



# ŻYWNOŚĆ

Nauka  
Technologia  
Jakość

**Nr 6 (61)**

**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

---

# ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności

Nr 6 (61)

Kraków 2008

Rok 15

## SPIS TREŚCI

Od Redakcji .....	3
EWA BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK: Rola fazy ciekłokrystalicznej w procesach przetwarzania żywności .....	5
ANNA WOCIÓR, HENRYK KOSTYRA, MAŁGORZATA KUŚMIERCZYK: Lektyny żywności .....	16
ADRIANA NOWAK, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ: Karcynogenna aktywność mikroorganizmów jelitowych .....	25
JOANNA TOMCZYK, ANNA OLEJNIK, KATARZYNA KOWALSKA, WOJCIECH BIAŁAS, WŁODZIMIERZ GRAJEK: Ocena aktywności cytotoksycznej ekstraktów fasolowo-kukurydzianych względem nowotworowych komórek nabłonka jelitowego .....	40
JOANNA KLEPACKA, ŁUCJA FORNAL: Określenie zależności między zawartością wybranych związków fenolowych a wartością przemiałową ziarna pszenicy .....	55
MAREK GIBIŃSKI: Charakterystyka chemiczna i żywieniowa hydrolizatów owsianych o niskim stopniu scukrzenia .....	65
BEATA DRUŻYŃSKA, IZABELA STRZECHA, RAFAŁ WOŁOSIAK, ELWIRA WOROBIJ: Zawartość wybranych związków biologicznie aktywnych w ekstraktach z suszonych moreli oraz ich właściwości przeciwutleniające .....	77
MAGDALENA MIKA, AGNIESZKA WIKIERA, KRZYSZTOF ŻYŁA: Wpływ czasu i temperatury ekstrakcji na zawartość katechin w wodnych ekstraktach herbaty białej .....	88
EDWARD KOŁAKOWSKI, MAREK WIANECKI, IWONA MILEWSKA: Temperatura cieplnej koagulacji białek mięśniowych ryb i zwierząt rzeźnych wybranych gatunków .....	95
MAREK ADAMCZAK, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI: Enzymatyczna synteza galaktooligosacharydów i laktulozy w permeacie po ultrafiltracji serwatki .....	105
JACEK DOMAGAŁA, MONIKA WSZOŁEK: Wpływ sposobu zagęszczania oraz rodzaju szczepionki na teksturę i podatność na synerezę jogurtu i biojogurtów z mleka koziego .....	118
EWA CZARNIECKA-SKUBINA, IWONA NAMYSŁAW: Wybrane elementy zachowań żywieniowych uczniów szkół średnich .....	129
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....	144
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Współczesny leksykon wiedzy o żywności .....	147
STANISŁAW POPEK: Nowe książki .....	149
<b>Technolog Żywności .....</b>	<b>152</b>
Spis treści czasopisma „Żywność” Nr 56–61 .....	154
Wykaz nazwisk Autorów w 2008 roku .....	161
Wykaz nazwisk Recenzentów w 2008 roku .....	165

*Zamieszczone artykuły są recenzowane*

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

# FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 6 (61)

Kraków 2008

Vol. 15

## CONTENTS

From the Editor .....	3
EWA BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK: Role of liquid crystal phase in food processing processes .....	5
ANNA WOCIÓR, HENRYK KOSTYRA, MAŁGORZATA KUŚMIERCZYK: Food lectins .....	16
ADRIANA NOWAK, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ: Carcinogenic activity of intestinal microbiota .....	25
JOANNA TOMCZYK, ANNA OLEJNIK, KATARZYNA KOWALSKA, WOJCIECH BIAŁAS, WŁODZIMIERZ GRAJEK: Assessment of cytotoxic activity of bean-corn extrudates towards the neoplastic cells in human intestinal epithelium .....	40
JOANNA KLEPACKA, ŁUCJA FORNAL: Research into correlations between the content of some selected phenolic compounds and the milling quality of wheat grain .....	55
MAREK GIBIŃSKI: Chemical and nutritional profiles of oat hydrolysates with low crystallization level .....	65
BEATA DRUŻYŃSKA, IZABELA STRZECHA, RAFAŁ WOŁOSIAK, ELWIRA WOROBIEJ: Content of some selected biologically active compounds in the extracts of dried apricots and their antioxidant properties .....	77
MAGDALENA MIKA, AGNIESZKA WIKIERA, KRZYSZTOF ŻYŁA: Effect of extraction time and temperature on the content of catechins in white tea water extracts .....	88
EDWARD KOŁAKOWSKI, MAREK WIANECKI, IWONA MILEWSKA: Thermal coagulation temperature of muscle proteins in fish and slaughter animals from some selected species .....	95
MAREK ADAMCZAK, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI: Enzymatic synthesis of galactooligosaccharides and lactulose in whey-permeate after the ultrafiltration of whey .....	105
JACEK DOMAGAŁA, MONIKA WSZOŁEK: Effect of concentration method and starter culture type on the texture and susceptibility to syneresis of yoghurt and bio-yoghurts made of goat's milk .....	118
EWA CZARNIECKA-SKUBINA, IWONA NAMYSŁAW: Some selected elements of nutritional behaviours of secondary school children .....	129
GRAŻYNA MORKIS: Food Problems in Polish and EU Legislation .....	144
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Food Science Lexicon – Contemporary Terms .....	147
STANISŁAW POPEK: Book reviews .....	149
<b>The Food Technologist .....</b>	<b>152</b>
Annual contents .....	154
Index of Authors .....	161
Index of Reviewers .....	165

---

*Only reviewed papers are published*

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

---

## OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy nr 6 (61) naszego czasopisma, który zamyka rok 2008. Wyrażamy nadzieję, że zamieszczone artykuły naukowe i materiały informacyjne zostaną przyjęte z zainteresowaniem i spełnią Państwa oczekiwania.

Kończąc kolejny rok wydawania naszego czasopisma pragnę podziękować wszystkim, którzy przyczyniają się do ciągłego doskonalenia poziomu **ŻYWNOSĆCI**, a więc: Autorom, Recenzentom, Radzie Programowej, Współpracownikom z Redakcji oraz Czytelnikom!

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

**W Nowym 2009 Roku wszystkim naszym Autorom, Czytelnikom i Przyjaciołom życzymy wszelkiej pomyślności.**

Kraków, grudzień 2008 r.

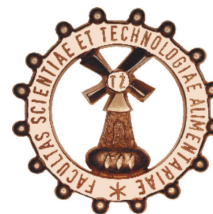
Redaktor Naczelny



*Tadeusz Sikora*



POLSKIE TOWARZYSTWO  
TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI  
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI



**POLSKIE TOWARZYSTWO  
TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI  
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI**

**WYDZIAŁ  
TECHNOLOGII ŻYWNOŚCI  
UNIwersYTETU ROLNICZEGO  
IM. HUGONA KOLŁATAJA  
W KRAKOWIE**

**KOMITET NAUK O ŻYWNOŚCI PAN**

**zapraszają na  
IX Konferencję Naukową  
z cyklu  
„Żywność XXI wieku”**

## **ŻYWNOŚĆ WZBOGACONA I NUTRACEUTYKI**

**Kraków, 18-19 czerwca 2009**

Kontakt:

Dr inż. Anna Korus, e-mail: [akorus@ar.krakow.pl](mailto:akorus@ar.krakow.pl)

Dr hab. inż. Piotr Gębczyński, e-mail: [rrgebczy@cyf-kr.edu.pl](mailto:rrgebczy@cyf-kr.edu.pl)

EWA BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK

## ROLA FAZY CIEKŁOKRYSTALICZNEJ W PROCESACH PRZETWARZANIA ŻYWNOSCI

### Streszczenie

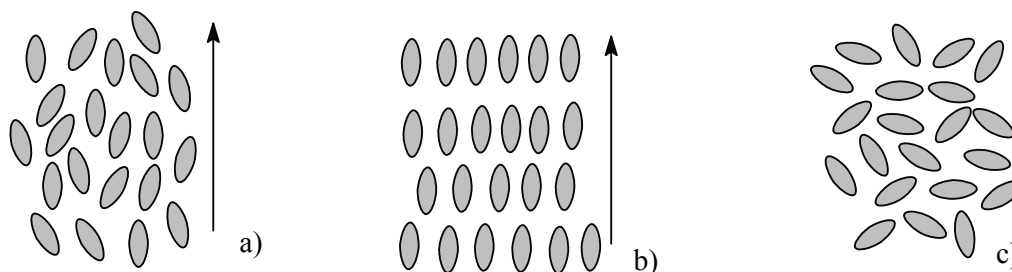
W pracy dokonano przeglądu literatury na temat występowania i roli fazy ciekłokrystalicznej w procesach przetwarzania żywności. Po omówieniu ogólnych właściwości ciekłokrystalicznego stanu materii skoncentrowano się przede wszystkim na znaczeniu fazy liotropowej, która powstaje w wyniku samoagregacji amfifilowych składników żywności. Dotyczy to przede wszystkim układów zawierających emulgatory, takie jak: lecytyna, mono- i diacyloglicerole kwasów tłuszczowych oraz estry kwasów tłuszczowych i sacharozy lub sorbitanu. Występowanie fazy liotropowej odgrywa istotną rolę w procesach, takich jak przygotowanie produktów o obniżonej kaloryczności (stabilizacja emulsji) oraz wpływa na przebieg krystalizacji acylogliceroli. Liotropowe układy ciekłokrystaliczne mogą być także wykorzystywane jako nośniki specyficznych dodatków do żywności, na przykład w procesie stopniowego uwalniania leków i substancji zapachowych. Natomiast termotropowe substancje ciekłokrystaliczne, które z reguły nie występują w produktach pochodzenia naturalnego, znajdują zastosowanie w kontroli procesów technologicznych np. w konstrukcji sensorów wykrywających obecność substancji lotnych, takich jak alkohole, estry czy niższe węglowodory oraz czujników temperatury wykorzystujących zdolności chiralnych substancji ciekłokrystalicznych do selektywnego odbicia światła.

**Słowa kluczowe:** faza ciekłokrystaliczna, związki amfifilowe, emulgatory, faza liotropowa, żywność funkcjonalna

### Charakterystyka ciekłokrystalicznego stanu skupienia materii

Faza ciekłokrystaliczna jest pośrednim stanem materii pomiędzy ciałami stałymi a cieczami. Molekuły substancji w stanie ciekłokrystalicznym mają swobodę translacyjną, zachowując pewien stopień uporządkowania pozycyjnego, charakterystyczny dla stanu krystalicznego (rys. 1) [1, 4].

Ta zdolność do samoorganizacji wynika z budowy cząsteczek tworzących fazę ciekłokrystaliczną i jest rezultatem anizotropii ich kształtu lub właściwości.



Rys. 1. Uporządkowanie molekuł w fazie ciekłokrystalicznej: a) faza nematyczna - cząsteczki uporządkowane zgodnie z wyróżnionym kierunkiem, b) faza smektyczna - uporządkowanie warstwowe, c) faza izotropowa - całkowity brak uporządkowania.

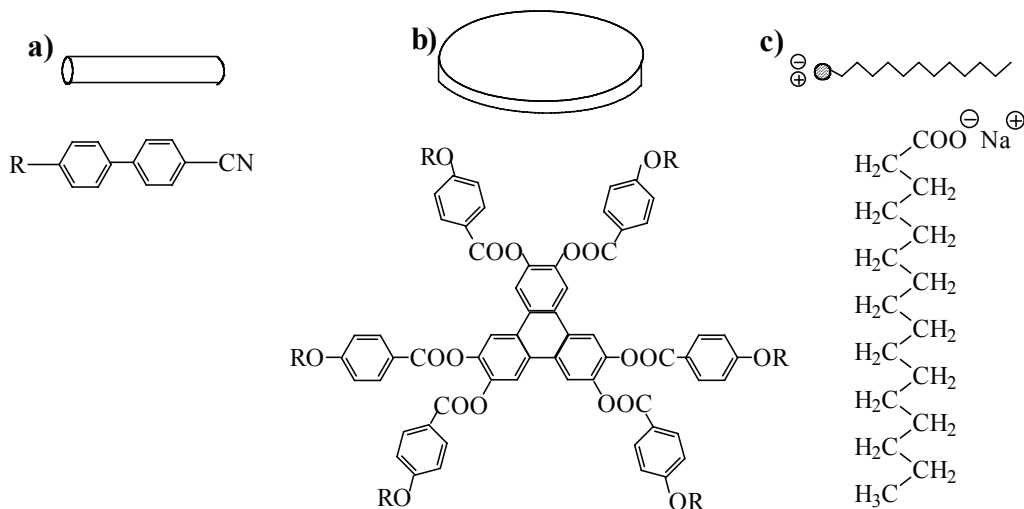
Fig. 1. Molecular order in liquid crystal phase: a) nematic phase - molecules tend to organize themselves along the director, b) smectic phase - molecules tend to align themselves in layers or planes, c) isotropic phase - the arrangement of molecules is broken down.

Anizotropia kształtu polega na tym, że jeden z wymiarów cząsteczki wyraźnie różni się od pozostałych, co ma miejsce w przypadku cząsteczek o kształcie pręta lub dysku (rys. 2 a i b). W wyniku tej różnicy molekuly związku w procesie topnienia niejednocześnie uzyskują swobodę translacyjną i rotacyjną, skutkiem czego, w trakcie przemian termicznych, wykazują tendencję do tworzenia fazy pośredniej – mezofazy. Tego typu układy nazywane są termotropowymi ciekłymi kryształami.

Anizotropia właściwości może być rezultatem różnego charakteru chemicznego poszczególnych segmentów cząsteczki, z czego wynikają różnice powinowactwa do rozpuszczalników polarnych i niepolarnych. Klasycznym przykładem mogą być związki amfifilowe np. mydła (rys. 2c; nazwa fazy smektycznej pochodzi od greckiego słowa mydło), które zdyspergowane w wodzie w wyniku oddziaływań hydrofilowych i hydrofobowych tworzą struktury zorganizowane (micele, błony komórkowe). Tego typu układy noszą nazwę liotropowych ciekłych kryształów [4].

Pod względem chemicznym materiały ciekłokrystaliczne należą do różnych grup związków – od relatywnie prostych struktur chemicznych do polimerów czy złożonych związków pochodzenia biologicznego. Znajdują one liczne praktyczne zastosowania, m.in. jako tworzywa o unikatowych właściwościach mechanicznych oraz substancje aktywne w urządzeniach służących do zobrazowania informacji (wyświetlacze optyczne, ekrany telewizyjne, elementy pamięci optycznej) [4]. Te właśnie powszechnie dostępne dziedziny techniki są kojarzone z substancjami ciekłokrystalicznymi o charakterze głównie termotropowym.





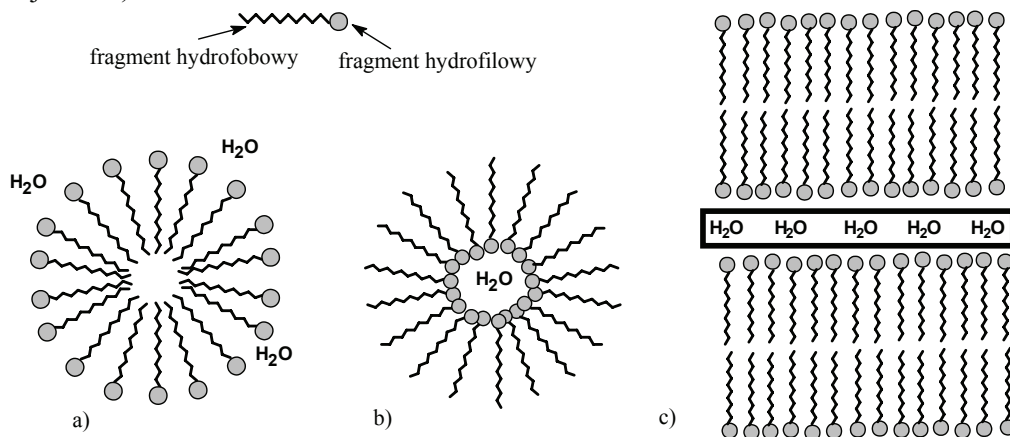
Rys. 2. Przykłady związków ciekłokrystalicznych termotropowych - molekula prętopodobna (a), molekula dyskowa (b) i lipotropowych – molekula amfifilowa (c);  $R = C_nH_{2n+1}$ .

Fig.2. Examples of the liquid crystal thermotropic compounds: calamitic molecule (a), disc-like molecule (b) and of the lyotropic compounds: amphiphilic molecule (c);  $R = C_nH_{2n+1}$ .

W przyrodzie rozpowszechnione są mezofazy lipotropowe, powstające w wyniku oddziaływań substancji amfifilowych z rozpuszczalnikiem [17, 21, 24]. Jak wiadomo, wiele cząsteczek ważnych pod względem biologicznym, takich jak fosfolipidy, glikolipidy czy monoacyloglicerole ma charakter amfifilowy. Substancje te są jednocześnie popularnymi składnikami żywności. W środowisku wodnym substancje amfifilowe wykazują tendencje do samoagregacji cząstek, w wyniku czego tworzą się nanostruktury, np. micelle (rys. 3a – skupiska cząsteczek zorientowanych łańcuchami hydrofobowymi do środka, a grupami hydrofilowymi na zewnątrz) lub fazy lamelarne (rys. 3c – tzn. warstwy cząsteczek zorientowanych w ten sposób, że w sąsiadujących ze sobą płaszczyznach molekuly ustawiają się w przeciwnych kierunkach, przez co następuje tzw. mikroseparacja faz, fazy organicznej i grup polarnych np.  $-COONa$ ) [4]. Fragmenty polarne układu mogą być dodatkowo rozseparowane warstwą wody o różnej grubości [19]. W środowisku rozpuszczalnika organicznego występuje układ odwrotny – z tzw. odwróconą micelą, w którym faza wodna znajduje się w sąsiedztwie fragmentów polarnych wewnątrz miceli (rys. 3b).

Przy niższych stężeniach związku amfifilowego (poniżej 50 %) układ może przyjąć strukturę mezofazy heksagonalnej lub kubicznej. W obu przypadkach mamy do czynienia z agregacją typu miceli. W fazie kubicznej micelle rozmieszczone są w przestrzeni w sposób typowy dla regularnie uporządkowanej sieci krystalicznej (rys. 4a).

Taki układ nazywany jest czasem lepką fazą izotropową, ze względu na brak dwój-  
łomności. W fazie heksagonalnej cząsteczki tworzą ułożone na planie sześciokątą  
aglomeraty o kształcie cylindrów, które w przekroju poprzecznym mają strukturę mi-  
celi (rys. 4 b i c). Również w przypadku obu tych struktur liotropowych woda może  
stanowić fazę ciągłą (matrycę) lub rozproszoną (tj. znajdować się wewnątrz odwróco-  
nej miceli).

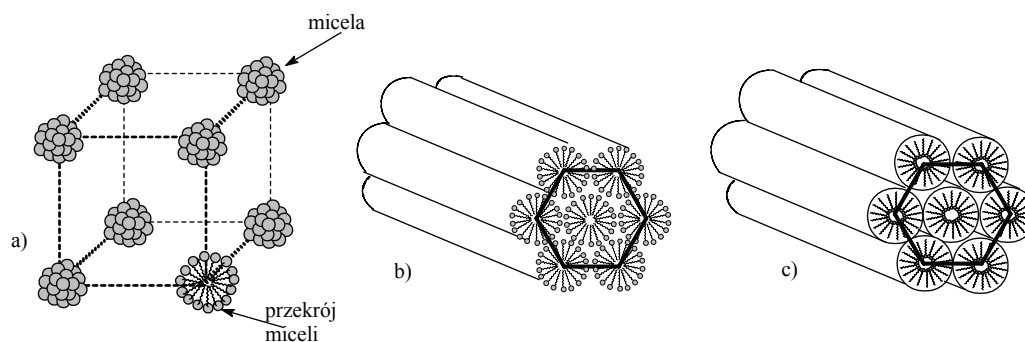


Objaśnienie: / Explanatory note:

fragment hydrofobowy / hydrophobic fragment; fragment hydrofilowy / hydrophilic fragment;

Rys. 3. Struktury powstające w wyniku agregacji cząstek amfifilowych: a) micelarna, b) micelarna odwrócona, c) lamelarna  $L_a$ .

Fig. 3. Structures formed as the consequence of the aggregation of amphiphilic molecules: a) micelle, b) reversed micelle, and c)  $L_a$  lamellar.



Objaśnienie: / Explanatory note:

micela / micelle ; przekrój miceli / section of micelle

Rys. 4. Liotropowe fazy ciekłokrystaliczne: a) kubiczna  $V_1$ , b) heksagonalna  $H_1$  i c) heksagonalna odwrócona  $H_{II}$ .

Fig. 4. Lyotropic liquid crystal phases: a)  $V_1$  cubic, b)  $H_1$  hexagonal, and c)  $H_{II}$  reversed hexagonal.

Rodzaj powstającej mezofazy wpływa istotnie na właściwości fizyczne układu. Np. fazy heksagonalna i regularna mają o wiele większą lepkość w porównaniu z lamelarną, w przypadku której istnieją płaszczyzny poślizgu między poszczególnymi warstwami.

Z dokonanego powyżej krótkiego przeglądu faz ciekłokrystalicznych wynika, że w produktach żywnościowych, w skład których wchodzi woda i substancje o charakterze emulgatorów, można oczekiwać pojawienia się mezofazy liotropowej. Natomiast właściwości faz termotropowych mogą być wykorzystane do kontrolowania przebiegu procesów technologicznych.

