstawy technologii gastronomicznej*. WNT, Warszawa 2003.

ASSESSING THE CORRECTNESS OF PREPARING DISHES OF VEGETABLES AND POTATOES AT HOME

S u m m a r y

The objective of the research was to identify a method of preparing vegetables and potatoes under the home conditions and to assess its correctness with reference to the rules in force in the catering technology. The research was performed by conducting direct survey among 500 adult persons from the Province of Mazowsze in Poland. The survey form included questions dealing with the preparation of vegetable dishes; the questions referred to the following: kind of raw products and of half-finished products, ready-to-cook dishes used in preparing meals, method and conditions of conducting pre-treatment and thermal treatment of ingredients, and storage of dishes.

The research proved that the respondents usually used raw products to prepare dishes at home, and, only seldom, they thermally treated them; as to various canned vegetables and/or vegetable preserves, the respondents used them sporadically. The respondents usually purchase ready-to-cook vegetable products in the form of salads and crudités. About 80 % of respondents also prepare salads and crudités at home at their own. Furthermore, the respondents prepare at home and on their own such meals as: bigos (stewed dish made of sauerkraut and/or fresh cabbage, meat, and mushrooms), gołąbki (stuffed cabbage), potato and/or vegetable gratins, and potato pancakes.

Only 31.4 % of the respondents correctly perform the process of preliminary treating of vegetables and potatoes. Just a small group of respondents applies thermal methods to prepare potatoes allowing for retaining their nutritional values, such as: cooking in microwave oven and/or in pressure cooker, or steam-

ing. The most commonly used method of thermal treatment of green vegetables is cooking them in water or steaming them. 35 % of the respondents prepare a borsch (beetroot soup), which is a popular meal in the Polish menu, using a ready-to-cook product contained in a cartoon, or a concentrate. Among the respondents who prepare this dish at their homes on their own only as few as 10.2 % use the correct technology. More than 60 % of the persons polled keep ready-to-eat vegetable dishes in the refrigerators.

Based on the research accomplished, it was concluded that the meals made of vegetables were not always correctly prepared at home. The incorrectness events found referred to how the respondents handled the raw products while pre-treating them and thermally treating them. It was proved that the majority of respondents properly kept the ready cooked meals.

Key words: vegetables, potatoes, culinary preparation, quality ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 30 listopada 2008 r.

Polskie akty prawne

1. Ustawa z dn. 2 kwietnia 2004 r. o systemie identyfikacji i rejestracji zwierząt (Dz. U. 2008 r. Nr 204, poz. 1281)

Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 2 kwietnia 2004 r. o systemie identyfikacji i rejestracji zwierząt.

Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 14 listopada 2008 r. zmieniająca rozporządzenie w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego (Dz.U. 2008 r. Nr 208, poz. 1313).

Wprowadzone zmiany dotyczą m.in. wymagań dla preparatów do początkowego żywienia niemowląt i preparatów do dalszego żywienia niemowląt.

Załącznik do rozporządzenia zawiera wymagania w zakresie najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości pestycydów w preparatach do początkowego żywienia niemowląt, preparatach do dalszego żywienia niemowląt, środkach spożywczych uzupełniających, obejmujących produkty zbożowe przetworzone i środki spożywcze inne niż produkty zbożowe przetworzone. ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR

WSPÓŁCZESNY LEKSYKON WIEDZY O ŻYWNOŚCI

Prezentujemy 33. część haseł *Współczesnego leksykonu wiedzy o żywności*. Druk leksykonu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 3 (28), 2001.

DEMOGRAFIZM / DERMOGRAPHISMS – tzw. pismo skórne występujące po potarciu skóry – białe pręgi z czerwoną obwódką (skurcz naczyń krwionośnych skóry) lub czerwone pręgi (rozszerzenie naczyń). Jest wyrazem nadmiernej reakcji układu nerwowo-naczyniowego

EKOGENETYKA / ECOGENETICS – dział genetyki badający genetyczne zróżnicowanie wrażliwości na czynniki środowiskowe: klimat, pożywienie, czynniki toksyczne, rakotwórcze, leki i inne

FARMAKOGENETYKA / PHARMACOGENETICS – dział nauki z pogranicza farmakologii i genetyki zajmujący się badaniem wpływu pojedynczych genów na reakcje organizmu na podanie określonych leków. Badania farmakogenetyczne mają istotne znaczenie dla prowadzenia prawidłowej i bezpiecznej farmakoterapii. W tych badaniach ocenia się: skuteczność, bezpieczeństwo leków (działania niepożądane), a także interakcje lekowe również ze składnikami żywności