### **Liotropowe ciekłe kryształy i ich rola w tworzeniu tekstury produktów spożywczych**

Związki o charakterze amfifilowym są popularnymi składnikami żywności; stosowane są przede wszystkim jako emulgatory ułatwiające powstawanie i stabilizację emulsji. Najczęściej używanymi emulgatorami są lecytyna, mono- i diacyloglicerole kwasów tłuszczowych oraz estry kwasów tłuszczowych i sacharozy lub sorbitanu (rys. 5).

Ostatnie dwa związki, zaliczane do fosfolipidów, stanowią grupę substancji ciekłokrystalicznych pochodzenia naturalnego [9, 17, 24].

Na fazę ciekłokrystaliczną, jako na element stabilizujący emulsję, zwrócono uwagę początkowo w przemyśle kosmetycznym: dowodem jej występowania była obecność warstewek wykazujących dwójłomność na powierzchni kropelek [20]. Tworzeniu się fazy ciekłokrystalicznej  $L_{\alpha}$  Ambrosone i wsp. [15] przypisują odporność na koalescencję w trójskładnikowym układzie trioleinian glicerolu, oleinian sodu i woda (GTO/NaO/W). Dopiero potem ten pogląd zastosowano do emulsji spożywczych zawierających stearoilomleczany, lecytyny i polisorbaty, uwzględniając fakt, że cząsteczki emulgatorów mogą oddziaływać ze składnikami żywności nie tylko bezpośrednio, lecz także za pośrednictwem mezofazy. Dlatego rozważając fizykochemiczne przemiany zachodzące w żywności należy zwrócić uwagę na możliwość występowania fazy ciekłokrystalicznej, przede wszystkim liotropowej. Zrozumienie fizycznych właściwości mezofazy jest istotne przy wyborze optymalnego emulgatora, a tym samym przy zastosowaniu konkretnych emulgatorów w praktyce [11, 12, 14].

Powstawanie struktur ciekłokrystalicznych w układach zawierających wodę i emulgatory jest istotne z punktu widzenia oddziaływania z węglowodanami lub białkami i ułatwia tworzenie pian oraz emulsji. Przypuszcza się, że aktywność monoacylogliceroli, w szczególności nasyconych (np. GMS), w zapobieganiu czerstwieniu chleba wynika z obecności fazy lamelarniej tworzonej z ich udziałem [20], ponieważ istnienie tej mezofazy sprzyja powstawaniu kompleksów helikalnej struktury skrobi z łańcuchami węglowodorowymi kwasów tłuszczowych. Efektywność monoacylogliceroli w kompleksowaniu amylozy zmniejsza się w szeregu: monopalmitinian >



wodnym (galaktomannan) [6], a w produktach piekarniczych powstaje ona z polarnych fosfolipidów i galaktolipidów, których obecność decyduje o właściwościach mąki.

W gotowych produktach żywnościowych, w szczególności w produktach funkcjonalnych o obniżonej kaloryczności, często występują nanostruktury bazujące na samoagregacji związków powierzchniowo czynnych, takich jak monoglicerydy czy fosfolipidy. Powstająca w tych układach lamelarna faza ciekłokrystaliczna pozwala na inkorporację dużej ilości wody [16]. Przy ochładzaniu faza ta przekształca się w tzw.  $\alpha$ -żel o konsystencji maści, a następnie, bez utraty znaczącej ilości wody, w koażel o konsystencji tłuszczu. Zagadnienie to badano na przykładzie handlowych monoacylogliceroli, w skład których wchodziły głównie kwasy C16 i C18 [7]. Stwierdzono, że większemu wchłanianiu wody w układzie, który powyżej temp. 55 °C istniał w fazie lamelarnej, a poniżej tej temperatury w żelowej, sprzyjał niewielki dodatek jonowego emulgatora. Można było wówczas w fazie koażelu (otrzymywanego z fazy lamelarnej poprzez  $\alpha$ -żel) inkorporować do 95 % wody, otrzymując produkty o ekstremalnie obniżonej kaloryczności, np. margarynę wolną od tłuszczu, zawierającą w 1 g produktu 30 mg monoacylogliceroli oraz niewielką ilość jonowego emulgatora (DATEM – diacetylowinian monoacyloglicerolu) i biopolimerów: żelatyny i skrobi. Faza  $\alpha$ -żelowa jest stanem optymalnym z punktu widzenia otrzymywania produktów o dużej zawartości powietrza, takich jak bita śmietana, musy czy desery mrożone. Jak wykazano, najlepsze wyniki uzyskuje się w czasie ubijania piany podczas chłodzenia fazy lamelarnej poniżej punktu Kraffa (tj. temperatury, w której rozpuszczalność emulgatora jest równa krytycznemu stężeniu miceli – CMC) [7].

Faza ciekłokrystaliczna, jako stan przejściowy, może odgrywać istotną rolę w procesach krystalizacji triacylogliceroli. Ich właściwości fizyczne zależą w znacznym stopniu od struktury, co ma istotne znaczenie praktyczne, ponieważ wpływa na jakość finalnych produktów. Ze względu na to, że triacyloglicerole są złożonymi mieszaninami prowadzi się z reguły badania modelowe na przykładzie pojedynczych składników [8]. Np. w przemianach termicznych 1,3-distearoilo-2-oleoilo-sn-glicerolu (SOS) (zarówno podczas ogrzewania, jak i chłodzenia) powstają fazy ciekłokrystaliczne o charakterze warstwowym (prawdopodobnie smektycznym) i grubości warstw 5,1 lub 4,6 nm. Procesy krystalizacji triacylogliceroli pochodzenia naturalnego są bardziej złożone. Przebieg krystalizacji masła kakaowego zależy w istotnym stopniu od rodzaju związku amfifilowego (fosfatydyloinozytolu czy fosfatydylocholiny) znajdującego się w układzie. Fosfatydyloinozytol, ze względu na duże rozmiary polarnego segmentu cząsteczki, sprzyja powstawaniu fazy  $H_1$ , w której utrudnione są oddziaływania pomiędzy cząsteczkami masła kakaowego i acylowymi fragmentami fosfolipidu, co utrudnia proces nukleacji poprzedzający krystalizację – w efekcie mamy do czynienia z miękkim masłem kakaowym. Natomiast w obecności fosfatydylocholiny powstaje faza  $H_{II}$ , o odwróconych micelach (łańcuchy alkilowe skierowane na zewnątrz miceli),

która ułatwia krystalizację, poprzez oddziaływanie grup acylowych kompatybilnych z cząsteczkami acyloglicerolu.

Układy ciekłokrystaliczne mogą być stosowane ponadto jako nośniki specyficznych dodatków w fazie hydrofilowej lub hydrofobowej [18]. Znanymi przenośnikami leków lub substancji kosmetycznych są liposomy, które tworzą się z fazy lamelarniej przy odpowiednio dużej zawartości wody [15]. Faza ciekłokrystaliczna powstająca w wyniku samoagregacji monoacylogliceroli może być wykorzystana do kontrolowanego uwalniania substancji czynnych, praktycznie nierozpuszczalnych w wodzie, przy czym kinetyka uwalniania zależy od rodzaju mezofazy. Możliwość ta została wykorzystywana w przypadku substancji leczniczych, takich jak tenoxicam [10] czy dioctan chlorheksydyny [5]. W dziedzinie nauk o żywności tego typu układy wykorzystano do kontrolowanego uwalniania związków zapachowych z fazy kubicznej [22], a także do przyspieszenia procesu postawania substancji zapachowych w modelowej reakcji Mailarda [23]. W tym ostatnim przypadku szybkość powstawania 2-furfurylotioliu (2-furylometanotiol FFT) z L-cysteiny i furfuralu była pięciokrotnie większa w fazie lamelarniej  $L_\alpha$  niż w wodzie.

### **Termotropowe ciekłe kryształy w kontroli i analizie procesów technologicznych**

Ciekłokrystaliczny stan materii charakteryzuje się specyficznym uporządkowaniem cząsteczek, z czego wynikają jego unikatowe właściwości oraz liczne zastosowania w technice. W przypadku procesów przetwarzania żywności są to przede wszystkim właściwości termooptyczne. Termotropowe ciekłe kryształy mogą być wykorzystane jako sensory w kontroli procesów technologicznych. Dotyczy to czujników temperatury wykorzystujących zdolności chiralnych substancji ciekłokrystalicznych do selektywnego odbicia światła. Związki te (np. benzoesan cholesterylu) charakteryzują się helikoidalnym uporządkowaniem cząsteczek. Jeżeli skok helikoidy jest porównywalny z długością fali świetlnej, następuje zjawisko selektywnego odbicia światła, przy czym barwa odbitego promieniowania zależy od skoku helikoidy, który z kolei jest bezpośrednio związany z temperaturą substancji [1]. W ten sposób można rejestrować zmiany temperatury z dokładnością do ułamka stopnia Celsjusza w zakresie od -30 do +115 °C, w zależności od zastosowanych mieszanin substancji ciekłokrystalicznych. Metoda ta stwarza możliwości nieinwazyjnych pomiarów współczynnika wnikania ciepła ( $h_{fp}$ ) w złożonych układach oraz kontroli zmian termicznych w czasie ogrzewania mikrofalowego lub zamrażania [2]. W Polsce efekt zmiany barwy substancji ciekłokrystalicznej pod wpływem temperatury zastosowano do kontrolowania procesu przechowywania piwa Żywiec (pojawienie się na naklejce hasła „Jednym słowem Żywiec” informowało o tym, że produkt osiągnął temperaturę odpowiednią do spożycia; w niewłaściwej temperaturze napis zanikał).

Zdolność do samoorganizacji cząsteczek substancji ciekłokrystalicznych znalazła zastosowanie w procesach rozdziału związków chemicznych metodami chromatograficznymi, które są szeroko stosowane w analizie żywności. Ze względu na wysoko uporządkowaną strukturę substancje w fazie ciekłokrystalicznej mogą być przydatne do rozdziału izomerycznych związków różniących się budową przestrzenną (np. *o*-, *m*- i *p*-ksyleny), w tym także enancjomerów. Ciekłe kryształy o budowie dyskowej (rys. 2b) zostały ponadto wykorzystane do konstrukcji sensorów wykrywających obecność substancji lotnych, takich jak: alkohole, estry czy niższe węglowodory. Ich podstawową zaletą jest duża odporność na zawartość wilgoci w badanych substancjach gazowych, co umożliwia przeprowadzanie analiz produktów spożywczych [3].

### Podsumowanie

Tworzenie się fazy ciekłokrystalicznej w produktach żywnościowych jest wynikiem samoagregacji amfifilowych (głównie lipidowych) składników oraz wody. W układach tych spotyka się szerokie spektrum mezofaz, głównie liotropowych (lamelarne, heksagonalne i kubiczne w zależności od składu i temperatury). Te nanostruktury mają wpływ na właściwości fizykochemiczne żywności, pozwalając na wprowadzenie nowych metod jej funkcjonalizowania czy stwarzając możliwości otrzymania produktów o obniżonej kaloryczności. W związku z tym, że powstawanie mezofazy w układach emulgator-woda umożliwia otrzymanie produktów o założonych właściwościach, zostały opracowane metody obliczeniowe bazujące na teorii pola samouzgodnionego [13], na podstawie których można przewidywać rodzaj powstającej fazy ciekłokrystalicznej, a także jej parametry, takie jak grubość warstwy wodnej, dwuwarstwy lipidowej czy wodnych lameli.

Niezależnie od roli, którą mezofaza odgrywa w tworzeniu tekstury produktów spożywczych, termotropowe ciekłe kryształy mogą być pomocne w analizie i kontroli procesów produkcyjnych.

### Literatura

- [1] Adamczyk A.: Niezwykły stan materii ciekłe kryształy. Wiedza Powszechna, Warszawa 1979.
- [2] Balasubramanian V.M., Sastry S.K.: Use of liquid crystals as temperature sensors in food processing research. *J. Food Eng.*, 1995, **26**, 219-230.
- [3] Clements J., Boden N., Gibson T.D., Chandler R.C., Hulbert J. N., Ruck-Keene E.A.: Novel, self-organising materials for use in gas sensor arrays: Betting the humidity problem. *Sensors and Actuators*, 1998, **B 47**, 37-42.
- [4] Collings P.J., Hird M.: *Introduction to liquid crystals; chemistry and physics*. Ed. Taylor & Francis, London 1997.
- [5] Farkas E., Zekó R., Németh Zs., Pálkás J., Marton S., Rác I.: The effect of liquid crystalline structure on chlorhexidine diacetate release. *Int. J. Pharm.*, 2000, **193**, 239-245.

- [6] Hatakeyama T., Naoi S., Hatakeyama H.: Liquid crystallization of glassy guar gum with water. *Thermochimica Acta*, 2004, **416**, 121-127.
- [7] Hertjee I., Roijers E.C., Hendricks H. A. M. C.: Liquid crystalline phases in the structuring of food products. *Lebensm.-Wiss.u-Technol.* 1998, **31**, 387-396.
- [8] Garti N., Sato K.: *Crystallization Processes In Fats and Lipid Systems*. Marcel Dekker, New York 2001.
- [9] Goodby J. W., Pfannemüller B., Welte W., Chin E., Goodby J. W.: Liquid-crystalline glycolipids: towards understanding the roles of liquid crystals in biological and life processes. *Liquid Crystals*, 2006, **33**, 1229-1245.
- [10] Makai M., Csányi E., Németh Zs., Pálincás J., Erős I.: Structure and drug release of lamellar liquid crystals containing glycerol. *Int. J. Pharm.*, 2003, **256**, 95-107.
- [11] Mezzenga R., Grigirov M., Zhang Z., Servais C., Sagalowicz L., Romoscanu A. I., Khanna V., Meyer C.: Polysaccharide-induced order-to-order transitions in liquid crystals. *Langmuir* 2005, **21**, 6165-6169.
- [12] Mezzenga R., Schurtenberger P., Burbridge A., Michel M.: Understanding food as soft matter. *Nature Materials*, 2005, **4**, 729-740.
- [13] Mezzenga R., Lee W.B., Fredrickson G.H.: Design of liquid-crystalline foods via field theoretic computer simulation. *Trends in Food Science & Technology*, 2006, **17**, 220-226.
- [14] Mezzenga R.: Equilibrium and non-equilibrium structures in complex food systems. *Food Hydrocolloids* 2007, **21**, 674-682.
- [15] Mosca M., Murgia S., Ceglie A., Monduzzi M., Ambrosone L.: Biocompatible lipid-based liquid crystals and emulsions. *J. Phys. Chem.* 2006, **110**, 25994-26000.
- [16] Parris N., Joubran R.F., Lu D. P.: Triglyceride microemulsions: Effect of nonionic surfactants and the nature of oil. *J. Agric. Food Chem.* 1994, **42** 1295-1299.
- [17] Rizvi T.Z.: Liquid crystalline biopolymers; a new arena for liquid crystals research. *J. Mol. Liquids*, 2003, **106**, 43-53.
- [18] Sagalowicz L., Leser M.E., Watzke H.J., Michel M.: Monoglyceride self-assembly structures as delivery vehicles. *Trends in Food Science & Technology*, 2006, **17**, 204-214.
- [19] Salonen A., Guillot S., Glatter O.: Determination of Water content in internally self-assembled monoglyceride-based dispersions from the bulk phase. *Langmuir* 2007, **23**, 9151-9154.
- [20] Stauffer C.E.: *Emulgatory*. WNT, Warszawa 2001.
- [21] Stewart G. T.: Liquid crystals in biology. *Liquid Crystals*, 2003, **30**, 543-557.
- [22] Vauthey S., Visani P., Frossard P., Garti N., Leser M. E., Watzke H. J.: Release of volatiles from cubic phases monitoring by gas sensors. *J. Dispersion Sci. Technol.*, 2000, **21**, 263-278.
- [23] Vauthey S., Milo C., Frossard P., Garti N., Leser M. E., Watzke H. J.: Structured fluids as microreactors for flavor formation by the Maillard reaction. *J. Agric. Food Chem.* 2000, **48**, 4808-4816.
- [24] Vill V., Hashim R.: Carbohydrate liquid crystals: structure-property relationship of thermotropic and lyotropic glycolipids. *Current Opinion In Colloid and Interface Science*, 2002, **7**, 395-409.

## ROLE OF LIQUID CRYSTAL PHASE IN FOOD PROCESSING PROCESSES


### S u m m a r y

In the paper, the literature is reviewed on the occurrence and role of liquid crystal phase in the food processing processes. Upon the description of general properties of liquid-crystal state of matter, it is discussed the significance of lyotropic mesophase occurring as the consequence of self-aggregation proc-



esses of amphiphilic components of food. First of all, this refers to systems containing emulsifiers such as lecithin, mono- and diacylglycerols, as well as esters of fatty acids and saccharose or sorbitan. The occurrence of liquid crystal phase plays an important role in the processes such as preparing products with a reduced calorific value (emulsion stabilization); it also impacts the crystallization progress of acylglycerols. The lyotropic liquid crystal systems can be also applied as carriers of some specific food additives, for example in a process of gradually releasing drugs and smell substances.

On the other hand, thermotropic liquid crystal substances, which do not usually occur in natural products, are applied to control some technological processes, for instance when constructing sensors detecting volatile substances such as alcohols, esters, or lower hydrocarbons, or constructing sensors in which chiral properties of liquid crystal substances are used to selective light reflection.

**Key words:** liquid crystal phase, amphiphilic compounds, emulsifiers, lyotropic phase, functional food 

## *Pro Scientia et Vita*

Fundacja Członków Wydziału Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych  
Polskiej Akademii Nauk  
00-901 Warszawa, Plac Kultury i Nauki, pok. 2102

Fundacja Pro Scientia et Vita

Ogłasza VII KONKURS

na

nagrody naukowe za rok 2009 z zakresu nauk rolniczych, leśnych,  
weterynaryjnych i o żywności – **termin zgłoszeń do 28 lutego 2009 r.**

Podstawowym wymogiem udziału w konkursie jest nieprzekroczony 35 rok życia oraz osiągnięcia badawcze i aktywna działalność w środowisku naukowym i naukowo-technicznym.

Regulamin przyznawania nagród, terminy oraz **wzory odpowiednich formularzy zgłoszeń** znajdują się na stronie internetowej:  
**[www.instytuja.pan.pl](http://www.instytuja.pan.pl) → Fundacje**

ANNA WOCIÓR, HENRYK KOSTYRA, MAŁGORZATA KUŚMIERCZYK

## LEKTYNY ŻYWNOŚCI

### Streszczenie

Lektyny scharakteryzowano w aspekcie ich chemicznej struktury, jako grupę glikoprotein o właściwościach hemaglutynacyjnych. Ponadto omówiono ich występowanie w świecie roślin i zwierząt oraz właściwości fizjologiczne i przeciwżywniowe. W podsumowaniu podkreślono, że żywność powinna być charakteryzowana pod względem zawartości glikoprotein, które wpływają na jej właściwości funkcjonalne i żywieniowe.

**Słowa kluczowe:** lektyny, fitohemaglutyniny, glikoproteiny, rośliny strączkowe, zatrucia

### Wprowadzenie

Z żywieniowego punktu widzenia białka traktuje się, z pewnym uproszczeniem, jako polipeptydy zbudowane wyłącznie z L-aminokwasów, jednak w dużej części są to białka złożone, należące do gliko-, fosfo-, metalo- i nukleoprotein. Grupą białek, która nie do końca ma zdefiniowaną aktywność biologiczną są glikoproteiny, białka o wyjątkowej roli strukturalno-informatycznej. Glikoproteiny są białkami powstającymi w wyniku potranslacyjnej enzymatycznej modyfikacji. Reszta cukrowa łączy się z łańcuchem polipeptydowym wiązaniem O-glikozydowym z resztami seryny i treoniny oraz N-glikozydowym z grupami amidowymi asparaginy. Termin ten obejmuje również białka nieenzymatycznie zglikolizowane, a ponadto jest obecnie rozważany także w odniesieniu do proteoglikanów. Do glikoprotein należą również lektyny.

### Charakterystyka lektyn

Lektyny (lectins) są określane jako hemaglutyniny, fitohemaglutyniny, fitoaglutyniny, fitozyny.

---

*Mgr A. Wociór, prof. dr hab. H. Kostyra, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Oddział Nauki o Żywności, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn, dr M. Kuśmierczyk, Olsztyńska Szkoła Wyższa im. J. Rusieckiego, ul. Bydgoska 33, 10-243 Olsztyn*

Odkrywcą lektyn jest Stillmark, który w 1888 r. opisał właściwości hemaglutynacyjne wyciągów z nasienia rącznika (*Ricinus communis*). Nazwę „lektyny” po raz pierwszy wprowadził Boyd, który chcąc zróżnicować zdolności aglutynacji krwinek czerwonych grup krwi przez ekstrakty z nasion, posłużył się łacińskim słowem *legere* (podnosić, wybierać) [31]. W późniejszym piśmiennictwie spotyka się wiele różnych określeń białek należących do grupy lektyn, a mianowicie, że są to:

- glikoproteiny reagujące z błonami komórkowymi, zbudowanymi z charakterystycznych kompleksów cukrowych, do których wykazują powinowactwo [28];
- białka, glikoproteiny pochodzenia nieimmunologicznego wykazujące odwracalną swoistość wiązania wolnych cukrów, aglutynacji komórek lub precypitacji glikokoniuatów [15, 20];
- białka pochodzenia nieimmunologicznego zdolne do swoistego, odwracalnego wiązania z resztami cukrowymi węglowodanów złożonych; połączenie to nie powoduje zmiany struktur kowalencyjnych żadnego z rozpoznanych zglikolizowanych ligandów [10];
- specyficzne aglutyniny i inne podobne do przeciwciał glikoproteiny nieimmunologicznego pochodzenia, które są zdolne aglutynować komórki i/lub strącać glikokoniuaty; są szeroko rozpowszechnione w nasionach, a także innych częściach roślin oraz w pozostałych organizmach od bakterii do ssaków. Zawierają one przynajmniej dwa miejsca wiążące cukier. Wiążą specyficzne cukry i przez to strącają pewne polisacharydy, glikolipidy i/lub aglutynują komórki zwierzęce oraz roślinne. Lektyny mogą wykazywać działanie mitogenne. Niektóre z nich są zdolne rozróżniać normalne i złośliwe komórki [18].

Lektyny, pomimo tego że są podobne do przeciwciał dzięki ich zdolności do łączenia się z odpowiednimi antygenami, to jednak nie stanowią elementu systemu immunologicznego, ich struktura jest odmienna, a specyfika ograniczona do węglowodanów [11].

## Występowanie

Najlepiej poznanymi lektynami pod względem budowy chemicznej oraz właściwości są lektyny pochodzenia roślinnego, jednak mogą one także występować w świecie zwierząt.

Bogatym źródłem lektyn są nasiona roślin motylkowatych (*Leguminosae*) i traw (*Gramineae*). Motylkowate większość lektyn zawierają w liścieniach, zarodku, śladowo w okrywach nasiennych. W roślinach jednoliściennych lektyny zlokalizowane są w zarodku. Obecność tych białek stwierdzono również w korzeniach, korze, liściach, owocach i bulwach [15].

Lektyny kręgowców dzieli się na dwie klasy:

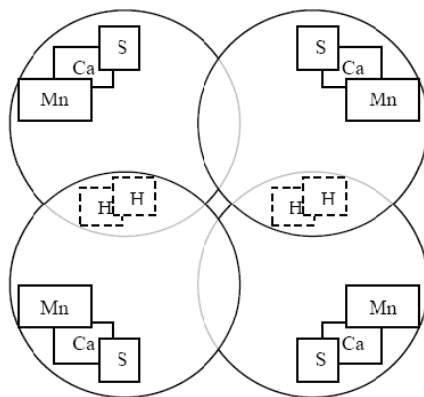
- integralne lektyny błonowe, wymagające do ekstrakcji detergentów (różnią się swoistością węglowodanową i właściwościami fizykochemicznymi; opisano m.in. receptory hepatocytów ssaków, lektynę z frakcji mikrosomalnej komórek nerki chomika, z komórek przerzutowego czerniaka B16, z mysich i ludzkich limfocytów),
- lektyny rozpuszczalne (lektyna swoista dla  $\beta$ -galaktozydu organu elektrycznego węgorza, również podobne lektyny znaleziono u płazów, ptaków i ssaków).

Lektyny bezkręgowców wykryto głównie w hemolimfie i narządach płciowych, a większość z nich wykazuje powinowactwo do kwasu sialowego [13].

### Synteza i struktura

Lektyny syntetyzowane są jako prolektyny w retikulum endoplazmatycznym. Po potranslacyjnym usunięciu peptydu sygnałowego prolektyny przechodzą z retikulum endoplazmatycznego przez aparat Golgiego do ciał białkowych, gdzie są magazynowane. Prolektyny mogą ulec glikozylacji, deglikozylacji i hydrolizie enzymatycznej [7, 16].

Ze względu na budowę lektyny dzieli się na jedno- i dwułańcuchowe. Lektyny dwułańcuchowe powstają na skutek proteolizy łańcucha prekursorowego, wynikiem czego jest utworzenie łańcucha  $\alpha$  i  $\beta$  [6].



S - miejsce wiązania cukru / saccharide binding site,  
H - miejsca hydrofobowe / hydrophobic sites.

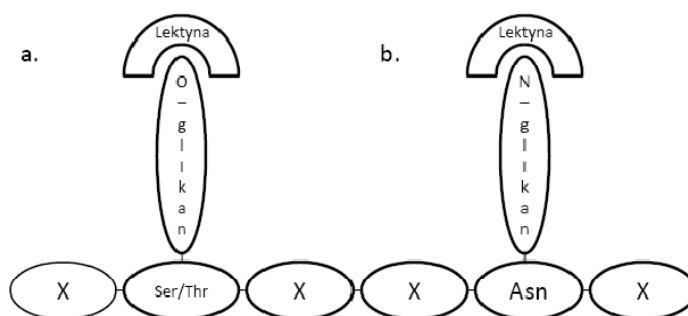
Rys. 1. Schemat budowy tetramery konkanawaliny A.  
Fig. 1. Scheme of tetrameric structure of concanavalin A.

Masa cząsteczkowa lektyn wynosi od  $12 \cdot 10^3$  do  $120 \cdot 10^3$  Da. Złożone są z 2 lub 4 cukrowo-białkowych podjednostek (tworzących odpowiednio dimer bądź tetramer),

z których każda ma miejsce do wiązania cukru (co tłumaczy zdolność lektyn do sieciowania komórek). Zdolność niekowalentnego przyłączenia reszt cukrowych zanika, jeśli lektyna zdysocjowana jest na podjednostki. Część cukrową tworzą najczęściej mannoza i glukoamina (wyjątek: konkanawalina Con A (*Canavalia ensiformis*) – brak cukru). W skład podjednostek mogą także wchodzić jony metali: wapnia, manganu, cynku i magnezu (rys. 1) [11, 28].

### Podział lektyn

Większość lektyn charakteryzuje zdolność wiązania pojedynczych cukrów, takich jak: mannoza, glukoza, N-acetyloglukozamina, galaktoza, N-acetyloglukozamina lub fukoza. Lektyny lepiej wiążą się z di-, tri-, tetra- i oligosacharydami aniżeli z monosacharydami, pomimo tego podany wraz z lektyną cukier prosty hamuje jej łączenie np. z glikokoniugatem znajdującym się na powierzchni komórek nabłonkowych przewodu pokarmowego [15, 31]. Czynniki wpływającymi na wiązanie cukrów przez lektyny są: typy wiązań występujących w oligosacharydach, położenie niezmodyfikowanych grup hydroksylowych w cukrach, struktura łańcucha oligosacharydowego, pozycja reszty cukrowej w łańcuchu oligosacharydowym, obecność łańcucha peptydowego [15].



Rys. 2. a. Wiązanie O-glikozydowe łączące oligosacharyd z resztą seryny lub treoniny białka.  
b. Wiązanie N-glikozydowe łączące oligosacharyd z resztą asparaginy białka.  
Fig. 2. a. O-glycosidic bond linking oligosaccharides to a serine or threonine residue of protein.  
b. N-glycosidic bond linking oligosaccharides to an asparagine residue of protein.

Struktury łańcuchów cukrowych występujące w glikoproteinach można podzielić na dwie grupy: A i B. Podziału dokonano na podstawie sposobu połączenia grup oligosacharydowych z łańcuchem polipeptydowym wiązaniem O-glikozydowym poprzez resztę seryny lub treoniny (grupa A – typ mucynowy), lub wiązaniem N-glikozydowym poprzez resztę asparaginy (grupa B) (rys. 2). Grupa A zawiera w rdzeniu N-acetylogalaktozaminę i galaktozę, z którymi mogą łączyć się liniowe bądź

rozgałęzione sekwencje zawierające D-galaktozę, kwas N-acetylonauraminowy, N-acetylo-D-glukozaaminę, N-acetylo-D-galaktozaminę, L-fukozę. Natomiast grupa B charakteryzuje się rdzeniem utworzonym z trzech mannoz i dwóch N-acetylo-glukozaamin. W rdzeniu tym wyróżnia się trzy główne typy łańcuchów oligosacharydowych, a mianowicie: 1) polimannozowy, 2) złożony, 3) hybrydowy [15].

### Właściwości

Lektyny wykazują wysoką oporność na degradację proteolityczną i są w stanie przetrwać w formie aktywnej pasaż jelitowy, powodując zaburzenia metabolizmu zarówno u ludzi, jak i u zwierząt [6]. Niektóre z glikoprotein są wysoce termostabilne ( $70^{\circ}\text{C} > 30 \text{ min}$ ) i nie ulegają całkowitej degradacji podczas gotowania. Oporność lektyn na proteolizę oraz na szeroki zakres pH środowiska obserwuje się nawet po wyizolowaniu ich z naturalnego miejsca występowania [21, 29].

Lektyny u ludzi i zwierząt wykazują zdolność do:

- aglutynacji erytrocytów (zastosowanie w badaniach grupowych erytrocytów krwi ludzkiej),
- aglutynacji komórek nowotworowych,
- tworzenia zmian w limfocytach,
- niszczenia enterocytów nabłonka dwunastnicy i jelita czczego,
- powodowania znacznego przerostu jelita cienkiego i zmian w jego mikroflorze,
- obniżenia aktywności enzymów proteolitycznych,
- tworzenia zmian morfologicznych w nerkach, wątrobie, trzustce,
- zaburzenia trzustkowego wydzielania i syntezy insuliny,
- znacznej redukcji rozmiarów grasicy.

Wobec powyższego lektyny mogą wywierać działanie przeciwwżywniowe, wykazując ujemny wpływ na wzrost (nasilony zanik mięśni szkieletowych) i wyniki produkcyjne zwierząt. Komórki mają na powierzchni charakterystyczny, tzw. „wzór cukrowy” pełniący rolę receptora cukrowego i poprzez lektyny możliwe jest m.in. łączenie się z podobnymi komórkami. Proces ten może zachodzić na odległość przez płyny ustrojowe. Jednakże aktywność ta może być zahamowana na skutek ich interakcji z odpowiednimi cukrami prostymi [25].

Lektyny znalazły zastosowanie w umiejscawianiu poszczególnych grup cukrowych w błonach komórkowych, na powierzchni błon śluzowych, gruczołów itp. [28]. Wskutek przyłączenia się lektyn do bocznych łańcuchów zglikolizowanych receptorów błonowych komórki mogą one naśladować działanie hormonów i czynników wzrostu, co może być potencjalnie wykorzystane w medycynie. Przez indukowanie wzrostu jelita i trzustki, niektóre lektyny mogą konkurować z nowotworami o składniki odżywcze i energetyczne, a także hamować rozwój nowych naczyń krwionośnych nowotworu i prowadzić do ich apoptozy (np. lektyna *Allium sativum*). Lektyny mogą być wyko-

rzystane do produkcji doustnych szczepionek, leków skierowanych do zmienionych chorobowo części jelita [1, 4, 8, 21, 22, 26]. Interesujące zastosowanie lektyn w badaniach medycznych stanowi ich aplikacja w celu zapobiegania odrzucenia przeszczepów szpiku kostnego. Lektyny soi mogą być wykorzystane do usunięcia dojrzałych komórek T odpowiedzialnych za odrzucenie przeszczepu [11].

W roślinach lektyny stanowią formę magazynowania cukrów w nasionach, pełnią funkcję ochronną ze względu na ich zdolność do zlepiania bakterii i wirusów. Odgrywają dużą rolę w mechanizmie symbiozy roślin motylkowatych z bakteriami *Rhizobium* [6, 28].

### Lektyny roślinne

Lektyny roślinne stanowią część diety człowieka. Zawarte są przede wszystkim w owocach, warzywach oraz przetworach zbożowych. Lektyny są odporne na proteolityczną degradację w trakcie pasażu jelitowego i dlatego pozostają aktywne biologicznie, wykazując charakterystyczne, przeciwżywniowe właściwości. Zależnie od cukrowej specyficzności lektyny wchodzą w interakcje z węglowodanowymi receptorami znajdującymi się na powierzchni jamy ustnej oraz odcinka żołądkowo-jelitowego. Jednakże niektóre z receptorów mogą być blokowane przez bakterie, grzyby i wirusy, wtedy też nie mogą reagować z roślinną lektyną [9].

Lektyny obecne są w produktach powszechnie spożywanych, lecz większość z nich może być inaktywowana przez obróbkę termiczną prowadzoną w trakcie procesów przemysłowych, jak i w gospodarstwach domowych. Obecność czynnych lektyn w pokarmie świeżym i przetworzonym, wskutek braku powszechnej wiedzy społecznej, może wywołać szkodliwe efekty żywieniowe, których liczne przykłady zostały udokumentowane. Noah i wsp. [17] w 1980 r. opisali 7 przypadków, w których 43 osoby uległy zatruciu wskutek przeciwżywniowego działania nieugotowanej bądź niedogotowanej fasoli 'Red Kidney' (*Phaseolus vulgaris*). W 1981 r. media ujawniły 330 takich wydarzeń z udziałem 880 osób. W większości przypadków konsumowana żywność zawierała wysokie stężenie lektyny PHA (Phytohaemagglutinin), której źródłem była surowa suszona fasola (*Phaseolus vulgaris*) [2, 11, 17, 29]. Podobne przypadki miały miejsce również w latach następnych [3] i dotyczyły także innych roślinnych składników żywności zawierających lektyny.

W doświadczeniach prowadzonych na zwierzętach, przeciwżywniowe właściwości roślinnych lektyn zawartych w karmie objawiały się m.in. utratą apetytu, spadkiem masy ciała, a niekiedy śmiercią.

W nasionach roślin strączkowych zawartość lektyn może sięgać 20 % wszystkich białek [6], dlatego też w diecie człowieka stanowią one główne źródło omawianych glikoprotein. Przykładami lektyn roślin spożywczych są lektyny fasoli 'Kidney' (*Phaseolus vulgaris*), fasoli 'Jaś' (*Canavalia ensiformis*) oraz soi (*Glycine max*).

Fasola 'Kidney' może zawierać pięć rodzajów izolektyn zbudowanych z podjednostek E lub/i L. Każda z nich jest słabo tolerowana zarówno przez ludzi, jak i zwierzęta. Podjednostki mają podobną masę cząsteczkową ok.  $30 \cdot 10^3$  Da, lecz nadają różną aktywność erytroaglutynacji (podjednostka E) lub leukoaglutynacji i aktywności mitogennej (podjednostka L). Udowodniono, że lektyny fasoli 'Kidney' są bardziej toksyczne od lektyn soi. O ile lektyny soi powodują opóźnienie wzrostu karmionych nimi zwierząt, to lektyny fasoli 'Kidney' wpływają na ubytek masy ciała aż do śmierci włącznie. Toksyczność tego rodzaju lektyn wywołana jest na skutek wiązania się ich z glikokoniugatami znajdującymi się na powierzchni komórek nabłonkowych od strony światła przewodu pokarmowego. Proces ten powoduje ciężkie uszkodzenia, anormalny rozwój mikrokosmków oraz inhibicję jelitowych enzymów trawiennych. Efektem tych zmian jest znaczne osłabienie wchłaniania składników pokarmowych [11, 23].

Lektyny fasoli indukują katabolizm tkanki tłuszczowej oraz glikogenu [5, 6]. Procesy te zachodzą bardzo szybko przy spożywaniu pokarmów o wysokiej zawartości PHA. U zwierząt doświadczalnych mobilizacja rezerw organizmu wiąże się z podwyższonym poziomem wolnych kwasów tłuszczowych oraz ketonów w surowicy i moczu. Wykazano także 20 – 25 % ubytek masy mięśni szkieletowych w ciągu 5 – 10 dni. Utrata ma związek z odwróceniem równowagi pomiędzy syntezą i degradacją białek mięśniowych [19]. Ostre objawy toksyczne powodowane przez pokarmowe lektyny fasoli bezpośrednio zależą od ilości lektyny wchłoniętej do ustroju [23].

Konkanawalina A (Con A) jest najlepiej poznaną lektyną roślinną. Stanowi ona tetramer o 4 identycznych jednostkach z masą cząsteczkową  $26 \cdot 10^3$  Da każda. Podjednostka zawiera miejsca wiążące jony  $Ca^{2+}$  i  $Mn^{2+}$ , a także cukry (głównie mannozę, glukozę lub glikoproteiny zawierające te cukry). Con A jako lektyna mannozospetyficzna wpływa w niewielkim stopniu na rozrost jelita cienkiego [11, 20].

Hemaglutynina o masie cząsteczkowej  $120 \cdot 10^3$  Da po raz pierwszy została wizolowana z soi (*Gycine max*) w 1952 r. przez Lienera [12]. Wykazuje swoistość wobec N-acetylogalaktozaminy. Doświadczenia potwierdziły rolę soi jako produktu przeciwnżywieniowego ze względu na obecność lektyn. Potwierdzono, że wykrycie w żywności dodatku białek soi, a następnie zniszczenie ich struktury i właściwości hemaglutynacyjnych podczas procesów termicznych skutkuje większym przyrostem masy ciała zwierząt karmionych tak przetworzonym surowcem. Modyfikacja soi polegająca na dezaktywacji bądź pełnej eliminacji genu lektyny umożliwi lepsze wykorzystanie tej rośliny w żywieniu [11, 24, 28].

Wiele lektyn stwierdzono także m.in. w soczewicy, pszenicy, grochu, nasionach słonecznika, orzechach, pomidorach, rybach oraz grzybach [14, 29, 30].

U ludzi glikozylacja powierzchniowych receptorów komórek zależy od kilku czynników, z których główną rolę może odgrywać grupa krwi. Rodzaj antygeny wy-



stępującego na powierzchni erytrocytów decyduje o indywidualnej reakcji człowieka na określoną lektynę zawartą w pokarmie. Wobec powyższego dietetycy zalecają unikanie spożywania pokarmów zawierających hemaglutyniny specyficzne dla naszej grupy krwi (w systemie A, B, AB lub 0) [27].

### Podsumowanie

W konkluzji należy stwierdzić, że udział lektyn w diecie człowieka może pełnić różnorakie biologiczne funkcje, dlatego też żywność powinna być charakteryzowana ze względu na obecność w niej glikoprotein.

### Literatura


- [1] Ambrosi M., Cameron N.R., Davis B.G.: Lectins: tools for the molecular understanding of the glycode. *Org. Biomol. Chem.*, 2005, **3**, 1593-1608.
- [2] Bender A.E., Reaidi G.B.: Toxicity of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) with particular reference to lectins. *J. Plant Foods*, 1982, **4**, 15-22.
- [3] Freed D.L.J.: Do dietary lectins cause disease? *BMJ*, 1999, **318**, 1023-1024.
- [4] Gabor F., Bogner E., Weissenboeck A., Wirth M.: The lectin-cell interaction and its implications to intestinal lectin-mediated drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2004, **56**, 459-480.
- [5] Grant G., de Oliveira J.T.A., Dorward P.M., Annand M.G., Waldron M., Pusztai A.: Metabolic and hormonal changes in rats resulting from consumption of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) or soybean (*Glycine max*). *Nutr. Rep. Intl.* 1987, **36**, 763-772.
- [6] Grant G., van Driessche E.: Legume lectins: physicochemical and nutritional properties. Recent advantages of research in antinutritional factors in legume seeds. – ed. A.F.B. van der Poel, J. Huisman, H.S. Saini. 2<sup>nd</sup> Int. Workshop on ANFs in legume seeds. EAAP Publication, Wageningen 1993, **70**, 219-233.
- [7] Higgins T.J., Chandler P.M., Zurawski G., Button S.C., Spencer D.: The biosynthesis and primary structure of pea seed lectin. *J. Biol. Chem.*, 1983, **258**, 9544-9549.
- [8] Karasaki Y., Tsukamoto S., Mizusaki K., Sugiura T., Gotoh S.: A garlic lectin exerted an antitumor activity and induced apoptosis in human tumor cells. *Food Res Int*, 2001, **34**, 7-13.
- [9] Kennedy J.F., Palva P.M.G., Corella M.T.S., Cavalcanti M.S.M., Coelho L.C.B.B.: Lectins, versatile proteins of recognition: a review. *Carbohydrate Polymers*, 1995, **26**, 219-230.
- [10] Kocourek J., Horejsi V.: Defining a lectin. *Nature*, 1981, **290**, 188.
- [11] Liener I.E.: Plant lectins: properties, nutritional significance and function. *Antinutrients and Phytochemicals In Food*. – ed. F. Shahidi. ACS Symposium No 662, Washington D. C. 1997, pp. 31-43.
- [12] Liener I.E.: Soyin, a toxic protein from the soybean. I: Inhibition of rat growth. *J. Nutr.*, 1953, **49**, 527-535.
- [13] Lis H., Sharon N.: Lectins as molecules and as tools. *Ann. Rev. Biochem.*, 1986, **55**, 35-67.
- [14] Liu Q., Wang H., Ng T.B.: First report of a xylose-specific lectin with potent hemagglutinating, antiproliferative and anti-mitogenic activities from a wild ascomycete mushroom. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006, **1760**, 1914-1919.
- [15] Lorenc-Kubis I.: Lektyny roślin wyższych i ich specyficzność węglowodanowa. *Wiadomości Botaniczne*, 1998, **42** (1), 21-33.
- [16] Loris R., Hamelryck T., Bouckaert J., Wyns L.: Legume lectin structure. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, **1383**, 9-36.