GENY SPRZĘŻONE / CONJUGATE GENES – geny zlokalizowane w tym samym chromosomie i nie podlegające niezależnej segregacji zgodnie z I prawem Mendla

GENY KUMULATYWNE / CUMULATIVE GENES – (pligeny, geny polimeryczne, geny wielokrotne) – geny o niewielkich efektach indywidualnych kontro-


Prof. dr hab. H. Kostyra, dr A. Wociór, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Oddział Nauki o Żywności, 10-747 Olsztyn, ul. Tuwima 10, prof. dr hab. E. Kostyra, Wydział Nauk o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, 10-957 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 7

lujące wspólnie jakąś cechę ilościową. Efekty poszczególnych genów mogą się ze sobą sumować lub współdziałać

GENY PLEJOTROPOWE / PLEIOTROPIC GENES – geny warunkujące kilka pozornie niezwiązanych ze sobą cech. Plejotropia występuje wówczas, gdy pierwotny produkt danego genu bierze udział w różnych procesach zachodzących w poszczególnych tkankach organizmu albo jego działanie wywołuje wtórne zmiany w organizmie

GENY LETALNE / LETAL GENES – geny powodujące śmierć organizmu. Następuje ona wskutek zaburzeń rozwojowych zygoty lub osobnika przed osiągnięciem zdolności do rozrodu. Geny letalne są zazwyczaj genami recesywnymi, ponieważ dominacja nie może utrzymać się w środowisku (umierają wszystkie heterozygoty i homozygoty dominujące, więc cecha nie jest przekazywana dalej). Zazwyczaj pojawienie się genu letalnego w heterozygotie jest przyczyną skrócenia życia

GEN SUBLETALNY / SUBLETAL GENE – odmiana genu letalnego, który w układzie heterozygotycznym modyfikuje reprezentowaną cechę. Geny subletalne wywołują choroby dziedziczne np. anemię sierpowatą, fenyloketonurię (geny recesywne) lub chorobę Parkinsona. Obniżają żywotność, ale nie muszą prowadzić do śmierci jak geny letalne

PULSOKSYMETRIA / PULSOXYMETRIE – nieinwazyjna metoda przezskórnego oznaczania wysycenia krwi tlenem. Metoda polega na zasadzie spektrofotometrycznego pomiaru wysycenia (tak zwanej saturacji – SaO₂) tlenem hemoglobiny, gdyż hemoglobina utlenowana i odtlenowana wykazuje odmienne właściwości optyczne. Jednocześnie jest również rejestrowana częstotliwość pracy serca (puls) 

NOWE KSIĄŻKI

Food Safety Culture

[Kultura bezpieczeństwa żywności]

Yiannas F., Lake Buena Vista, FL, USA

Wydawnictwo: Springer, 2008, ISBN 9780387728667, stron 200, cena 54,95€

Zamówienia: www.springer.com

Obecnie, gdy konsumenci spożywają coraz więcej posiłków przygotowanych poza domem, a nadal identyfikuje się nowe zagrożenia ze strony żywności, świadomość bezpieczeństwa żywności stanowi ogromne wyzwanie dla wszystkich uczestników światowego rynku żywnościowego. Na sprzedawcach detalicznych i firmach gastronomicznych, jak również producentach żywności spoczywa coraz większa odpowiedzialność za zapewnienie przestrzegania odpowiednich praktyk dotyczących bezpieczeństwa żywności. Autorzy dowodzą, że osiągnięcie sukcesu w dziedzinie bezpieczeństwa żywności, w zmieniającym się środowisku, wymaga innych działań aniżeli tradycyjne szkolenia, testowanie i działania inspekcyjne w przeciwdziałaniu zagrożeniom. Do poprawy bezpieczeństwa żywności konieczne jest wdrożenie skutecznej organizacji w firmach i wykorzystanie zaangażowania pracowników, a nawet społeczności lokalnych. W celu zmiany sposobu podejścia do tych istotnych zagadnień należy lepiej zintegrować naukę o żywności z naukami behawioralnymi i wykorzystać systemowe podejście do zarządzania ryzykiem.