- [17] Noah N.D., Bender A.E., Reaidi G.B., Gilbert R.J.: Food poisoning from red kidney beans. *Brit. Med. J.*, 1980, **281**, 236-237.
- [18] Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology. Oxford University Press Inc., New York, 2003, p. 370.
- [19] Palmer R.M., Pusztai A., Bain P., Grant G.: Changes in rates of tissue protein synthesis in rats induced *in vivo* by consumption of kidney bean lectins. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1987, **88C**, 179-183.
- [20] Pusztai A., Bardocz S.: Lectins in health and therapy. Effects of antinutrients on the nutritional value of legume diets. - pod red. S. Bardocz, G. Hajós, A. Pusztai. COST98, European Communities, Luxembourg 1999, **6**, 1-13.
- [21] Pusztai A.: Biological effects of plant lectins on the gut: Metabolic consequences and applications. Effects of antinutrients on the nutritional value of legume diets. 11<sup>th</sup> Workshop Gut as a target of functional foods, Budapest, Hungary, 1999.
- [22] Pusztai A.: Dietary lectins are metabolic signals for the gut and modulate immune and hormonal functions. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1993, **47 (10)**, 691-699.
- [23] Pusztai A.: Plant Lectins. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1991.
- [24] Rizzi C., Galeoto L., Zoccatelli G., Vincenzi S., Chignola R., Peruffo A.D.B.: Active soybean lectin in foods: quantitative determination by ELISA using immobilised asialofetuin. *Food Res. Int.*, 2003, **36**, 815-821.
- [25] Rudiger H., Siebert H.C., Solis D., Jimenez-Barbero J., Romero A., von der Lieth C.W., Diaz-Marino T., Gabius H.J.: Medicinal chemistry based on the sugar code: fundamentals of lectinology and experimental strategies with lectins as targets. *Curr. Med. Chem.*, 2000, **7 (4)**, 389-416.
- [26] Smart J.D.: Lectin-mediated drug delivery in the oral cavity. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2004, **56**, 481-489.
- [27] Szedlak-Vardocz V.: Enzymy wspomagające trawienie. *Nutrition & Health*, 2006, **4 (35)**, 1-16.
- [28] Truchliński J., Starczynowska R.: Lektyny i ich rola w organizmie. *Med. Wet.*, 1999, **55 (6)**, 362-366.
- [29] Vasconcelos I.M., Oliveira J.T.A.: Antinutritional properties of plant lectins. *Toxicon*, 2004, **44**, 385-403.
- [30] Wang H., Ng T.B.: A lectin with some unique characteristics from the samta tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2006, **44**, 181-185.
- [31] Żeromski J.: Zastosowanie lektyn w histochemii. W: *Immunocytochemia* - pod red. M. Zabel. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1988, s. 182-195.

## FOOD LECTINS

### S u m m a r y

From the aspect of their chemical structure, lectins were characterized as a group of glycoproteins showing haemagglutination properties. The discussion also included their occurrence in the world of plants and animals, as well as their physiological and anti-nutritional properties. In the summary, it was emphasized that food should be characterized from the point of view of the content of glycoproteins impacting its functional and dietary properties.

**Key words:** lectins, phytohaemagglutinins, glycoproteins, leguminous plants, intoxications 

ADRIANA NOWAK, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ

## KARCINOGENNA AKTYWNOŚĆ MIKROORGANIZMÓW JELITOWYCH

### Streszczenie

W jelicie grubym człowieka występuje złożony ekosystem, składający się z ponad 1000 gatunków mikroorganizmów, które odgrywają bardzo ważną rolę w metabolizmie składników pokarmowych i zapewnieniu zdrowia człowieka. Wiele produktów tego metabolizmu może sprzyjać rozwojowi nowotworów jelita grubego. Główną rolę w tworzeniu związków karcynogennych odgrywają bakteryjne enzymy:  $\beta$ -glukuronidaza,  $\beta$ -glukozydaza, nitroreduktaza, 7- $\alpha$ -dehydroksylaza,  $\beta$ -galaktozydaza i azoreduktaza. Ich produktami mogą być groźne dla zdrowia człowieka: związki fenolowe i indolowe, aglikony flawonoidowe, barwniki azowe, fekapentaeny, estrogeny oraz drugorzędowe kwasy żółciowe.

**Słowa kluczowe:** mikroorganizmy jelitowe, karcynogeny

### Wprowadzenie

Karcynogeny w jelicie grubym można podzielić na egzogenne (przedostające się do organizmu człowieka na przykład wraz z dietą) oraz endogenne (powstające w wyniku aktywności mikroorganizmów jelitowych) [17]. Aktywność enzymatyczna mikroorganizmów jelitowych prowadzi do generowania wielu produktów genotoksycznych, mutagennych i karcynogennych niebezpiecznych dla zdrowia człowieka (tab. 1).

Mikroorganizmy jelitowe mogą aktywować związki prokarcynogenne, dostające się do organizmu człowieka wraz z dietą, ale także te, które są wydzielane wraz z żółcią do jelita grubego [13]. Tworzenie szkodliwych metabolitów przez mikroorganizmy jelitowe może nastąpić poprzez [2]:

- enzymatyczne usunięcie z danego związku grupy detoksykacyjnej przyłączonej do karcynogenu w wątrobie;

Tabela 1

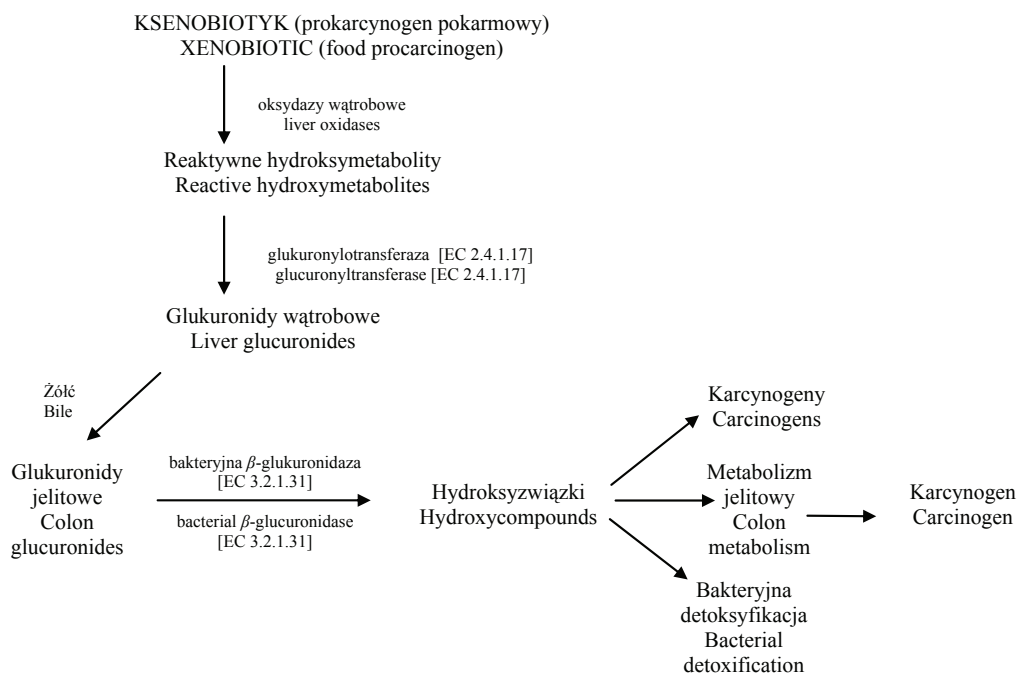
Produkty aktywności mikroorganizmów jelitowych.  
Products resulting from the activity of intestinal microbiota.

Aktywność Activity	Przykład metabolizmu bakteryjnego Example of bacterial metabolism
Aktywacja promutagenów i prokarcynogenów do związków toksycznych, mutagenów i karcynogenów Activation of promutagens and procarcinogens to toxic compounds, mutagens and carcinogens	Redukcja azo- i nitrozozwiązków Reduction of azo- and nitroso compounds Formowanie aglikonów z glikozydów flawonoidowych Forming aglycones from flavonoid glycosides Konwersja karcynogenu IQ do mutagenu bezpośredniego 7-OHIQ Conversion of carcinogen IQ to a direct-acting mutagen 7-OHIQ
Synteza karcynogenów i mutagenów Synthesis of carcinogens and mutagens	Formowanie związków N-nitrozowych ze źródeł endogennych oraz jonów azotanowych(III) i (V) Forming N-nitroso compounds from endogen sources and nitrite/nitrate ions Formowanie fekapentaenów z eterowych fosfolipidów Forming faecapentaenes from ether phospholipides
Synteza promotorów Synthesis of promoters	Metabolizm kwasu cholowego i chenodeoksycholowego do deoksycholowego i lithocholowego Metabolism of cholic and chenodeoxycholic acids to deoxycholic and lithocholic acids Degradacja białek do amoniaku, fenoli, indoli, skatoli i krezoli. Degradation of proteins to ammonium, phenols, indoles, skatoles, and cresoles Formowanie fekapentaenów z eterowych fosfolipidów Formation of faecapentaenes from ether phospholipides

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [9] / the authors' own study on the basis of [9].

- aktywację prokarcynogenów (związki rakotwórcze wymagające wstępnej aktywacji metabolicznej i działające pośrednio poprzez ich aktywne metabolity) przedostających się do organizmu wraz z dietą;
- metabolizm substancji endogennych do karcynogenów lub promotorów (związków o aktywności promującej powstawanie i rozwój guzów).

Potencjalnie szkodliwe związki przedostające się do organizmu wraz z dietą podlegają przemianom zachodzącym w wątrobie, tj. utlenianiu z udziałem cytochromu P<sub>450</sub> do glukuronidów, a następnie wraz z żółcią są wydzielane do jelita, w którym kwaśna, po opuszczeniu żołądka, miazga pokarmowa jest zobojętniana [13]. Jest to tzw. glukuronidacja ksenobiotyków, która ma na celu ich detoksyfikację i usunięcie poza organizm (rys. 1) [7].



Rys. 1. Przemiany glukuronidów jelitowych przez mikroorganizmy.

Fig. 1. Transformation of colon glucuronides by intestinal microbiota.

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [2 i 20] / the authors' own study on the basis of [2, 20].

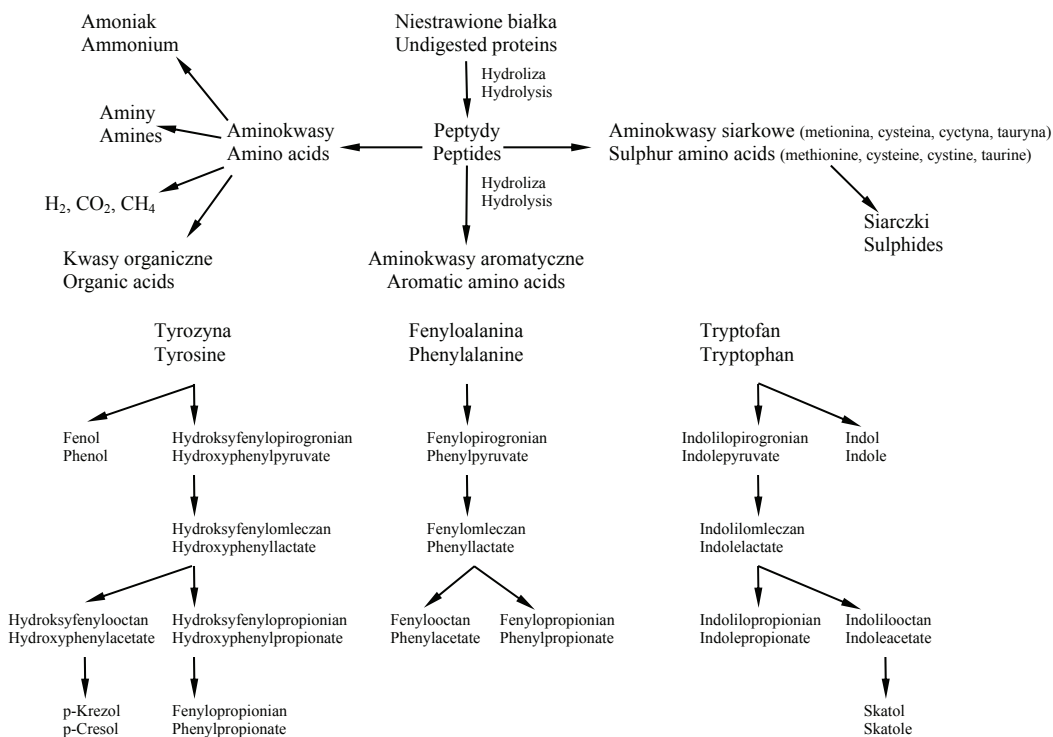
Ponad 97 % soli żółciowych jest aktywnie reabsorbowana w jelicie krętym i zwracana do wątroby poprzez żyłę wrotną. Jednak reszta soli oraz związanych z nią ksenobiotyków przechodzi do jelita grubego, w którym następuje ich przemiana przez mikroorganizmy jelitowe i uwalnianie związków biologicznie aktywnych, o właściwościach toksycznych, mutagennych i karcynogennych [13]. Związki te, przechodząc wraz z żółcią przez przewód pokarmowy, mogą zostać przekształcone przez enzymy bakterii jelitowych z uwolnieniem części glukuronidowej oraz toksycznego metabolitu [3, 9, 13]. W powstawanie lub aktywację związków karcynogennych w jelicie grubym są zaangażowane enzymy bakteryjne (tzw. fekalne), z których najważniejszymi są:  $\beta$ -glukuronidaza (EC 3.2.1.31),  $\beta$ -glukozydaza (EC 3.2.1.21), nitroreduktaza (EC 1.7.1.1), reduktaza azotanowa (EC 1.7.1.), 7- $\alpha$ -dehydroksylaza (EC 1.1.1.159),  $\beta$ -galaktozydaza (EC 3.2.1.23), azoreduktaza (EC 1.7.1.6), hydrolaza glikocholanowa (EC 3.5.1.24) i ureaza (EC 3.5.1.5) [9, 16, 27]. Wzrost aktywności tych enzymów w kale wskazuje na niekorzystne zmiany w układzie mikroorganizmów jelitowych.

Karcynogeny powstające lub przekształcane w jelicie grubym przez mikroorganizmy jelitowe to głównie [9, 16]: fenole, krezole, indole, skatole, aglikony flawonoidowe, barwniki azowe, fekapentaeny, drugorzędowe kwasy żółciowe oraz estrogeny.

### Związki fenolowe i indolowe

Badania *in vivo* wykazały, że jelitowy metabolizm białek (tzw. fermentacja białkowa) zachodzący przy udziale mikroorganizmów jelitowych prowadzi do wytworzenia wielu produktów genotoksycznych, mutagennych i karcynogennych.

Dzienna ilość związków białkowych przedostających się do jelita grubego człowieka, głównie w postaci białek rozpuszczalnych (48-51 %) i peptydów (20-30 %) wynosi od 3 do 25 g [21]. Białka te pochodzą zarówno z diety, jak i ze źródeł endogennych, takich jak enzymy wątrobowe oraz z wydzielania wewnętrznego (w jamie ustnej, żołądka, wątrobie i jelicie cienkim). Do jelita grubego białka przedostają się w postaci produktów lizy, śluzu jelitowego, złuszczonych komórek śluzowych i nabłonkowych, a także białek wydzielanych przez bakterie [9, 10, 12, 21]. Białka, które nie uległy strawieniu i wchłonięciu w jelicie cienkim, są rozkładane w jelicie grubym przez endopeptydazy oraz proteiny mikroorganizmów jelitowych, gdyż są one bogatym źródłem azotu oraz energii. Efektem proteolizy białek i oligopeptydów jest ich rozkład do aminokwasów, a te mogą następnie ulec rozkładowi bezpośrednio przez bakterie w jelicie grubym [11, 22]. Wykorzystywanie białek jako źródła energii na drodze fermentacji białkowej jest zjawiskiem rzadkim i zachodzi tylko wtedy, gdy zostaną wyczerpane zapasy węglowodanów [21]. Proces ten przeprowadzają bakterie proteolityczne, głównie z rodzajów *Bacteroides* i *Propionibacterium*, a także w mniejszym stopniu *Streptococcus*, *Clostridium*, *Bacillus* i *Staphylococcus* [21, 22, 23]. Produkty tej fermentacji to SCFA (*short chain fatty acids* - krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe), BCFA (*branched chain fatty acids* - kwasy tłuszczowe o rozgałęzionych łańcuchach), wodór oraz CO<sub>2</sub>. Ponadto związki toksyczne, takie jak: amoniak, aminy, związki fenolowe i indolowe, powstają w wyniku reakcji deaminacji, dekarboksylacji oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -eliminacji, która polega na odłączeniu dwóch podstawników od atomu węgla ( $\alpha$ -eliminacja) lub od dwóch sąsiadujących ze sobą atomów węgla ( $\beta$ -eliminacja) w cząsteczce związku [9, 10, 22]. Wiele związków fenolowych i indolowych, w tym fenol, p-krezol oraz 4-etylofenol jest tworzonych w wyniku rozkładu aminokwasów aromatycznych (fenyloalaniny, tyrozyny i tryptofanu), na drodze reakcji deaminacji, transaminacji, dekarboksylacji i dehydrogenacji (rys. 2). Aminokwasy aromatyczne powszechnie występują w mleku, jajach, wołowinie oraz niektórych sztucznych słodzikach.



Rys. 2. Produkty przemian białek w jelicie grubym człowieka.

Fig. 2. Products of proteins metabolism in human colon.

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [9 i 20] / the authors' own study on the basis of [9, 20].

W organizmie człowieka związki te podlegają reakcji sprzęgania z siarczanami albo glukuronidami w wątrobie, a następnie są wydzielane wraz z żółcią i wydalone wraz z moczem (rys. 1). Jednak część sprzężonych związków glukuronidowych, pod wpływem bakteryjnej  $\beta$ -glukuronidazy, ulega hydrolizie w jelicie grubym, co powoduje uwolnienie karcynogenów. W wyniku późniejszych przemian są przekształcane do związków genotoksycznych, mutagennych oraz karcynogennych. Wykazano, że względne beztlenowce, tj. *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus faecalis* i *Staphylococcus albus* są zdolne do syntezy fenolu, natomiast beztlenowce *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium* sp., *Bifidobacterium* sp. i *Clostridium* sp. do syntezy p-krezolu [10]. Za wytwarzanie związków indolowych (w tym indolu) odpowiedzialne są *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Escherichia coli* i *Citrobacter* sp., które dzięki aktywności tryptofanazy przekształcają tryptofan do indolu. *Bacteroides*

*fragilis* oraz *Peptostreptococcus asaccharolyticus* mogą przekształcać tyrozyne do fenolu [10].

Ureaza – enzym wykryty głównie u bakterii z rodzajów *Bacteroides*, *Proteus* i *Klebsiella*, odpowiada za hydrolizę mocznika do amoniaku, zwiększając tym samym pH kału, co wskazuje na zagrożenie nowotworem jelita grubego.

Bakterie jelitowe, głównie z rodzaju *Clostridium* oraz *Bacteroides*, w wyniku aktywności proteolitycznej wytwarzają proste aminy alifatyczne (metyloaminę, dimetyloaminę, propyloaminę, butyloaminę 2-metylobutyloaminę), poliaminy (putrescynę, kadawerynę, pyrolidynę, piperidynę, histaminę) oraz aminy aromatyczne (tyraminę, tryptaminę, fenyloetyloaminę), które mogą z kolei być substratami w reakcji nitrozowania, prowadzącej do powstania rakotwórczych związków N-nitrozowych [12]. Wytwarzanie związków indolowych i fenolowych, a także amin przez mikroorganizmy jelitowe zależy nie tylko od diety, lecz również od aktywności sekrecyjnej przewodu pokarmowego, wydzielania gruczołów dokrewnych, a także od składu ilościowego i jakościowego mikroorganizmów jelitowych [12]. Dieta wysokobiałkowa powoduje zwiększone wydalanie amoniaku z kałem oraz p-krezolu w moczu. Ponadto fenol i jego pochodne obecne są w wielu źródłach egzogennych, gdyż mogą być dostarczane do organizmu wraz z lekami, dymem papierosowym (jeden papieros zawiera 60-140  $\mu\text{g}$  fenolu). Powszechnym źródłem fenolu są kawa, napoje alkoholowe, produkty mleczne, wołowina, różnego rodzaju prażone orzeszki, herbata czarna i zielona, niektóre herbaty ziołowe, miód, kakao, a także owoce i warzywa, choć w mniejszym stopniu. U dzieci karmionych mieszankami sztucznymi wykryto o wiele wyższy poziom amoniaku, fenolu i p-krezolu w moczu oraz wyższą aktywność ureazy,  $\beta$ -glukozydazy i  $\beta$ -glukuronidazy w wodzie kałowej niż u dzieci karmionych piersią. Związane to jest z niekorzystnymi zmianami ilościowymi i jakościowymi w składzie mikroorganizmów jelitowych. Fizjologiczny poziom fenolu, p-krezolu oraz indolu w dolnych odcinkach przewodu pokarmowego jest niski. Obserwuje się jednak znacznie mniejsze stężenia tych związków w części dystalnej (zstępującej), niż proksymalnej (wstępującej) okrężnicy. Związane jest to z wysoką aktywnością proteolityczną mikroorganizmów w części dystalnej okrężnicy. Po inkubacji treści jelitowej z części proksymalnej okrężnicy *in vitro* z aminokwasami aromatycznymi zaobserwowano, że tworzy się 1,0 mmol fenolu/kg treści jelitowej/h, 0,32 mmol p-krezolu/kg treści jelitowej/h oraz 0,06 mmol indolu/kg treści jelitowej/h [21]. Znacznie większe ich stężenie zaobserwowano w części dystalnej jelita grubego: 3,0 mmol fenolu/kg treści jelitowej i 4,0 mmol p-krezolu/kg treści jelitowej. Inkubacja *in vitro* wykazała, że fenol powstawał najszybciej, natomiast indol najwolniej. Ci sami autorzy prowadzili pomiar stężenia fenolu, p-krezolu i indolu w próbkach testowych po inkubacji mikroorganizmów jelitowych, ale przy różnym rozcieńczeniu. Stwierdzili obecność fenolu w stężeniach od 0,06 do 0,22 mmol/l ( $\approx$  5,7 - 20,7  $\mu\text{g/ml}$ ); p-krezolu do 0,46 mmol/l ( $\approx$  50  $\mu\text{g/ml}$ ) oraz indolu



do 0,06 mmol/l ( $\approx 7 \mu\text{g/ml}$ ) indolu [21]. Wykazano, że stężenie metabolitów po fermentacji białek w części dystalnej okrężnicy (głównie fenolu i p-krezolu) jest znacznie wyższe (95 mmol fenolu/kg mokrej masy treści jelitowej i 23 mmol p-krezolu/kg mokrej masy treści jelitowej) niż w części proksymalnej (1,48 mmol fenolu/kg mokrej masy treści jelitowej i 0,46 mmol p-krezolu/kg mokrej masy treści jelitowej). Inni autorzy wskazują, że dziennie wraz z moczem wydalanych jest 25,6  $\mu\text{g}$  fenolu, 87,3  $\mu\text{g}$  p-krezolu oraz 301,6  $\mu\text{g}$  indolu [25].

Związki fenolowe oraz indolowe mogą powodować wiele chorób zarówno ludzi, jak i zwierząt. Działają niekorzystnie na nabłonek jelitowy. Fenol oraz indol, a także metabolity tryptofanu (indolilooctan, indolilopropionian) mogą indukować nowotwory jelita grubego. Zachowują się raczej jak promotory (czynniki wywołujące rozwój guza) niż bezpośrednie karcynogeny. Fenole zachowują się jak kokarcynogeny (czynniki nie inicjujące rozwoju nowotworów, ale zwiększające działanie związków rakotwórczych) oraz mogą powodować schizofrenię. Fenol oraz jego pochodne (1,4-dihydroksybenzen = hydrochinon) pochodzące z diety, a także powstające w wyniku aktywności mikroorganizmów jelitowych są głównymi czynnikami białaczek [14]. Produkty fermentacji białek ograniczają żywotność komórek nabłonkowych jelita oraz powodują zapalenie jelita grubego. Ponadto, badania *in vitro* wykazały, że fenol katalizuje reakcję nitrozowania dimetyloaminy do karcynogenu – N-nitrozodimetyloaminy, a reakcja fenolu oraz indolu z azotanami(III) prowadzi do powstania diazochinonu, związku o działaniu mutagennym [10]. Stwierdzono, że indol może prowadzić do rozwoju nowotworów jelita grubego oraz pęcherza moczowego [21], natomiast p-krezol hamuje wzrost młodych świń oraz powoduje nadpobudliwość u dzieci [12].

Międzynarodowa Agencja do Badań nad Rakiem (IARC) zaklasyfikowała (8 kwietnia 2003 r.) jednak fenol, jako związek niekarcynogeny dla ludzi [27].

### **Aglikony flawonoidowe**

Glikozydy flawonoidowe występujące naturalnie w roślinach, to związki złożone z niecukrowego, niskocząsteczkowego podstawnika (aglikonu) połączonego wiązaniem glikozydowym z częścią cukrową. Dzielne spożycie glikozydów przez człowieka wynosi od 50 do 1000 mg, a ich głównym źródłem są owoce, warzywa oraz napoje pochodzenia roślinnego, takie jak herbaty ziołowe i wino [9, 16]. Glikozydy w spożywanej formie są nieszkodliwe. Większość z nich nie ulega strawieniu i są wtedy transportowane do jelita grubego, w którym enzymy bakteryjne  $\beta$ -glikozydazy ( $\beta$ -glukuronidaza,  $\beta$ -galaktozydaza,  $\beta$ -glukozydaza) rozkładają je do aglikonów oraz części cukrowych, które mogą być wykorzystane jako źródło energii (tab. 2).

Tabela 2

Mikroorganizmy jelitowe o aktywności  $\beta$ -glikozydaz.

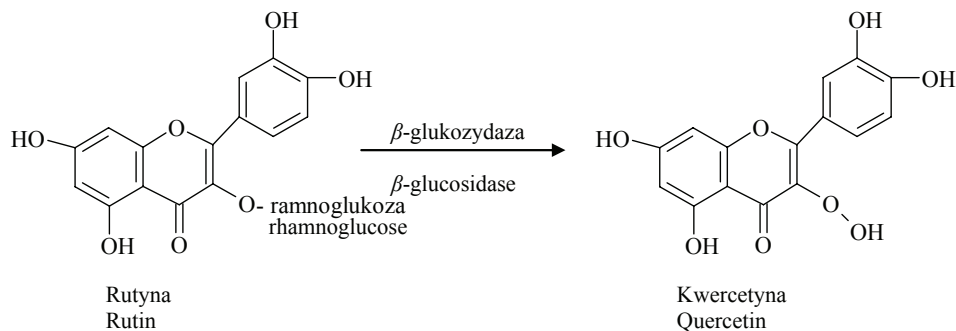
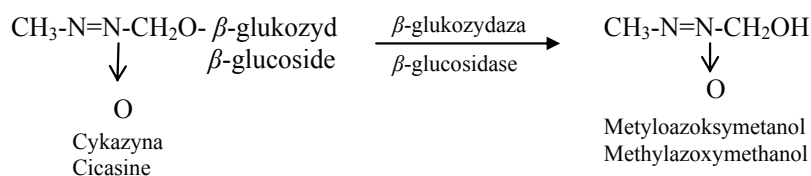
$\beta$ -glicosidase activity in intestinal microbiota.

Enzym Enzyme	Rodzaje lub gatunki bakterii Genera or species of bacteria
$\beta$ -glukozydaza $\beta$ -glucosidase	<i>Bacteroides uniformis</i> <i>Bacteroides ovatus</i> <i>Enterococcus faecalis</i>
$\beta$ -glukuronidaza $\beta$ -glucuronidase	<i>Bacteroides fragilis</i> <i>Bacteroides vulgatus</i> <b><i>Bacteroides thetaiotaomicron</i></b> <i>Eubacterium eligens</i> <i>Peptostreptococcus sp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Clostridium sp.</i>
$\beta$ -galaktozydaza $\beta$ -galactosidase	<i>Escherichia coli</i> <i>Bacteroides distasonis</i>

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [3 i 13] / the authors' own study on the basis of [3, 13].

Glikozydy w jelicie grubym człowieka mogą pochodzić z dwóch źródeł: z diety oraz z przemian zachodzących w wątrobie - utleniania z udziałem cytochromu P<sub>450</sub> do glukuronidów, a następnie wydzielania ich wraz z żółcią do jelita grubego. W wątrobie są przekształcane przez mikroorganizmy jelitowe do biologicznie aktywnych aglikonów, które wykazują właściwości toksyczne, mutagenne i karcynogenne [7]. Do mikroorganizmów o najwyższej aktywności  $\beta$ -glukuronidazy należą *Escherichia coli* i *Clostridium sp.*, natomiast *Bacteroides sp.* oraz *Enterococcus faecalis* charakteryzują się największą aktywnością  $\beta$ -glukozydazy [3].  $\beta$ -glukozydaza przekształca rutynę w kwercetynę (rys. 3).

Wykazano, że kwercetyna jest promotorem guzów jelitowych u szczurów. Cykazyna – związek występujący w korzeniu, liściach oraz orzechach tropikalnej palmy – może być hydrolizowany przez mikroorganizmy jelitowe do genotoksycznego metyloazoksymetanolu (MAM) (rys. 4).

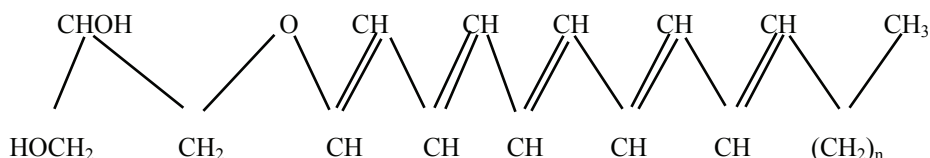
Rys. 3. Przekształcenie rutyny przez  $\beta$ -glukozydazę bakterii jelitowych.Fig. 3. Transformation of rutin by  $\beta$ -glucosidase of intestinal microbiota.Rys. 4. Bioaktywacja cykazyny przez  $\beta$ -glukozydazę bakterii jelitowych.Fig. 4. Bioactivation of cicasin by  $\beta$ -glucosidase of intestinal microbiota.

W doświadczeniach ze szczurami wykazano, że MAM był formowany w wyniku bakteryjnej aktywności z 1,2-dimetylohydrazyny (DMH) – modelowego karcynogenu powodującego nowotwór jelita grubego. Zarówno rutyna, jak i cykazyna nie są mutagenne, ale mogą stać się karcynogenami po aktywacji przez mikroorganizmy jelitowe.  $\beta$ -galaktozydaza z kolei katalizuje przemianę robininy (kemferolo-3-O-galaktozydoramnozydo-7-O-ramnozyd), występującej w kwiatach robini akacyjowej stosowanej w ziołolecznictwie, do kemferolu, który, jak wykazano w teście Ames, jest mutagenem. Reakcję tę przeprowadzają jelitowe bakterie *Bacteroides distasonis* [3].

Toksyczność i mutagenność aglikonów flawonoidowych pozostaje w sprzeczności z raportami dotyczącymi antymutagennego działania tych związków. Jednak prawdą jest, że hydroliza glikozydów roślinnych w jelicie grubym prowadzi do wytworzenia związków korzystnych, jak i szkodliwych dla zdrowia człowieka.

### Fekapentaeny (FP)

Zidentyfikowanymi do tej pory fekapentaenami są związki zbudowane z eteru glicerylowego zawierającego część pentaenową, o długości łańcucha 12 i 14 atomów węgla w cząsteczce (rys. 5).



Rys. 5. Budowa chemiczna FP-12 ( $n = 1$ ) i FP-14 ( $n = 3$ ).

Fig. 5. Chemical structure of FP-12 ( $n = 1$ ) and FP-14 ( $n = 3$ ).

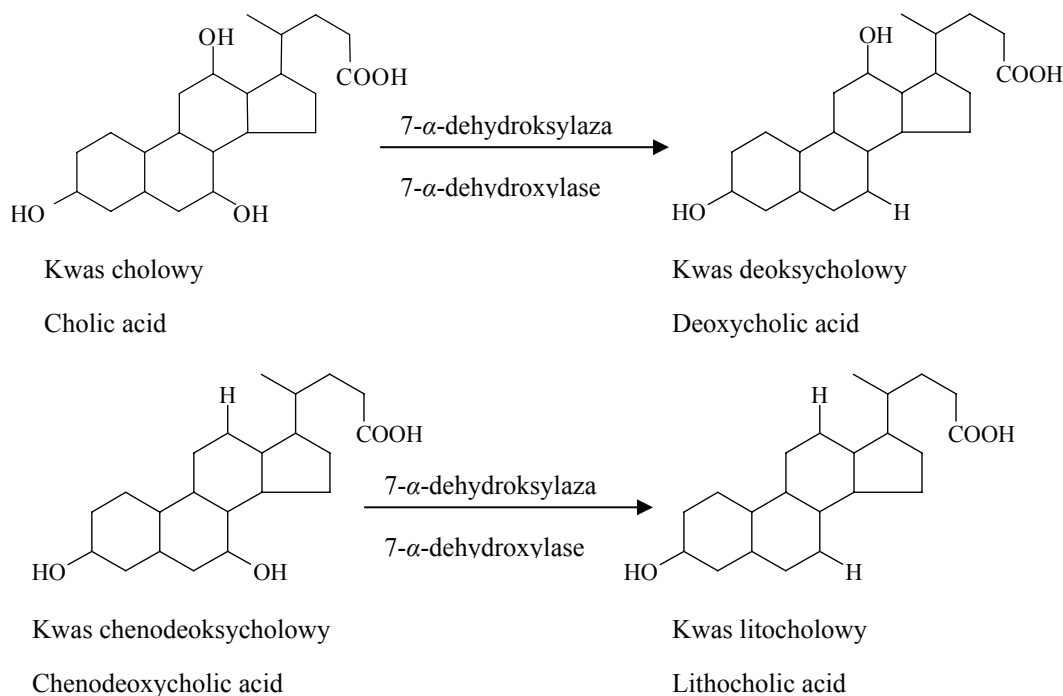
Obecność FP w kale człowieka związana jest z dietą bogatą w białka zwierzęce. W badaniach *in vitro* wykazano, że za powstawanie tych związków są odpowiedzialne bakterie jelitowe z rodzaju *Bacteroides* [9]. Pochodzenie prekursorów fekapentaenów jest dosyć niejasne: mogą pochodzić z diety, błon bakteryjnych lub tkanek jelita grubego. Syntezie tych związków mogą sprzyjać kwasy żółciowe [6].

W teście Amesa wykazano wysoką genotoksyczność fekapentaenów [20]. W badaniach *in vitro* z wykorzystaniem ludzkich fibroblastów wykazano, że są mutagenami bezpośrednimi powodującymi jednoniciowe pęknięcia DNA, mutacje genowe, aberracje chromosomowe, wymiany siostrzanych chromatyd, a także niekontrolowane syntezy DNA. Stwierdzono także, że FP mogą być czynnikami promującymi powstawanie guzów u szczurów [8]. Wyniki badań epidemiologicznych są całkowicie sprzeczne, ponieważ wskazują na niższy poziom FP w kale pacjentów z rakiem jelita grubego niż w próbach kontrolnych, natomiast w kale wegetarian (populacji o małym ryzyku zachorowalności na nowotwory jelit) związki te występowały w dużym stężeniu [20]. Rola fekapentaenów jako karcynogenów jest więc nadal niejasna.

### Drugorzędowe kwasy żółciowe

Kwasy żółciowe są głównymi produktami metabolizmu cholesterolu powstającymi w wątrobie. Pierwszorzędowe kwasy żółciowe (kwas cholowy i chenodeoksycholowy) są wydzielane wraz z żółcią w postaci sprzężonej z glicyną i tauryną, tworząc kwas glikocholowy i taurocholowy [19]. Dzięki silnym właściwościom emulgującym żółć bierze udział w trawieniu pokarmów poprzez emulgowanie lipidów. Jednak ponad 97 % kwasów żółciowych jest reabsorbowanych do wątroby, reszta kierowana jest do jelita grubego i ulega dekonjugacji przy udziale bakteryjnej 7- $\alpha$ -dehydroksylazy. Aktywność 7- $\alpha$ -dehydroksylazy stwierdzono u: *Clostridium leptum*, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium sordellii*, *Eubacterium* sp., *Escherichia coli* oraz *Bacteroides* sp. [3].

W pierwszym etapie tauryna lub glicyna jest odłączana od kwasu taurocholowego i glikocholowego. W drugim etapie następuje dehydroksylacja powstałych w ten sposób pierwszorzędowych kwasów żółciowych (cholowego i chenodeksycholowego) do drugorzędowych kwasów żółciowych (rys. 6).



Rys. 6. Przemiany pierwszorzędowych kwasów żółciowych do drugorzędowych kwasów żółciowych na drodze dehydroksylacji bakteryjnej w jelicie grubym.

Fig. 6. Transformation of primary bile acids to secondary bile acids via dehydroxylation pathway by intestinal microbiota.

Dalsza bakteryjna degradacja w jelicie grubym prowadzi do powstania kwasów żółciowych trzeciorzędowych. Kwas deoksycholowy ulega częściowej absorpcji do wątroby, gdzie ulega sprzężeniu, po czym zostaje wydzielony wraz z żółcią. Kwas litocholowy nie ulega reabsorpcji. Oba związki są wydalane z kałem i stanowią 95 % całkowitej ilości wydalanych z organizmu kwasów żółciowych [15, 19].

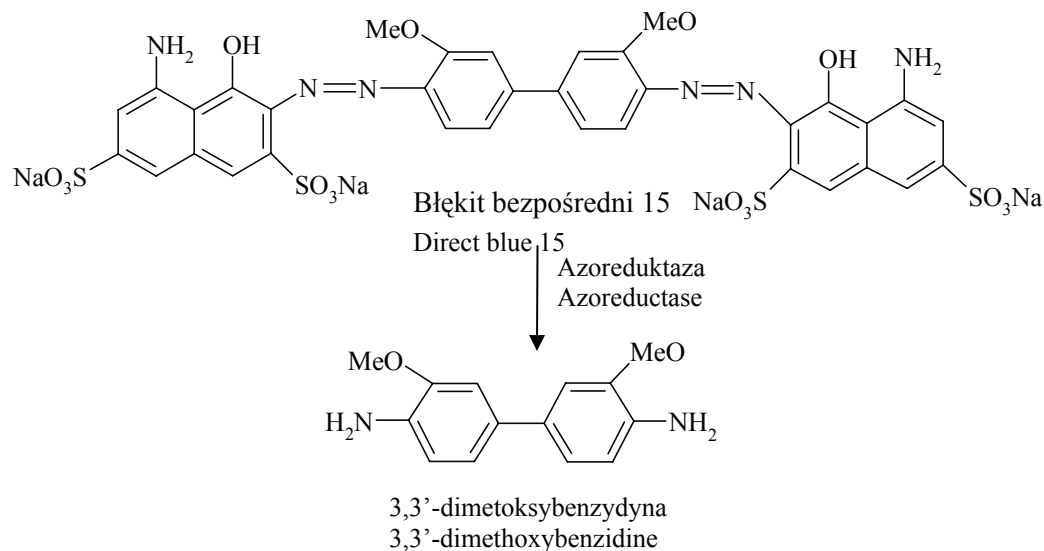
Badania epidemiologiczne wykazują, że dieta bogata w mięso oraz tłuszcze zwierzęce powoduje zwiększoną degradację i wydalanie kwasów żółciowych, co wiąże się z powstawaniem toksycznego siarkowodoru odpowiedzialnego, m.in. za zapalenie jelita grubego [19]. Dowiedziono, że drugorzędowe kwasy żółciowe sprzyjają rozwojowi raka jelita grubego, zachowując się jako promotory karcynogenezy [1, 5, 19]. Spowolniony pasaż jelitowy zwiększa poziom kwasu deoksycholowego, sprzyjając

powstawaniu kamieni żółciowych. Eksperymenty przeprowadzone na kulturach tkankowych z wykorzystaniem kolonocytów dowiodły, że drugorzędowe kwasy żółciowe powodują uszkodzenia DNA takie, jak pęknięcia nici i formowanie reaktywnych adduktów (tj. reaktywnych form tlenu), ale także indukują apoptozę komórek oraz dają pozytywne rezultaty w teście komety *in vitro* z wykorzystaniem ludzkich kolonocytów HT29 [1, 5, 6].

### Barwniki azowe

Barwniki azowe to związki aromatyczne zawierające jedną lub więcej grup azowych ( $R_1-N=N-R_2$ ), które stosowane są na szeroką skalę w przemyśle tekstylnym, kosmetycznym, farmaceutycznym, drukarstwie i laboratoriach, a także w przemyśle spożywczym [3]. Barwniki stosowane jako dodatki do żywności nie mogą być szkodliwe dla zdrowia człowieka, jednakże mikroorganizmy jelitowe potrafią je degradować (zwłaszcza rozpuszczalne w wodzie barwniki azowe) do karcynogennych fenylo- i naftylo- podstawionych amin aromatycznych [3, 7]. W bardziej zindustrializowanych regionach, co wiąże się z użyciem barwników azowych na dużą skalę, częściej występują nowotwory jelita grubego [7]. Za redukcję barwników do amin aromatycznych odpowiada enzym bakteryjny - azoreduktaza, a wytworzone produkty pośrednie - wolne rodniki, łatwo reagują z DNA. Powstałe aminy są gromadzone w jelicie grubym, a następnie przy udziale enzymów mikrosomalnych obecnych w śluzie jelitowym utleniają do karcynogenów [7]. Główne mikroorganizmy o aktywności azoreduktazy to bakterie z rodzajów *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus* i *Fusobacterium* [4]. *Fusobacterium* sp. bierze udział w przemianie niemutagennego błękitu trypanowego do o-toluidyny, która w teście Ames wykazuje właściwości mutagenne oraz barwnika ponso 3R do mutagenu 2,4,5-trimetyloaniliny [3]. Zarówno mikroorganizmy jelitowe człowieka, jak i szczura są zdolne do redukcji wiązania azowego w barwnikach benzydynowych do ich karcynogennych pochodnych. Inne barwniki stosowane w przemyśle spożywczym - żółcień metylowa i oranż metylowy są metabolizowane przez jelitowe bakterie beztlenowe do mutagennej N,N-dimetylo-p-fenylenodiaminy. Czerwień bezpośrednia 2 oraz błękit bezpośredni 15 mogą być przekształcane do 3,3'-dimetoksybenzydiny (rys. 7).

Natomiast produktami redukcji czerni bezpośredniej 38 może być benzydyna, 4-aminobifenyl, 4-acetyloaminobifenyl oraz monoacetyl benzydiny. Wszystkie produkty metabolizmu bakteryjnego są mutagenne i karcynogenne [3].



Rys. 7. Bioaktywacja błękitu bezpośredniego 15 przez azoreduktazę bakterii jelitowych.

Fig. 7. Bioactivation of direct blue 15 by azoreductase of intestinal microbiota.

## Estrogeny

Istnieją kliniczne dowody, że hormony mają wpływ na rozwój nowotworów piersi. Estrogeny są produkowane przez jajniki z cholesterolu, wydzielane do krwioobiegu i transportowane do tkanek docelowych oraz wątroby. W wątrobie estron oraz estradiol są inaktywowane poprzez reakcję sprzęgania z glukuronidami lub siarczanami. Nieznaczna ich ilość jest wydzielana wraz z żółcią do jelita grubego, w którym część ulega dekoniugacji w wyniku aktywności bakteryjnej  $\beta$ -glukuronidazy oraz sulfatazy. Około 80 % estrogenów, które uległy dekoniugacji jest reabsorbowanych, natomiast reszta jest wydalana z organizmu wraz z moczem. Poza dekoniugacją estrogenów, bakterie mogą je przekształcać w wyniku reakcji oksydacji, redukcji lub dehydroksylacji. Mikroorganizmy jelitowe zwiększają aktywność biologiczną wchłoniętych estrogenów poprzez przekształcenie estronu w aktywny estradiol, zwiększając tym samym ryzyko zachorowania na hormonozależnego raka piersi [18].