Essentials of Food Science

[Podstawy nauki o żywności]

Vaclavik V.A., University of Teras, Dallas, USA

Christian E.W., Teras Woman's University, Denton, USA

Wydawnictwo: Springer, 2008, ISBN 9780387699394, stron 572, cena 522,95€

Zamówienia: www.springer.com

W książce zawarto najnowszy zasób wiedzy z zakresu szeroko pojętej nauki o żywności. Przedstawiono zagadnienia dotyczące jakości żywności oraz determinujących ją czynników fizykochemicznych. Przedstawiono różne aspekty: produkcji żywności, bezpieczeństwa żywności, przetwarzania i utrwalania, dodatków do żywności i opa-

kowań. Informacje uzupełniono o przepisy prawne dotyczące znakowania żywności. Cenne informacje zawarte zostały także w aneksie, który obejmuje następujące tematy: biotechnologia, organizmy zmodyfikowane genetycznie (GMO), żywność funkcjonalna, odżywki, fitochemikalia, żywność lecznicza, piramida żywienia wg USDA [Ministerstwa Rolnictwa Stanów Zjednoczonych], roszczenia związane ze znakowaniem żywności. Książka łączy zagadnienia chemii żywności, technologii żywności i gastronomii.

Leksykon nauki o żywności i żywieniu człowieka oraz polsko-angielski słownik terminów

Pod red. P. P. Lewickiego

Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2008, ISBN 978-83-7244-988-7, stron 521, cena 60 zł

Zamówienia: www.wydawnictwosggw.pl

Dynamiczny rozwój nauki o żywności i żywieniu, a także postęp w technologii powodują, że pojawiają się nowe określenia, definicje, nazwy i terminy, a znaczenie od dawna używanych pojęć ulega modyfikacji lub dezaktualizacji. Celem opracowania Leksykonu było uporządkowanie stosowanej terminologii, a także stworzenie źródła szybkiej, podstawowej informacji o danej dziedzinie wiedzy. Hasła – jest ich ponad 6600 – ułożone są alfabetycznie i obejmują prawie wszystkie zagadnienia z szeroko rozumianej nauki o żywności i żywieniu. Każde hasło jest opatrzone odnośnikiem w języku angielskim, przez co książka stała się jednocześnie słownikiem polsko-angielskim. W opracowaniu haseł uczestniczyło kilkudziesięciu specjalistów, każdy z określonej dziedziny wiedzy, o dużym doświadczeniu dydaktycznym, a także autorskim.

Leksykon adresowany jest do czytelników związanych z szeroko rozumianą gospodarką żywnościową, pracowników naukowo-dydaktycznych uczelni, studentów zainteresowanych żywnością i żywieniem człowieka, naukowo-badawczego zaplecza przemysłu, dozoru technologiczno-technicznego, pracowników nadzoru sanitarno-weterynaryjnego, służb celnych i marketingu.

Zrównoważone rolnictwo a bezpieczna żywność

Pod red. Ewy Cieślik

Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków 2008, ISBN 978-83-924646-5-5, stron 116

Zamówienia: e-mail: wnptz@wp.pl

Podstawowym sposobem uzyskiwania bezpiecznej żywności jest, w opinii autorów, jak najszersze stosowanie integrowanego systemu gospodarowania. System ten po-

przez poszczególne elementy technologii sprzyja realizacji koncepcji rolnictwa zrównoważonego. W monografii scharakteryzowano organizacyjne i prawne aspekty rozwoju integrowanej produkcji roślinnej w Polsce. Przedstawiono możliwości zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego w produkcji surowców (GLOBALGAP). Ponadto przybliżono zagadnienia wpływu wybranych czynników glebowych oraz nawozowych na jakość plonu owoców i warzyw oraz omówiono oddziaływanie tych czynników na poziom skażenia plonu zanieczyszczeniami chemicznymi. Wskazano na praktyczne możliwości wykorzystania niektórych preparatów biologicznych w ochronie roślin warzywnych przed chorobami infekcyjnymi, jak również poruszono problematykę nawożenia azotowego i nawadniania na przykładzie integrowanej uprawy brokułów. Wskazano także na możliwość współrzędnej uprawy roślin warzywnych i zielarskich we współczesnych gospodarstwach rolnych. W książce przedstawiono ponadto obowiązujące zasady monitoringu żywności w Polsce, jak również przybliżono problematykę wdrażania systemu zarządzania jakością i akredytacji laboratoriów badawczych.

Opracował: *Stanisław Popek*

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 18 Nr 5

listopad 2008

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

1. Pod egidą PTTŻ został uruchomiony portal na temat żywności zmodyfikowanej genetycznie. Portal można znaleźć pod adresem: <http://zywnosc-gmo.pl/>
2. W dniach 25 – 26 września 2008 r. odbyła się w Lublinie III Międzynarodowa Konferencja Naukowa z udziałem naukowców z Europy Środkowo-Wschodniej nt.: „Tradycyjne i regionalne technologie i produkty w żywieniu człowieka”. Organizatorami Konferencji byli: Katedra Technologii Mięsa i zarządzania Jakością UP w Lublinie, Zakład Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności SGGW, ZG i Sekcja Technologii Mięsa PTTŻ i Komisja Jakości, Bezpieczeństwa i Promocji Żywności Komitetu Nauk o Żywności PAN. Wydawnictwo Naukowe PTTŻ wydało monografię w języku polskim i angielskim zawierające materiały tej Konferencji.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYNARODOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2009 r.