## Podsumowanie

W jelicie grubym człowieka występuje złożony ekosystem mikroorganizmów, których aktywność metaboliczna może sprzyjać rozwojowi nowotworów jelita grubego. Enzymy bakteryjne ( $\beta$ -glukuronidaza,  $\beta$ -glukozydaza, nitroreduktaza, 7- $\alpha$ -dehydro-

ksylaza,  $\beta$ -galaktozydaza, azoreduktaza) biorą udział w endogennej syntezie wielu związków karcynogennych, takich jak fenole i indole, aglikony flawonoidowe, barwniki azowe, fekapentaeny, estrogeny oraz drugorzędowe kwasy żółciowe. Badania epidemiologiczne wykazały, że syntezie niektórych związków sprzyja dieta bogata w białka oraz tłuszcze zwierzęce.

### Literatura

- [1] Bernstein H., Bernstein C., Payne C.M., Dvorakova K., Garewal H.: Bile acids as carcinogens in human gastrointestinal cancers. *Mutat. Res.*, 2005, **589**, 47-65.
- [2] Bresnick E.: Colon carcinogenesis. *Cancer*, 1980, **45**, 1047-1051.
- [3] Chadwick R.W., George E., Claxton L.D.: Role of intestinal mucosa and microflora in the bioactivation of dietary and environmental mutagens or carcinogens. *Drug Metab. Rev.*, 1992, **24**, 425-492.
- [4] Chung K.T., Stevens S.E., Cerniglia C.E.: The reduction of azo dyes by intestinal microflora. *Crit. Rev. Microb.*, 1992, **18**, 175-190.
- [5] Debruyne P.R., Bruyneel E.A., Li X., Zimmer A., Gespach C., Mareel M.: The role of bile acids in carcinogenesis. *Mutat. Res.*, 2001, **480-481**, 359-369.
- [6] de Kok T.M.C.M., van Maanen J.M.S.: Evaluation of fecal mutagenicity and colorectal cancer risk. *Mutat. Res.*, 2000, **463**, 53-101.
- [7] Goldin B.R.: Intestinal microflora: metabolism of drugs and carcinogens. *Ann. Med.*, 1990, **22**, 43-48.
- [8] Hughes R., Magee E.A.M., Bingham S.: Protein degradation in the large intestine: relevance to colorectal cancer. *Curr. Issues Intest. Microbiol.*, 2000, **1**, 51-58.
- [9] Hughes R., Rowland I.R.: Metabolic activities of the gut microflora in relation to cancer. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 2000, **12**, 179-185.
- [10] Hughes R., Cross A.J., Pollock J.R.A., Bingham S.: Dose - dependent effect of dietary meat and endogenous colonic N-nitrosation. *Carcinogenesis*, 2001, **22 (1)**, 199-202.
- [11] Macfarlane G.T., Cummings J.H., Allison C.: Protein degradation by human intestinal bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 1986, **132**, 1647-1656.
- [12] Macfarlane G.T., Cummings J.H.: Diet and the metabolism of intestinal bacteria. In: Brostoff J., Challacombe J.S.: Food allergy and intolerance. Saunders-Published, Londyn 2002, pp. 321-341.
- [13] McBain A.J., Macfarlane G.T.: Ecological and physiological studies on large intestinal bacteria in relation to production of hydrolytic and reductive enzymes involved in formation of genotoxic metabolites. *J. Med. Microbiol.*, 1998, **47**, 407-416.
- [14] McDonald T.A., Holland N.T., Skibola C., Smith M.T.: Hypothesis: phenol and hydroquinone derived mainly from diet and gastrointestinal flora activity are casual factors in leukemia. *Leukemia*, 2001, **15**, 10-20.
- [15] Nagengast F.M., Grubben M.J.A.L., van Munster I.P.: Role of bile acids in colorectal carcinogenesis. *Eur. J. Cancer*, 1991, **31A**, 1067-1070.
- [16] Nowak A., Libudzisz Z.: Mutagenne i karcynogenne metabolity tworzone przez mikroflorę jelita grubego człowieka. *Post. Mikrobiol.*, 2004, **43 (3)**, 321-339.
- [17] Nowak A., Libudzisz Z.: Karcynogeny w przewodzie pokarmowym człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **4 (59)**,
- [18] Parodi P.W.: The role of intestinal bacteria in the causation and prevention of cancer: modulation by diet and probiotics. *Aus. J. Dairy Technol.*, 1999, **54**, 103-120.



- [19] Ridlon J.M., Kang D.J., Hylemon P.B.: Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J. Lip. Res.*, 2006, **47**, 241-259.
- [20] Schiffman M.H., Wilkins T.D. i wsp.: Case – control study of colorectal cancer and faecal mutagenicity. *Cancer Res.*, 1989, **49**, 3420-3424.
- [21] Smith E.A., Macfarlane G.T.: Enumeration of human colonic bacteria producing phenolic and indolic compounds: effects of pH, carbohydrate availability and retention time on dissimilatory aromatic amino acid metabolism. *J. Appl. Bacteriol.*, 1996, **81**, 288-302.
- [22] Smith E.A., Macfarlane G.T.: Dissimilatory amino acid metabolism in human colonic bacteria. *Anaerobe*, 1997, **3**, 327-337.
- [23] Smith E.A., Macfarlane G.T.: Formation of phenolic and indolic compounds by anaerobic bacteria in the human large intestine. *Microb. Ecol.*, 1997, **33**, 180-188.
- [24] Smith E.A., Macfarlane G.T.: Enumeration of amino acid fermenting bacteria in the human large intestine: effects of pH and starch on peptide metabolism and dissimilation of amino acids. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1998, **25**, 355-368.
- [25] Van Tassell R.L., Kingston D.G.I., Wilkins T.D.: Metabolism of dietary genotoxins by the human colonic microflora: the fecapentaenes and heterocyclic amines. *Mutat. Res.*, 1990, **238**, 209-221.
- [26] YCIMR, Yakult Central Institute for Microbiological Research (ed.): In: *Lactobacillus casei* strain Shirota – Intestinal flora and human health. Yakult Honhsa Co. Ltd., Tokyo 1999, pp. 1-288.
- [27] INCHEM – Chemical safety information, <http://inchem.org/>
- [28] Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB), <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>

## CARCINOGENIC ACTIVITY OF INTESTINAL MICROBIOTA

### S u m m a r y

Human colon is harboured by a complex ecosystem containing up to 1000 species of microorganisms. The intestinal microbiota play a crucial role in the metabolism of food components and in ensuring health. Many products of the metabolism can favour the development of colon tumours. The main role in the formation of carcinogenic compounds play bacterial enzymes such as:  $\beta$ -glucuronidase,  $\beta$ -glucosidase, nitroreductase, 7- $\alpha$ -dehydroxylase,  $\beta$ -galactosidase, and azoreductase. Their products can be compounds harmful to human health, such as: phenolic and indolic compounds, flavonoid aglycones, azo dyes, fecapentaens, oestrogens, and secondary bile acids.

**Key words:** intestinal microbiota, carcinogens ☒

JOANNA TOMCZYK, ANNA OLEJNIK, KATARZYNA KOWALSKA,  
WOJCIECH BIAŁAS, WŁODZIMIERZ GRAJEK

## OCENA AKTYWNOŚCI CYTOTOKSYCZNEJ EKSTRUDATÓW FASOLOWO-KUKURYDZIANYCH WZGLĘDEM NOWOTWOROWYCH KOMÓREK NABŁONKA JELITOWEGO

### Streszczenie

Przedmiotem pracy było określenie właściwości cytotoksycznych i genotoksycznych ekstrudatów fasolowo-kukurydzianych (EFK) wytworzonych z fasoli odmiany Red Kidney względem nowotworowych komórek nabłonka jelitowego Caco-2 i HT-29 MTX. W celu odzwierciedlenia warunków panujących *in vivo* badany produkt poddano działaniu czynników trawiennych i mikroflory jelitowej, symulując jego pasaż przez przewód pokarmowy. Potencjał cytotoksyczny EFK przed i po procesie trawienia określano poprzez oznaczenie szybkości proliferacji komórek metodą hemocytometryczną oraz przeżywalności komórek testem MTT. Ponadto zbadano wpływ EFK na stopień uszkodzeń DNA komórek nabłonka jelitowego stymulowanych i niestymulowanych  $H_2O_2$ . Wyniki doświadczeń wykazały silną aktywność antyproliferacyjną EFK zależną od jego stężenia. Wyznaczone dawki  $IC_{50}$  dla Caco-2 i HT-29 MTX wynosiły odpowiednio 9,24 i 3,55 % (m/v). Trawienie EFK w sztucznym przewodzie pokarmowym, z wydłużonym czasem oddziaływania mikroflory jelitowej, spowodowało znaczny wzrost aktywności cytotoksycznej w stosunku do komórek HT-29 MTX. Wyniki testu kometowego wykazały, że EFK nie indukuje uszkodzeń DNA w komórkach jelitowych, lecz ma działanie ochronne wobec oksydacyjnych uszkodzeń DNA generowanych przez  $100 \mu M H_2O_2$  w komórkach HT-29 MTX.

**Słowa kluczowe:** ekstrudat fasolowo-kukurydziany, fasola Red Kidney, cytotoksyczność, Caco-2, HT-29 MTX

### Wprowadzenie

W ostatnich latach większą uwagę zwraca się na prozdrowotne oddziaływanie spożywanych produktów. Prowadzone badania ukierunkowuje się na wyjaśnianie istoty oddziaływań na organizm człowieka substancji biologicznie aktywnych dostarczanych wraz z pożywieniem. Jednak ze względu na ograniczony dostęp do ludzkiego

---

*Mgr inż. J. Tomczyk, dr inż. A. Olejnik, mgr K. Kowalska, dr inż. W. Białas, prof. dr hab. W. Grajek, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań*

przewodu pokarmowego dominują badania modelowe na zwierzętach lub kulturach komórkowych *in vitro* [4]. Wśród wielu linii komórkowych stosowanych do oceny przeciwnowotworowego oddziaływania składników pokarmowych najczęściej wykorzystywane są komórki przewodu pokarmowego, bezpośrednio ekspozycjonowane na spożywane substancje [7, 8]. Z tego względu w przeprowadzonych doświadczeniach wykorzystano komórki nowotworowe nabłonka jelitowego Caco-2 i HT-29 MTX.

Przedmiotem zainteresowania w odniesieniu do żywności jest wiele jej składników o zdefiniowanych właściwościach biologicznych. Polifenole występujące w owocach i warzywach, ze względu na ich aktywność antyoksydacyjną, stanowią grupę składników poddawanych obszernym badaniom *in vitro*. Bogatym źródłem związków polifenolowych są nasiona roślin strączkowych. W odmianach fasoli o kolorowych nasionach dominują skondensowane taniny (proantocyjanidyny) oraz antocyjanidyny – cyjanidyna i delfinidyna zlokalizowane przede wszystkim w okrywkach nasiennych. Wśród flawonoidów w ekstrakcie z nasion czerwonej fasoli stwierdzono obecność kwercetyny i jej glikozydowych pochodnych oraz kamferolu [9]. Badania Remiszewskiego i Kulczaka [15] oraz Remiszewskiego i wsp. [16] potwierdzają dominujący udział kwercetyny zarówno w wymienionym surowcu, jak i w półproduktach na poszczególnych etapach obróbki technologicznej. Poza tym autorzy wskazują na obecność w fasoli odmiany Red Kidney również luteoliny oraz kwasów fenolowych [10, 15]. Bogactwo związków polifenolowych o wysokiej aktywności przeciwutleniającej w odmianach fasoli o kolorowych nasionach świadczy o potencjalnych możliwościach ich wykorzystania do ochrony przed stresem oksydacyjnym oraz w prewencji chorób nowotworowych.

W dotychczasowych badaniach *in vitro* dowiedziono, że wymienione składniki istotnie spowalniają proces nowotworzenia poprzez wiele mechanizmów, m.in. przez bezpośredni udział w reakcjach unieczynniania wolnych rodników, ale także w sposób bardziej złożony: poprzez oddziaływanie na białka zaangażowane w regulowanie procesów proliferacji i apoptozy [12] czy modulowanie aktywności enzymów kluczowych przy detoksykacji kancerogenów [3, 20].

Wiele prowadzonych analiz dotyczy związków fenolowych występujących w czystej postaci, niezwiązanych z matrycą substancji. Z uwagi na to, że składniki te są związane w materiale roślinnym i rzadko występują jako aglikony, natomiast częściej tworzą formy glikozydowe [13], a ponadto po obróbce technologicznej i przedostaniu się do przewodu pokarmowego ulegają licznym przemianom, większego znaczenia nabierają badania z wykorzystaniem ekstraktów roślinnych bądź surowców wyjściowych [16]. Biorąc pod uwagę te uwarunkowania, w badaniach usiłuje się odtworzyć warunki panujące w naturze, poprzez poddanie odpowiednich próbek procesom imitującym trawienie jelitowe.

Celem przedstawionej pracy było określenie oddziaływania ekstraktów fasolowo-kukurydzianych (EFK) z mączki wytworzonej z nasion fasoli odmiany Red Kidney i mąki kukurydzianej zmieszanych w proporcji 1 : 1. na wzrost i aktywność metaboliczną jelitowych komórek nowotworowych linii Caco-2 i HT-29 MTX w hodowlach *in vitro* oraz genotoksyczności EFK i jego ewentualnych właściwości ochronnych przed oksydacyjnymi uszkodzeniami DNA komórek Caco-2 i HT-29 MTX indukowanymi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## Material i metody badań

### Przygotowanie produktu

Przedmiotem badań były ekstraktury otrzymane z mąki fasolowej (fasola kolorowa odmiany „Red Kidney”) po fermentacji bakteryjnej (*Lactobacillus plantarum* T-106) z dodatkiem mąki kukurydzianej w stosunku 1:1. Ekstraktury otrzymano z Zakładu Fermentacji i Biosyntezy Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Ogólna zawartość polifenoli oznaczona metodą Folina-Ciocaltau’a według metody Singletona i Rossiego [18] wyrażona w przeliczeniu na mg kwasu galusowego wynosiła 2,44 (± 0,09) mg/g produktu. Aktywność przeciwutleniająca badanych ekstraktów oznaczona wobec ABTS\* (2,2’-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) według metody Re i wsp. [14] wyrażona w przeliczeniu na mg Troloxu wynosiła 10,74 (± 0,12) mg Tx/g produktu.

Przygotowanie ekstraktury fasolowo-kukurydzianego do badań polegało na jego zmieleniu, następnie zawieszeniu w pożywce do hodowli komórkowych, wytrząsaniu w temp. 37 °C przez 20 min, wirowaniu (3000 x g, 10 min) i filtracji przez membranę o porowatości 0,22 µm (Millipore).

Przedmiotem badań były również ekstraktury poddawane *in vitro* procesom imitującym przebieg trawienia *in vivo*. Symulację trawienia w żołądku prowadzono przez dodanie pepsyny (P7000, Sigma) w ilości 300 U/ml oraz obniżenie pH do wartości 2,0 za pomocą 1 M HCl. Ten etap trawienia prowadzono przez 4 h w temp. 37 °C. Ruchy perystaltyczne imitowano poprzez mieszanie przy użyciu mieszadła magnetycznego. W celu symulacji drugiego etapu trawienia, zachodzącego w jelicie cienkim, pH podnoszono do wartości 6,0, stosując 1M NaHCO<sub>3</sub> i dodawano 10 ml ekstraktu trzustkowo-jelitowego (0,02 g ekstraktu trzustkowego - P1750 Sigma, 0,12 g soli żółciowych – B8381 Sigma, 0,1 M NaHCO<sub>3</sub>). Następnie pH podnoszono do 7,4 przez dodanie 1M NaHCO<sub>3</sub> i wprowadzano wystandaryzowaną mikroflorę jelitową (10<sup>6</sup> jtk/ml treści pokarmowej) wyizolowaną z kału ludzkiego. Proces prowadzono przez 2 h w temp. 37 °C. W celu symulacji pasażu produktu przez jelito grube pH podnoszono do 8,0 za pomocą 2 M NaHCO<sub>3</sub> i dalsze trawienie prowadzono w warunkach beztlenowych przez 18 h.

Ekstrakt uzyskany w wyniku trawienia *in vitro* filtrowano przez membranę o porowatości 0,22  $\mu\text{m}$  (Millipore) i rozcieńczano w pożywce przeznaczonej do hodowli komórkowych.

#### *Hodowla komórek Caco-2 i HT-29 MTX*

Komórki nowotworowe linii Caco-2 i HT-29 MTX, pochodzące z Amerykańskiej Kolekcji Kultur Komórkowych (ATCC), hodowano na płytkach 24-dołkowych o powierzchni 1,9  $\text{cm}^2$ /dołek (Nunc) w 1 ml pożywki DMEM (D 6429, Sigma), zawierającej 1-procentowy dodatek niezbędnych aminokwasów (M7145, Sigma), wzbogaconej w inaktywowaną (56  $^{\circ}\text{C}$ , 30 min) płodową surowicę bydlęcą (10106-169, Gibco) w ilości 10 % w przypadku HT-29 MTX oraz 20 % w przypadku Caco-2. Testowane kultury komórkowe hodowano w temp. 37  $^{\circ}\text{C}$ , w atmosferze 5 %  $\text{CO}_2$  i 95 % przez 72 h.

#### *Badanie cytotoksyczności produktu w stosunku do komórek Caco-2 i HT-29 MTX*

Przygotowane roztwory EFK przed i po trawieniu *in vitro* wprowadzono do 24-godzinnych hodowli komórek Caco-2 i HT-29 MTX założonych przy inokulum wynoszącym odpowiednio:  $0,5 \times 10^5$  kom/ $\text{cm}^2$  i  $0,25 \times 10^5$  kom/ $\text{cm}^2$  ( $9,50 \times 10^4$  kom/ml i  $4,75 \times 10^4$  kom/ml). Ekspozycję kultur na badane produkty prowadzono przez 48 h w standardowych warunkach hodowli. Bezpośrednio po zakończeniu hodowli określano gęstość komórek i ich aktywność metaboliczną.

Gęstość komórek Caco-2 i HT-29 MTX oznaczano metodą hemocytometryczną, natomiast ich aktywność metaboliczną za pomocą testu MTT, w którym wykorzystuje się reakcję redukcji żółtych rozpuszczalnych w wodzie soli tetrazolowych do purpurowego nierozpuszczalnego formazanu, prowadzoną przez dehydrogenazę mitochondrialną. Zdolność do metabolizowania substratu mają tylko żywe, aktywne metabolicznie komórki, a ich liczba jest proporcjonalna do intensywności powstałego zabarwienia, mierzonego jako absorbancja przy długości fali 570 nm.

Do oceny toksyczności EFK w stosunku do nowotworowych komórek Caco-2 HT-29 MTX zastosowano model matematyczny w postaci funkcji [21]:

$$Y_{obl.} = \frac{Y_{max.}}{\left(1 + \left(\frac{[C]}{IC_{50}}\right)^s\right)} + Y_{min.}$$

gdzie:  $Y_{min.}$  i  $Y_{max.}$  to odpowiednio minimalna i maksymalna wartość liczbowa badanej cechy estymowana przez wyznaczony model,  $IC_{50}$  odpowiada stężeniu EFK powodującego 50 % redukcję aktywności metabolicznej komórek (punkt przegięcia krzywej), podczas gdy  $s$  wyznacza nachylenie krzywej.

Poprawne wyznaczenie wielkości liczbowych poszczególnych współczynników w modelu, ze względu na jego nieliniowy charakter, wymagało zastosowania tzw. metod iteracyjnych, spośród których najbardziej efektywna okazała się metoda Quasi-Newtona. Wszystkie obliczenia wykonano w programach MS Excel 2003 i Statistica 6.0 PL.

Dawki IC<sub>50</sub> stanowiące stężenie EFK, przy którym następuje 50 % zmniejszenie aktywności enzymów mitochondrialnych badanych komórek wyznaczano na podstawie wymienionego wyżej modelu matematycznego.

#### *Badanie wpływu EFK na poziom uszkodzeń DNA w komórkach Caco-2 i HT-29 MTX*

W badaniach wpływu EFK na poziom jednoniciowych uszkodzeń DNA komórek Caco-2 i HT-29 MTX wykorzystano elektroforezę pojedynczych komórek zwaną testem kometowym. Analizowano wpływ 24-godzinnej ekspozycji wymienionych komórek nabłonka jelitowego na EFK w stężeniach odpowiadających wyznaczonym dawkom IC<sub>50</sub>.

Po inkubacji monowarstwę komórek przemywano buforem fosforanowym (PBS/pH 7,4) i poddawano procesowi trypsynizacji przy użyciu roztworu trypsyno-wersenu (T4049, Sigma). Komórki po trypsynizacji przemywano buforem PBS o temp. 4 °C i zawieszano w takiej objętości PBS, aby gęstość komórek wynosiła 1×10<sup>6</sup> komórek/ml. Zawiesinę komórek o objętości 60 μl dodawano do 150 μl płynnej 0,5-procentowej agarozy o niskiej temperaturze topnienia i nakrapiano po 60 μl na szkiełka pokryte 1-proc. agarozą o normalnej temperaturze topnienia. Następnie przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i pozostawiano przez 10 min w temp. 4 °C. Po zestaleniu agarozy szkiełka nakrywkowe usuwano, a szkiełka podstawowe z komórkami zanurzano w buforze lizującym (100 mM EDTA, 5,5 M NaCl, 10 mM TRIS, 1 % Triton X-100/pH 10) i inkubowano przez 1 h. w temp. 4 °C. Po lizie szkiełka umieszczano na 30 min w aparacie elektroforetycznym wypełnionym buforem do elektroforezy (300 mM NaOH, 1 mM EDTA/pH>13) o temp. 4 °C. Następnie prowadzono elektroforezę przy napięciu 230 V przez 40 min, w temp. 4 °C. Po elektroforezie szkiełka płukano kolejno wodą i buforem neutralizującym (0,4 M TRIS/pH 7,5), po czym w celu odwodnienia zanurzano na 5 min w 70-procentowym etanolu.

DNA komórek po elektroforezie wybarwiano barwnikiem SYBRGold (Molecular Probes) i analizowano pod mikroskopem fluorescencyjnym Zeiss Axiovert 200. Wyniki opracowano za pomocą programu komputerowego CometScore™. Do analizy brano pod uwagę minimum 80 komórek z każdej próby. Stopień uszkodzeń DNA wyrażano poprzez procentową zawartość DNA w ogonie komety.

W celu określenia ochronnych właściwości EFK przed oksydacyjnymi uszkodzeniami DNA, komórki Caco-2 i HT-29 MTX były preinkubowane przez 24 h z EFK w stężeniach stanowiących IC<sub>50</sub>, a następnie poddawane działaniu stresu oksydacyjnego.

go. Stres oksydacyjny generowano za pomocą 100  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  w temp. 4 °C przez 30 min. Test kometowy prowadzono według metody opisanej powyżej.

Do każdego z doświadczeń przygotowano próby kontrolne, które stanowiły komórki hodowane w standardowej pożywce niezawierającej ekstraktu z EFK.

#### *Analiza statystyczna*

Wszystkie eksperymenty przeprowadzono w trzech powtórzeniach, a prezentowane wyniki badań stanowią ich średnią arytmetyczną. Do oszacowania poziomu istotności różnic między próbami wykorzystano testy t-Studenta i Tukey'a. Analizę statystyczną wyników badań wykonano za pomocą programu Statistica 6.0 PL.

### **Wyniki i dyskusja**

#### *Wpływ EFK na wzrost i przeżywalność komórek Caco-2 i HT-29 MTX*

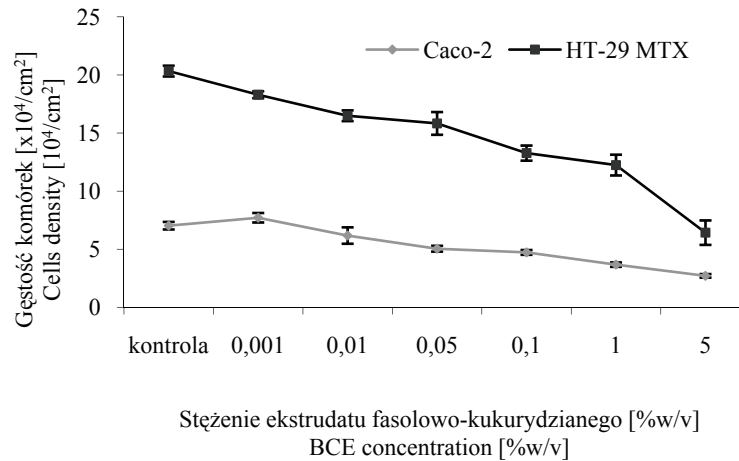
W doświadczeniach wykorzystano młode kultury komórek Caco-2 i HT-29 MTX będące w fazie wzrostu logarytmicznego. Analiza gęstości hodowli po 48 h ekspozycji na EFK wykazała, że dodatek EFK do hodowli komórek nowotworowych jelita grubego linii Caco-2 i HT-29 MTX spowodował ograniczenie proliferacji komórek w sposób zależny od stężenia (rys. 1). Komórki linii Caco-2 wykazały większą tolerancję na obecność EFK w pożywce hodowlanej. O ile EFK w stężeniach 0,001 i 0,01 % (m/v) nie wpływał na wzrost komórek wymienionej linii w sposób statystycznie istotny, to inhibicja wzrostu komórek HT-29 MTX następowała już przy najmniejszej dawce EFK wynoszącej 0,001 % (m/v). Większą wrażliwość komórek HT-29 MTX na obecność EFK w pożywce potwierdzono również przy najwyższym badanym stężeniu. EFK w ilości 5 % (m/v) spowodował 70-proc. ograniczenie gęstości komórek HT-29 MTX oraz 60-proc. spadek stężenia komórek Caco-2 w stosunku do prób kontrolnych.

Działanie antyproliferacyjne EFK w stosunku do nowotworowych komórek nabłonka jelitowego znalazło odzwierciedlenie w ograniczeniu ich aktywności metabolicznej, co zostało wykazane w teście MTT. Uzyskane wyniki sygnalizują możliwość hamowania wzrostu komórek nowotworowych przy użyciu EFK.

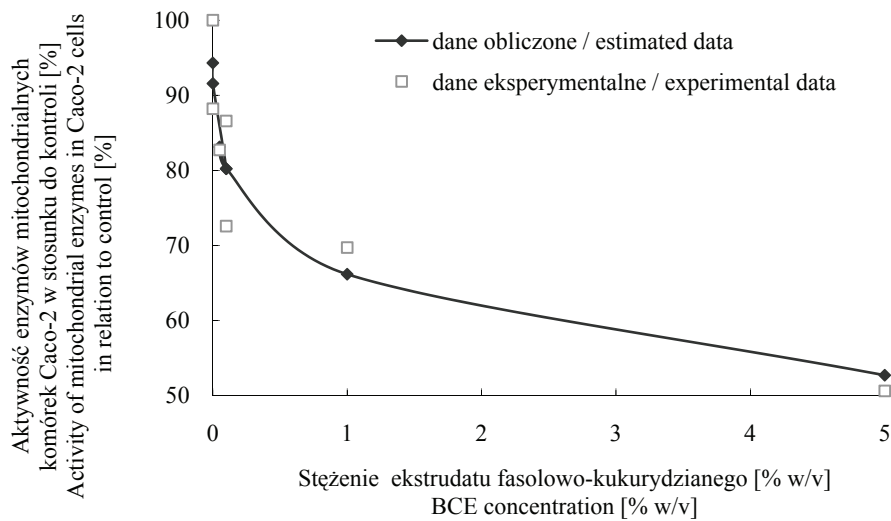
Wyniki analizy MTT jako względne wartości aktywności enzymów mitochondrialnych w komórkach eksponowanych na EFK w stosunku do próby kontrolnej przedstawiono na rys. 2. i 3.

Na podstawie danych doświadczalnych oraz przy użyciu modelu matematycznego przedstawionego w podrozdziale *Badanie cytotoksyczności produktu w stosunku do komórek Caco-2 i HT-29 MTX*, wyznaczono dawki  $\text{IC}_{50}$  wyrażające stężenia EFK, przy których następowało 50-proc. obniżenie aktywności enzymów mitochondrialnych. Obliczone dawki  $\text{IC}_{50}$  dla komórek Caco-2 i HT-29 MTX wynosiły odpowiednio 9,24

i 3,55 % (m/v), co również wskazuje na większą podatność komórek linii HT-29 MTX na cytotoksyczne działanie EFK.

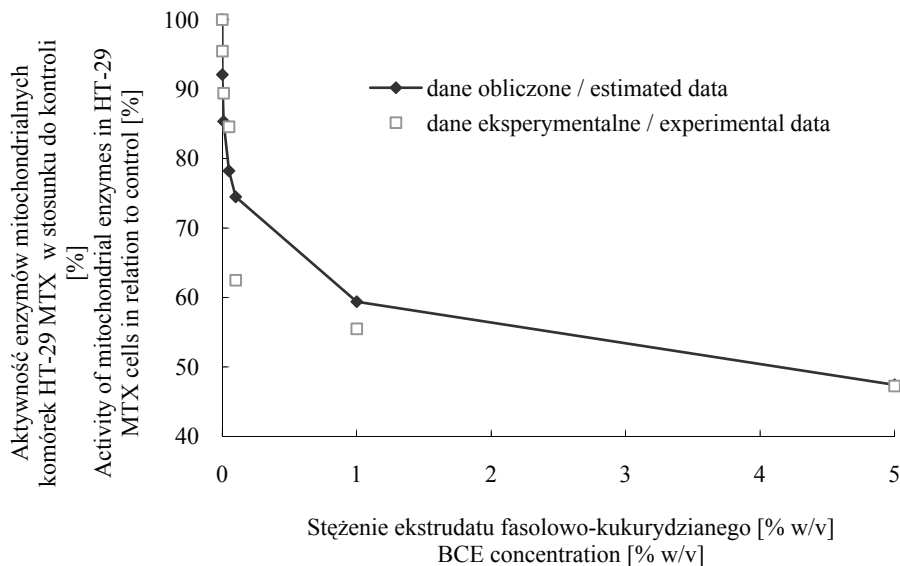


Rys. 1. Wpływ ekstrudatu fasolowo-kukurydzianego na wzrost komórek Caco-2 i HT-29 MTX.  
Fig. 1. Effect of bean-corn extrudate (BCE) on the growth of Caco-2 and HT-29 MTX cells.



Rys. 2. Aktywność mitochondrialna komórek Caco-2 hodowanych w obecności ekstrudatu fasolowo-kukurydzianego (EFK).  
Fig. 2. Activity of mitochondrial enzymes in Caco-2 cells cultured in the presence of bean-corn extrudate (BCE).





Rys. 3. Aktywność mitochondrialna komórek HT-29 MTX hodowanych w obecności ekstrudatu fasolowo-kukurydzianego (EFK).

Fig. 3. Mitochondrial enzymes activity in HT-29 MTX cells cultured in presence of bean-corn extrudate (BCE).

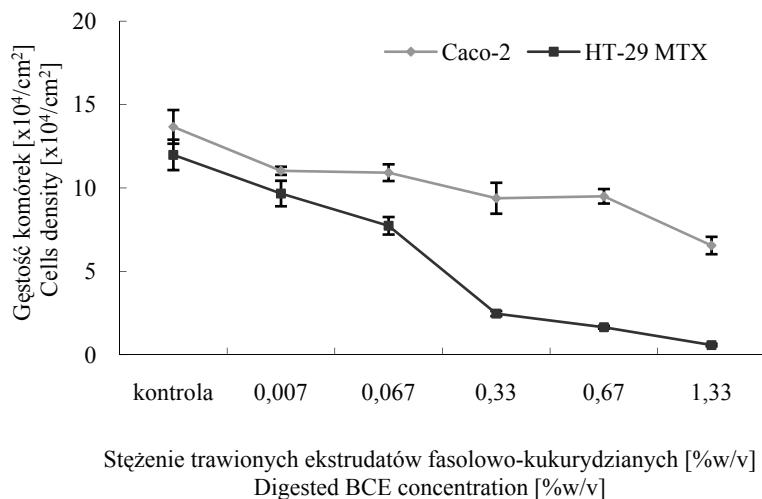
#### Aktywność cytotoksyczna EFK po trawieniu *in vitro*

Trawienie EFK w sztucznym przewodzie pokarmowym przeprowadzono w dwóch wersjach różniących się czasem oddziaływania mikroflory jelitowej w końcowej fazie procesu. W pierwszej procedurze trawienie *in vitro* zakończono na etapie jelita cienkiego, poddając EFK 2-godzinemu działaniu bakterii kałowych. W drugiej procedurze trawienie wydłużono o 18-godziną ekspozycję na działanie mikroflory jelitowej, mającą imitować przejście treści pokarmowej przez jelito grube.

Uwzględniając funkcjonalne i strukturalne podobieństwo komórek Caco-2 do komórek nabłonka jelita cienkiego oraz właściwości kultur komórkowych HT-29 MTX zbliżone do nabłonka jelita grubego, EFK poddany krótszej – 2-godzinnej inkubacji z bakteriami jelitowymi testowano w stosunku do komórek Caco-2, natomiast wpływ EFK na komórki linii HT-29 MTX określano po 21 h inkubacji w obecności mikroflory jelitowej.

Przeprowadzone pomiary gęstości komórek po 48 h hodowli w obecności EFK trawionych w sztucznym przewodzie pokarmowym dowiodły, że pomimo procesu trawienia EFK zachowały antyproliferacyjny potencjał w stosunku do komórek nowotworowych Caco-2 i HT-29 MTX. Wykres zależności stężenia komórek Caco-2 i HT-29 MTX w hodowli od dawki trawionych EFK przedstawiono na rys. 4.

Zaobserwowano, że hamowanie wzrostu komórek Caco-2 i HT-29 MTX nasila się wraz ze zwiększaniem dodatku poddanych trawieniu EFK do pożywki hodowlanej. Obserwowane zmiany były bardziej dynamiczne w przypadku komórek HT-29 MTX aniżeli komórek linii Caco-2 (rys. 4).



Rys. 4. Wpływ ekstraktów fasolowo-kukurydzianych poddanych trawieniu *in vitro* na wzrost komórek Caco-2 i HT-29 MTX.

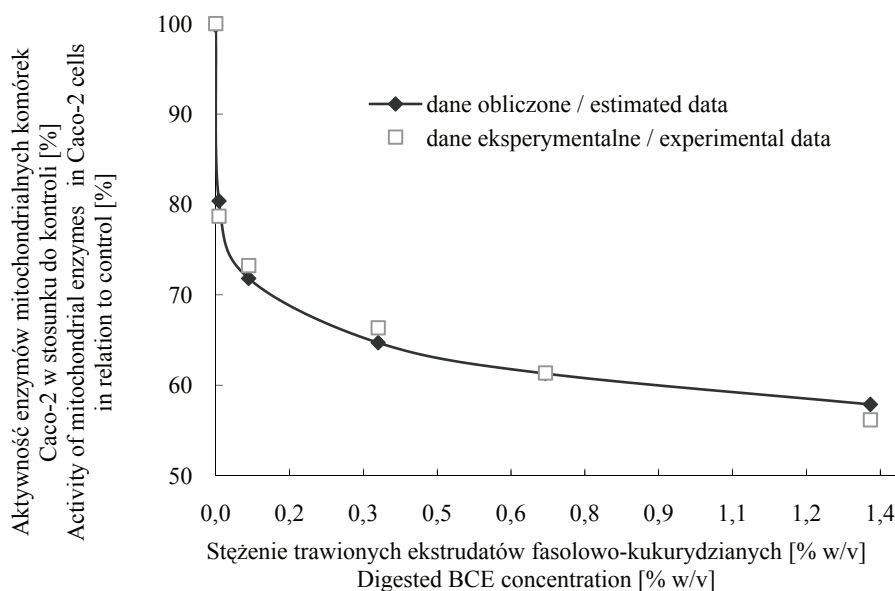
Fig. 4. Effect of bean-corn extrudates (BCE) after the *in vitro* digestion on the growth of Caco-2 and HT-29 MTX cells.

Wyniki testu MTT przedstawione na rys. 5. i 6. wskazują na cytotoksyczny potencjał EFK po trawieniu *in vitro* w stosunku do komórek nowotworowych jelita grubego.

Oszacowano, że dawki  $IC_{50}$  powodujące 50-proc. redukcję aktywności metabolicznej komórek Caco-2 wynoszą w przypadku EFK niepoddawanego trawieniu 9,24 % natomiast trawionego EFK 6,8 % (m/v) i nie mieszczą się w obszarze badanych stężeń.

W przypadku EFK poddanego 2-godzinnemu trawieniu w obecności mikroflory jelitowej zauważono znaczny wzrost aktywności cytotoksycznej w stosunku do komórek linii HT-29 MTX w porównaniu z EFK nietrawionym. Wartości  $IC_{50}$  w przypadku EFK przed i po procesie trawienia wynosiły odpowiednio 3,55 i 0,12 % (m/v). Krzywa obrazująca zmiany względnej aktywności enzymów mitochondrialnych komórek HT-29 MTX indukowanych EFK po trawieniu (rys. 6) wskazuje na gwałtowne obniżenie tego parametru już przy stosunkowo niskich dawkach produktu po trawieniu (0,067 – 0,67 %). Zależność ta jest związana z silnym ograniczeniem wzrostu komórek w tym zakresie stężeń. Trawiony EFK obecny w hodowli komórek HT-29 MTX w stężeniach

powyżej 0,33 % (m/v) całkowicie hamował ich proliferację (rys. 4). Średnia gęstość komórek poddawanych działaniu produktu w tych dawkach nie przekraczała ich stężenia w inokulum.



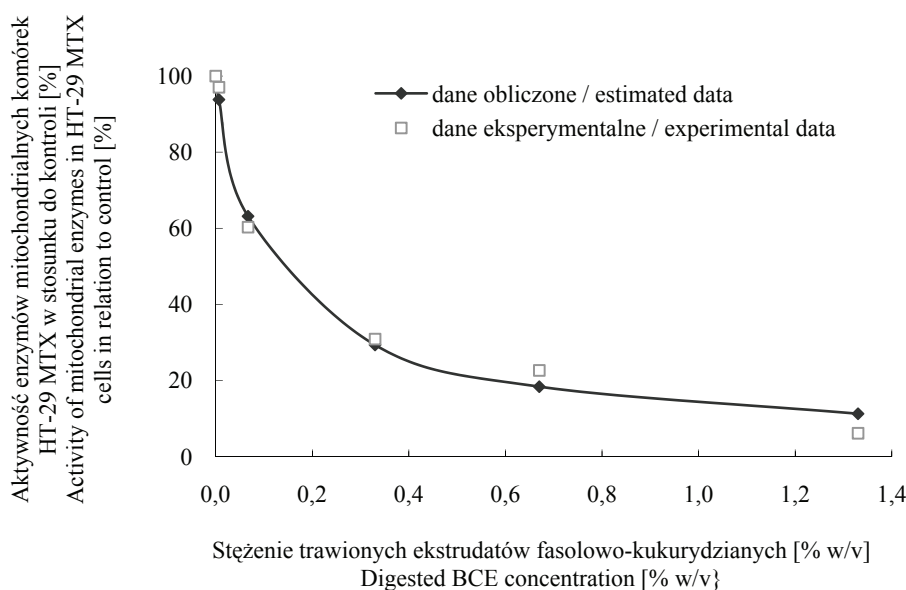
Rys. 5. Aktywność enzymów mitochondrialnych w komórkach Caco-2 hodowanych w obecności trawionego ekstrudatu fasolowo-kukurydzianego.

Fig. 5. Activity of mitochondrial enzymes in Caco-2 cells cultured in the presence of digested bean-corn extrudate (BCE).

Wzrost właściwości cytotoksycznych EFK poddanych trawieniu świadczy o intensywnych przemianach substancji aktywnych obecnych w EFK prowadzonych przez mikroorganizmy bytujące w jelicie. Prawdopodobnie mikroflora jelitowa powoduje takie modyfikacje tych związków, które podnoszą ich inhibicyjną aktywność. Wzrost cytotoksyczności EFK zaobserwowano głównie w stosunku do komórek HT-29 MTX traktowanych EFK poddanych 21-godzinnemu trawieniu z udziałem mikroflory jelitowej.

Opisywane zjawisko może być związane z metabolizmem związków należących do antocyjanin. Badania Tsudy i wsp. [19] wskazują na udział bakterii jelitowych wyposażonych w  $\beta$ -glukozydazę w hydrolizie glikozydowych form antocyjanin do aglikonów – antocyjanidyn. Bakterie te są również wyposażone w ramnozydazę, a hydroliza ramnozydowych form flawonoidów odbywa się jedynie przy ich udziale [17]. Praca autorstwa Koide i wsp. [6] wskazująca, że w ekstrakcie z czerwonej fasoli dominują cyjaniny połączone z ramnozą doprowadziła do wyjaśnienia prawdopodobnej przyczyny

ny wzrostu oddziaływania trawionych EFK. Być może w toku metabolizmu EFK pod wpływem działania mikroflory jelitowej ramnozydowe postaci tych flawonoidów ulegają przemianom do aglikonów. Przypuszczenie to wydaje się znajdować potwierdzenie w doświadczeniach Zhanga i wsp. [22], którzy stwierdzili silniejszy potencjał antyproliferacyjny wolnych form antocyjanin.



Rys. 6. Aktywność enzymów mitochondrialnych w komórkach HT-29 MTX hodowanych w obecności trawionego ekstraktu fasolowo-kukurydzianego.

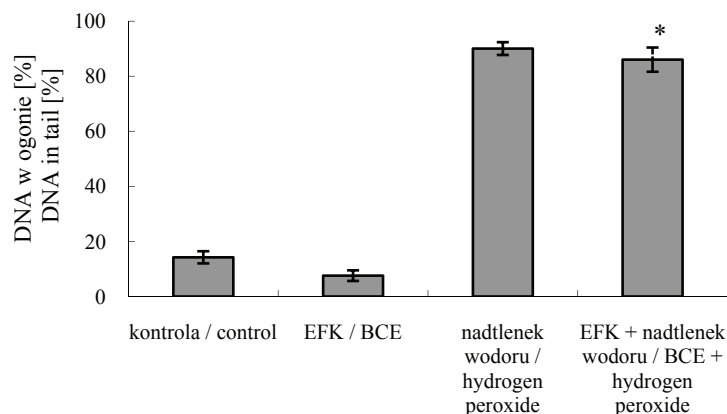
Fig. 6. Activity of mitochondrial enzymes in HT-29 MTX cells cultured in the presence of digested bean-corn extrudate (BCE).

Ponadto proces trawienia prawdopodobnie zwiększa uwalnianie składników z matrycy, w jakiej występują w gotowym produkcie spożywczym [2]. W trakcie trawienia może dochodzić do zwiększenia rozpuszczalności związków biologicznie aktywnych zawartych w EFK i w konsekwencji doprowadzać do ich silniejszego oddziaływania antyproliferacyjnego i cytotoksycznego. Prawdopodobnie za wzrost cytotoksyczności EFK, po trawieniu i pasażu przez jelito grube, odpowiedzialne są również metabolity wtórne wytwarzane przez rozwijającą się mikroflorę jelitową.