Kwiecień

- 1 – 3 ROMA, Italy = The 3rd International IUPAC Symposium on Trace Elements in Food (TEF-3)
www.tef3-2009.it
Contact: e-mail: lupac2009@fasiweb.com

Maj

- 21 – 22 GDYNIA = XIV Sesja Naukowa SMKN PTTŻ nt.: „Jakość i bezpieczeństwo żywności – wyzwania XXI wieku”. Organizatorzy: Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni, Oddział Gdański PTTŻ, Zarząd Główny PTTŻ;
kontakt: <http://wpit.am.gdynia.pl>

Czerwiec

18-19 **KRAKÓW = IX Konferencja Naukowa z cyklu “Żywność XXI wieku” pt.: „Żywność wzbogacona i nutraceutyki”**. Organizator Oddział Małopolski PTTŻ.

25-26 **POZNAŃ = XXXIX Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN**.

Sierpień

16 – 21 COPENHAGEN, Denmark = 55th International Congress of Meat Science and Technology “Meat – Muscle, Manufacturing and Meals”

www.ICoMST2009.dk

Contact: e-mail: congress@IMc.dk

Wrzesień

24 - 25 **WROCŁAW, IV Międzynarodowa Konferencja z cyklu” “Quality and safety in food production chain”**. Organizator: Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.

Kontakt: tel./fax: 071/ 3205140; www.up.wroc.pl

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA
TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, RAISIO POLSKA FOODS Sp. z o.o. Karczew, FRITO – LAY POLAND Sp. z o.o. Grodzisk Mazowiecki, HORTIMEX Sp. z o.o. Konin.**

Przy Oddziale Łódzkim: **POLFARMEX S.A.**

Przy Oddziale Małopolskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO BIELMAR Sp. z o.o., Bielsko-Biała.**

Przy Oddziale Szczecińskim: **TECHNEX Sp. z o.o., Szczecin.**

Przy Oddziale Warszawskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO S.A., WARSZAWA.**

Przy Oddziale Wielkopolskim: **PRZEDSIĘBIORSTWO PRZEMYSŁU FERMENTACYJNEGO „AKWAWIT” S.A., Leszno, HORTIMEX Sp. z o.o., Konin, SŁAWSKI ZAKŁAD PRZETWÓRSTWA MIĘSA I DROBIU s.c. „BALCERZAK I SPÓŁKA”, Wróblów k. Ślawy, POZMET S.A., Poznań.**

Przy Oddziale Wrocławskim: **REGIS Wieliczka.**

Material zawarty w Nr 5 (60)/2008 Biuletynu podano według stanu informacji do 10 listopada 2008 r. Materiały do Nr 6(61) /2009 prosimy nadsyłać do 1 stycznia 2009 r. na adres Redakcji Czasopisma.

KOMUNIKAT

Informujemy P.T. Autorów, że aktualne *Informacje dla Autorów oraz wymagania redakcyjne* publikujemy na stronie www.pttz.org

CONTENTS

From the Editor	3
PAULINA KRYSIŃSKA, DOROTA GAŁKOWSKA, TERESA FORTUNA: Profile of modified waxy maize starch systems	9
AGATA WOJCIECHOWICZ, ZYGMUNT GIL, MAŁGORZATA KAPELKO, TOMASZ ZIĘBA: Effect of resistant starch addition on the dough properties and wheat bread quality	24
ANNA OSTASIEWICZ, ALICJA CEGLIŃSKA, SYLWIA SKOWRONEK: Influence of the conditions of sourdough production process on the rye bread quality	34
PRZEMYSŁAW KRAWCZYK, ALICJA CEGLIŃSKA, JULITA KARDIALIK: Comparing the technological value of spelt grains to common wheat grains	43
KAROLINA CHRISTA, MARIA SORAL-ŚMIETANA: Effect of roasting process on the enzymatic digestibility of proteins in grains of buckwheat (<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench)	52
KRZYSZTOF DZIEDZIC, DANUTA GÓRECKA, AGNIESZKA DROŹDŻYŃSKA, KATARZYNA CZACZYK: Influence of the production process of roasted buckwheat groats on the nutrients contained in them	63
KINGA STUPER, JULIUSZ PERKOWSKI: Content of ergosterole in food products of cereals	71
AGNIESZKA ZEMBOLD-GUŁA, JÓZEF BŁAŻEWICZ, KATARZYNA WOJEWÓDZKA: Protein compounds in brewing worts produced with addition of naked barley grain	78
PATRYCJA KŁOS, ANNA ŁOZA, ELEONORA LAMPART-SZCZAPA, JACEK KARCZEWSKI: Evaluation of lectin-like properties of globulins from seeds of narrow-leaved lupin (<i>Lupinus angustifolius</i> , var. Baron)	86
MAGDALENA GRUDZIŃSKA, KAZIMIERA ZGÓRSKA: Impact of weather conditions on the content of nitrates(V) in potato tubers	98
MAGDALENA GRUDZIŃSKA, KAZIMIERA ZGÓRSKA: Effect of sugar content in potato tubers on colour of chips	107
AGATA PEKOSŁAWSKA, ANDRZEJ LENART: Impact of the concentration and temperature of starch syrup on the kinetics of osmotic dehydration of pumpkin	116
DOROTA ZIELIŃSKA, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, ANTONI GORYL: Survival models of potentially probiotic <i>Lactobacillus Casei</i> KN291 bacteria in a fermented soy beverage	126
JOANNA KOLNIAK: Effect of freezing & thawing methods and cryo-protective supplements added on the content of total polyphenols, anthocyanins, and antioxidant capacity in frozen strawberries	135
STANISŁAW KALISZ: Effect of production method of strawberry juices on the content of anthocyanins and colour	149

ANDRZEJ GASIK, MARTA MITEK, STANISŁAW KALISZ: Impact of the maceration process and storage conditions on the antioxidant capacity and content of some selected components in the cornelian cherry juice	161
MAŁGORZATA PRZYBYT, JOANNA BIERNASIAK: Application of biosensors to L-lactate assay in commercial juices and concentrates	168
KAROLINA LENTAS, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Effect of initial infusion with calcium ions on some selected properties of dried apples	178
DOROTA ZARĘBA: Viability of probiotic strain of <i>Lb. acidophilus</i> in non-fermented and fermented milk	189
DOROTA ZARĘBA, MAŁGORZATA ZIARNO, BEATA STRZELCZYK: Viability of lactic acid bacteria under the model conditions of small intestine	197
EMILIA JANISZEWSKA, DARIUSZ CUPIAŁ, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Impact of spray drying parameters on the quality of protein hydrolysate	206
MACIEJ NASTAJ, WALDEMAR GUSTAW: Effect of some selected prebiotics on rheological properties of set yoghurt	217
BARTOSZ SOŁOWIEJ, WALDEMAR GUSTAW, MACIEJ NASTAJ: Effect of the addition of whey protein concentrates on rheological properties of processed cheese analogs ..	226
JUSTYNA GROMADZKA, WALDEMAR WARDENCKI: Selecting optimal parameters for the UV-HS-SPME/GC/FID method for assessing oxidative stability of edible oils	235
KATARZYNA JĘDRZEJKIEWICZ, KRZYSZTOF KRYGIER: Application of inert gases in improving the oxidative stability of fish oil, rapeseed oil, and their mixtures	248
MAGDALENA KOSTECKA: Characterization of poultry fat and rapeseed oil mixture prior to and after the enzymatic interesterification	257
MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ, BOLESŁAW KOWALSKI: Impact of water activity on hydrolytic & oxidative stability of fat extracted from corn grains	273
MAŁGORZATA KARWOWSKA: Effect of applying alfalfa extract to the diet of pigs on meat colour	282
JOANNA STADNIK: Impact of PSE pork meat sonication on changes in hydrophobic surface of myofibrillar proteins	289
JOLANTA KRZYCZKOWSKA, IZABELA STOLARZEWICZ, DOMINIKA BELLOK, MAŁGORZATA BELLOK, EWA BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK: Effect of medium modification on bio-catalytic properties of yeasts	299
ALICJA KOŚMIDER, KAMILA MYSZKA, KATARZYNA CZACZYK: Limited availability of nutrients in environment as inducer of increase in the resistance of micro-organisms against antimicrobial factors	307
IWONA NAMYSŁAW, EWA CZARNIECKA-SKUBINA, INGRID WACHOWICZ: Assessing the correctness of preparing dishes of vegetables and potatoes at home	319
GRAŻYNA MORKIS: Food Problems in Polish and EU Legislation	335
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Food Science Lexicon – Contemporary Terms	336
STANISŁAW POPEK: Book Reviews	338
The Food Technologist	341