#### *Wpływ CFK na stopień uszkodzeń DNA komórek Caco-2 i HT-29 MTX*

Poziom uszkodzeń DNA w komórkach nabłonka jelitowego indukowanych przez EFK analizowano w 24-godzinnych hodowlach Caco-2 i HT-29 MTX eksponowanych

na badany produkt w stężeniach odpowiadających oznaczonym dawkom  $IC_{50}$ . W pracy posłużono się testem kometowym, umożliwiającym analizę stopnia uszkodzeń DNA na poziomie pojedynczych komórek, na podstawie stopnia fragmentacji jego cząsteczki [5]. Podczas elektroforezy fragmenty nici DNA uwolnione ze struktur jądrowych w wyniku pęknięć, odznaczają się szybszą migracją i tworzą charakterystyczny „ogon komety”. Stopień degradacji materiału genetycznego określano na podstawie procentowej zawartości DNA w ogonie komety. Na rys. 7. i 8. przedstawiono średnie wartości tego parametru w komórkach Caco-2 i HT-29 MTX w poszczególnych próbach. Na podstawie analizy wyników stwierdzono, że EFK w badanych dawkach nie wykazuje działania genotoksycznego w stosunku do komórek linii Caco-2 i HT-29 MTX. Dodatek EFK do hodowli komórek Caco-2 spowodował niewielkie zmniejszenie jednoczyniowych uszkodzeń DNA w stosunku do próby kontrolnej (rys. 7).

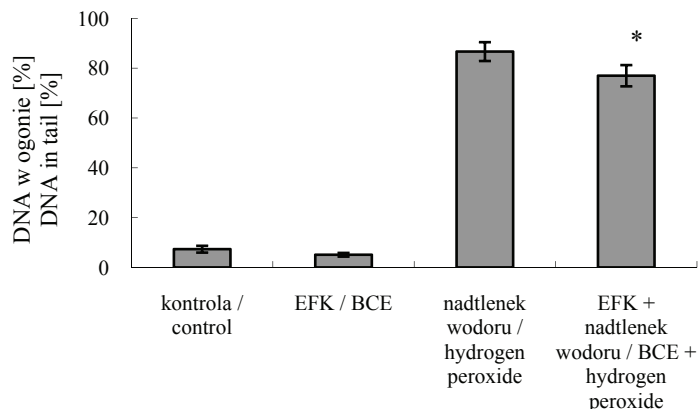


Rys. 7. Wpływ ekstrudatu fasolowo-kukurydzianego (EFK) na stopień uszkodzeń DNA w komórkach Caco-2, różnice statystycznie istotne w stosunku do kontroli: \*  $p \leq 0,05$ .

Fig. 7. Effect of bean-corn extrudate (BCE) on the DNA damage in Caco-2 cells, statistically significant differences compared to the control: \*  $p \leq 0.05$ .

Komórki HT-29 MTX hodowane w obecności EFK, a następnie ekspozowane na działanie nadtlenku wodoru, jako czynnika indukującego oksydacyjne uszkodzenia DNA, charakteryzowały się mniejszym stopniem fragmentacji materiału genetycznego. Poziom pęknięć DNA w komórkach hodowanych z dodatkiem EFK w stężeniu 3 % (m/v) był o około 10 % mniejszy niż w próbach kontrolnych traktowanych  $H_2O_2$  bez preinkubacji z EFK (rys. 8).

Natomiast w przypadku linii komórkowej Caco-2 EFK nie powodował statystycznie istotnych zmian w poziomie uszkodzeń DNA indukowanych  $100 \mu M H_2O_2$ , co wskazuje na brak potencjału ochronnego EFK w stosunku do tych komórek (rys. 7).



Rys. 8. Wpływ ekstrudatu fasolowo-kukurydzianego (EFK) na stopień uszkodzeń DNA w komórkach HT-29 MTX, różnice statystycznie istotne w stosunku do kontroli: \*  $p \leq 0,05$

Fig. 8. Effect of bean-corn extrudate (BCE) on the DNA damage in HT-29 MTX cells, differences statistically significant from the control: \*  $p \leq 0.05$ .

### Wnioski

1. Przeprowadzane badania wykazały silne działanie cytotoksyczne EFK na jelitowe komórki nowotworowe Caco-2 i HT-29 MTX.
2. Trawienie *in vitro* zwłaszcza po wydłużonej ekspozycji na czynniki trawienne i działanie mikroflory jelitowej powodowało wzrost aktywności antyproliferacyjnej oraz cytotoksycznej EFK w stosunku do komórek HT-29 MTX.
3. Na podstawie analizy kometowej stwierdzono, że EFK nie indukują powstawania uszkodzeń DNA w komórkach nabłonka jelitowego.
4. Wyniki testu kometowego wskazują na ochronne działanie EFK względem oksydacyjnych uszkodzeń DNA generowanych przez  $H_2O_2$  w komórkach HT-29 MTX.

### Podziękowania

Autorzy pracy dziękują pani dr inż. Małgorzacie Gumiennej i prof. dr hab. Zbigniewowi Czarneckiemu z Zakładu Fermentacji i Biosyntezy Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu za dostarczenie ekstrudatu fasolowo-kukurydzianego i jego podstawową analizę.

*Badania zrealizowano w ramach grantu PBZ-KBN nr 094/P06/2003/18.*

### Literatura

- [1] Beninger C.W., Hostfield G.L.: Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. *J Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 7879-7883.
- [2] Boyer J., Brown D., Liu R.H.: *In vitro* digestion and lactase treatment influence uptake of quercetin and quercetin glucoside by Caco-2 cell monolayer. *Nutr J.*, 2005, **4**:1.
- [3] Galijatovic A., Walle U.K., Walle T.: Induction of UDP-glucuronosyl-transferase by the flavonoids chrisin and quercetin in Caco-2 cells. *Pharm Res.*, 2000, **17** (1), 21-26.
- [4] Grajek W., Olejnik A.: Modele *in vitro* do badań nad biodostępnością przeciwutleniaczy. W: *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne* - pod red. W. Grajka. WNT, Warszawa 2007, s. 334-339.
- [5] Jałoszyński P.: Analiza pęknięć nici DNA metodą elektroforezy pojedynczych komórek (comet assay). W: *Przykłady analiz DNA – pod red. R. Słomskiego*. Wyd. AR, Poznań 2004, 344-349.
- [6] Koide T., Hashimoto Y., Kamei H., Kojima T., Hasegawa M., Terabe K.: Antitumor effect of anthocyanin fractions extracted from red soybeans and red beans *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Biother Radiopharm.*, 1997, **12** (4), 277-280.
- [7] Kuntz S., Wenzel U., Daniel H.: Comparative analysis of effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer lines. *Eur. J. Nutr.*, 1999, **38**, 133-142.
- [8] Kuo S.M.: Antiproliferative potency of structurally distinct dietary flavonoids on human colon cancer cells. *Cancer Lett.*, 1996, **110**, 41-48.
- [9] Lin L., Harnly J.M., Pastor-Corrales M.S., Luthria D.L.: The phenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem.*, 2008, **107**, 399-410.
- [10] Madhujith T., Amarowicz R., Shahidi F.: Phenolic antioxidants in beans and their effects on inhibition of radical-induced DNA damage. *JAOCS*, 2004, **81**/7, 691-696.
- [11] Mathers J.C.: Pulses and carcinogenesis: potential for the prevention of colon, breast and other cancers. *Br. J. Nutr.*, 2002, **88**/3, 273-279.
- [12] Moskaug J.O., Carlsen H., Blomhoff R.: Molecular imaging of the biological effects of quercetin and quercetin-rich foods. *Mech Ageing Dev.*, 2004, **125** (4), 315-324.
- [13] Murota K., Terao J.: Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. *Arch Biochem Biophys.*, 2003, **417**, 12-17.
- [14] Re R., Pregelgrini N., Proteggente A., Panala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, **26**, 1231-1237.
- [15] Remiszewski M., Kulczak M.: Obróbka hydrodynamiczna suchych nasion roślin strączkowych. W: *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne* - pod red. W. Grajka. WNT, Warszawa 2007, s. 484-487.
- [16] Remiszewski M., Przygoński K., Kulczak M., Jeżewska M.: Optymalizacja układu ekstrakcyjnego i ocena właściwości przeciwutleniających nasion wybranych roślin strączkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1** (46) Supl., 127-135.
- [17] Scalbert A., Williamson G.: Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.*, 2000, **130**, 2073-2085.
- [18] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphodphotungstics acid reagents. *Am. J. Etnol. Vitic.*, 1965, **16**, 144-158.
- [19] Tsuda T., Horio F., Osawa T.: Absorption and metabolism of cyanidin 3-O-beta-D-glucoside in rats. *FEBS Lett.*, 1999, **449** (2-3), 179-182.
- [20] Valerio L.G., Kepa J.K., Picwell G.V., Quattrochi L.C.: Induction in human NAD(P)H:quinone oxidoreductase (NQO1) gene expression by the flavonol quercetin. *Toxicol Lett.*, 2001, **119**, 49-57.

- [21] Wyska E., Mager D.E., Krzyzanski W.: Methods of estimation of  $IC_{50}$  and  $SC_{50}$  parameters for indirect response models from single dose data. *J. Pharm. Sci.*, 2003, **92**, 1438-1454.
- [22] Zhang Y., Vareed S.K., Nair M.G.: Human tumor cell inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruit and vegetables. *Life Sci.*, 2005, **76**, 1465-1472.

#### ASSESSMENT OF CYTOTOXIC ACTIVITY OF BEAN-CORN EXTRUDATES TOWARDS THE NEOPLASTIC CELLS IN HUMAN INTESTINAL EPITHELIUM

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

The objective of this paper was to determine cytotoxic and genotoxic properties of bean-corn extrudates (BCE) manufactured from a mixture of Red Kidney beanflour and cornflour towards Caco-2 and HT-29 MTX neoplastic cells in human intestinal epithelium. In order to reproduce the *in vivo* conditions, the product examined was subjected to actions of digestive agents and intestinal microflora by simulating its passage along the alimentary tract. The cytotoxic potential of BCE before and after the digestion was determined using a hemocytometer to estimate the proliferation rate, and an MTT assay to evaluate the viability of cells. Moreover, the effect of BCE was investigated on a level of DNA damage in intestinal epithelium cells that were either stimulated or not stimulated by  $H_2O_2$ . The results obtained showed a high anti-proliferation activity of BCE that depended on its concentration level. The determined values of  $IC_{50}$  doses applied to Caco-2 and HT-29 MTX were 9.24 and 3.55% (w/v), respectively. The *in vitro* digestion process with a long term exposition of BCE to the action of intestinal microflora caused a significant increase in the cytotoxic effect on HT-29 MTX cells. The comet assay results showed that BCE did not induce DNA lesions in the intestinal cells, but it had a protective action towards the oxidative damages in DNA induced by 100  $\mu M$   $H_2O_2$  in HT-29 MTX cells.

**Key words:** corn-bean extrudate, Red Kidney bean, cytotoxicity, Caco-2, HT-29 MTX ☒



JOANNA KLEPACKA, ŁUCJA FORNAL

## OKREŚLENIE ZALEŻNOŚCI MIĘDZY ZAWARTOŚCIĄ WYBRANYCH ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH A WARTOŚCIĄ PRZEMIAŁOWĄ ZIARNA PSZENICY

### Streszczenie

Celem badań było określenie zależności między zawartością wybranych frakcji związków fenolowych a cechami odmianowymi oraz wartością przemiałową ziarna pszenicy.

Do badań wybrano ziarno 10 odmian pszenicy uprawianej w Polsce, należące do różnych klas jakościowych, a w uzyskanej z nich mące i otrębach oznaczono zawartość: związków fenolowych ogółem oraz kwasu ferulowego. Określono również wydajność przemiału (wyciąg mąki) i na tej podstawie dokonano oceny wartości przemiałowej.

Uzyskane wyniki potwierdziły znany fakt większej zawartości związków fenolowych w otrębach pszenicznych (247,67 - 529,79  $\mu\text{g/g}$  s.m.) w porównaniu z mąką (62,26 - 135,00  $\mu\text{g/g}$  s.m.), co wynika ze specyfiki ich rozmieszczenia w ziarnie pszenicy. Między grupami odmian, należącymi do różnych klas jakościowych, nie wykazano różnic pod względem ogólnej zawartości wolnych związków fenolowych. Odmiany ozime charakteryzowały się większą zmiennością zawartości związków fenolowych ogółem, w porównaniu z odmianami jarymi. Zawartość kwasu ferulowego w mące analizowanych odmian mieściła się w zakresie 45,92 - 75,20  $\mu\text{g/g}$  s.m., a w otrębach jego ilość była prawie dwudziestokrotnie wyższa i wynosiła od 1160,78 do 1372,63  $\mu\text{g/g}$  s.m. Wykazano różnice pod względem zawartości kwasu ferulowego w mące między odmianami ozimymi należącymi do klasy jakościowej A a odmianami należącymi do klas B i C. Odmiany jare nie różniły się pod względem zawartości kwasu ferulowego w zależności od klasy jakościowej ziarna. Zawartość związków fenolowych zależała od wartości przemiałowej analizowanych odmian pszenicy. Wykazano, że istnieje zależność korelacyjna statystycznie istotna między wydajnością przemiału a ilością kwasu ferulowego zawartego w mące badanych odmian ozimych ( $r = -0,554$ ). Stwierdzono również, że wraz ze wzrostem wydajności przemiału maleje zawartość ogólnej ilości związków fenolowych w otrębach odmian ozimych ( $r = -0,623$ ).

**Słowa kluczowe:** pszenica, wartość przemiałowa, wyciąg mąki, związki fenolowe, kwas ferulowy

## Wprowadzenie

Związki fenolowe występują tylko w roślinach i należą do ważniejszych wtórnych produktów ich metabolizmu. Charakteryzują się dużą różnorodnością budowy chemicznej. Występują m.in. w postaci wolnej i związanej z takimi składnikami, jak: białka, polisacharydy i kwasy organiczne. Wykryto ponad 800 aglikonów i około 4000 tych związków w formie glikozydów, estrów oraz w innych połączeniach [1]. Badania naukowe dowodzą, że wzrastający w diecie człowieka udział produktów roślinnych wpływa na zmniejszenie zachorowań na nowotwory i choroby serca. Jedną z możliwych dróg wyjaśnienia tego faktu stało się określenie roli przeciwutleniaczy w zmniejszeniu zapadalności na choroby zwyrodnieniowe i łagodzeniu ich objawów. Wolne rodniki są czynnikami ryzyka w ponad 100 chorobach, włączając w nie nowotwory, arteriosklerozę, reumatyzm, zapalenie jelita, czy zaćmę [19]. Procesom oksydacyjnym zapobiega się przez dodatek przeciwutleniaczy. Zastosowanie syntetycznych przeciwutleniaczy jest ograniczone ze względu na ich toksyczność, dlatego też wzrasta zainteresowanie naturalnymi produktami roślinnymi, jako źródłem bezpiecznych antyoksydantów [4]. Ze względu na skalę spożycia znaczącym źródłem przeciwutleniaczy mogą być produkty zbożowe. Aktywność przeciwutleniająca wyciągów z produktów zbożowych wykazuje korelację z zawartością w tych produktach fenoli roślinnych [2]. Zboża zawierają liczne frakcje związków fenolowych, wśród których szczególne znaczenie mają kwasy fenolowe [7]. W ziarnie pszenicy w największych ilościach występuje kwas ferulowy. Występuje on głównie w okrywie nasiennej, warstwie aleuronowej oraz zarodku, a jedynie w śladowych ilościach obecny jest w bielmie skrobiowym ziarniaków [16]. Lempereur i wsp. [12] wykazali, że ilość kwasu ferulowego w ziarniakach pszenicy zależy od jej cech odmianowych oraz od wielkości ziarniaków.

Celem pracy było określenie wpływu cech odmianowych oraz wartości przemiałowej ziarna pszenicy jarej i ozimej na zawartość wolnych związków fenolowych i kwasu ferulowego w mące i otrębach.

## Material i metody badań

Badano ziarno pszenicy odmian ozimych i jarych, jednolite odmianowo, pochodzące ze zbiorów z 2001 roku ze Stacji Hodowli Roślin we Wroclikowie (woj. warmińsko-mazurskie), należące do różnych klas jakościowych (tab. 1).

Ziarno pszenicy oczyszczano ręcznie z zanieczyszczeń luźno związanych. Do badań wydzielano frakcję ziarna o grubości większej od 1,7 mm. Oznaczano zawartość wody w ziarnie i doprowadzano jego wilgotność (po 24-godzinnym leżakowaniu) do 14 %. Przed samym przemiałem ziarno nawilżano do 14,5 % wilgotności. Z każdej odmiany pszenicy wydzielano po 3 próby ziarna, z których otrzymywano mąkę i otręby w wyniku przemiału w młynie laboratoryjnym Quadrumat Junior firmy Brabender.

Tabela 1

Klasyfikacja odmian pszenicy wg COBORU.

Classification of wheat varieties according to COBORU (Research Centre for Cultivar Testing).

	Odmiana Variety	Klasa jakości Quality grade	Rok wpisania do rejestru odmian Year when the wheat varieties were entered into the Register of Varieties
Odmiany ozime Winter varieties	Korweta	A	1997
	Zyta	A	1999
	Mewa	B	1998
	Rysa	B	1998
	Sakwa	C(B)	1996
	Kris	C	2000
Odmiany jare Spring varieties	Jasna	A	1996
	Opatka	A	1999
	Eta	B	1986
	Hena	B	1997

Źródło: / Source: [5, 6]

W doświadczeniu oznaczano:

- wydajność przemiału poprzez: przemiał ziarna o masie 200 g, określenie masy uzyskanej mąki i otrąb oraz obliczenie procentowego udziału (wyciągu) mąki;
- zawartość wolnych związków fenolowych ogółem metodą spektrofotometryczną wg Ribereau-Gayon [21] z zastosowaniem ekstrakcji związków fenolowych za pomocą metanolu. Metanol odparowywano i wywoływano reakcję barwną za pomocą odczynnika Folina-Ciocalteu'a i węgla sodu. Pomiar barwy przeprowadzono przy długości fali 720 nm. Wyniki wyrażono jako ekwiwalent D-katechiny użytej do wykonania krzywej wzorcowej;
- zawartość kwasu ferulowego metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej [20] z zastosowaniem hydrolizy kwasowej i enzymatycznej oraz rozdziel kwasu ferulowego w kolumnie chromatograficznej długości 150 mm wypełnionej żelalem krzemionkowym modyfikowanym chemicznie o granulacji 5 µm.

Wszystkie oznaczenia wykonywano w 3 powtórzeniach.

Analiza statystyczna wyników obejmowała obliczenie: wartości średnich, odchyleń standardowych, współczynników zmienności oraz współczynników korelacji między wybranymi wskaźnikami [23].

## Wyniki i dyskusja

Wyciąg mąki uzyskanej z ziarna pszenicy odmian ozimych kształtował się na poziomie od 69,88 do 77,01 % (tab. 2), natomiast w przypadku odmian jarych wynosił od 70,54 do 74,54 % (tab. 3).

Tabela 2

Wydajność przemiału oraz zawartość związków fenolowych w mące i otrębach uzyskanych z ziarna pszenicy formy ozimej.

Milling quality and the content of phenolic compounds in flour and bran produced of winter wheat grains.

Odmiana Variety	Klasa jakości Quality grade	Wyciąg mąki Yield of flour [%]		Zawartość wolnych związków fenolowych ogółem Content of total free phenolic compounds [ $\mu\text{g/g s.m. / d.m.}$ ]				Zawartość kwasu ferulowego Content of ferulic acid [ $\mu\text{g/g s.m. / d.m.}$ ]			
		$x_{1,2,3}$	$\bar{X}$	Mąka Flour		Otręby Bran		Mąka Flour		Otręby Bran	
				$x_{1,2,3}$	$\bar{X}$	$x_{1,2,3}$	$\bar{X}$	$x_{1,2,3}$	$\bar{X}$	$x_{1,2,3}$	$\bar{X}$
Korweta	A	69,55	69,88	64,49	62,26	513,68	529,79	57,53	61,06	1263,34	1301,19
		70,07		64,70		549,36		64,93		1363,66	
		70,02		57,59		526,32		60,73		1276,58	
Zyta	A	74,96	74,16	102,51	101,61	246,14	247,67	55,65	55,19	1316,77	1258,91
		74,21		101,85		251,27		56,71		1165,68	
		73,31		100,48		245,60		53,21		1294,29	
Mewa	B	77,05	77,01	80,59	84,00	346,00	332,09	47,52	47,11	1278,83	1288,82
		77,14		86,59		323,17		46,35		1304,94	
		76,84		84,83		327,09		47,47		1282,70	
Rysa	B	72,96	72,61	141,83	135,00	325,93	319,77	48,37	45,92	1341,88	1372,63
		72,36		126,08		312,20		43,56		1402,31	
		72,51		137,10		321,18		45,84		1373,71	
Sakwa	C (B)	71,86	72,40	88,80	88,97	336,99	324,34	76,16	75,20	1168,92	1184,87
		72,65		90,90		324,31		74,34		1211,05	
		72,69		87,22		311,71		75,10		1174,64	
Kris	C	69,68	70,65	104,47	103,73	377,66	365,80	61,89	66,14	1174,25	1173,80
		70,72		101,81		353,89		70,68		1182,93	
		71,55		104,90		365,85		65,86		1164,21	
Wartość średnia Mean value		72,79		95,93		353,24		58,44		1263,37	
Odchylenie standardowe Standard deviation		2,46		23,05		89,54		10,89		79,46	
Współczynnik zmienności [%] Coefficient of variation		3,38		24,03		23,35		18,63		6,29	

Tabela 3

Wydajność przemiału oraz zawartość związków fenolowych w mące i otrębach uzyskanych z ziarna pszenicy formy jarej.

Milling quality and the content of phenolic compounds in flour and bran produced of spring wheat grains.

Odmiana Variety	Klasa jakości Quality grade	Wyciąg mąki Yield of flour [%]		Zawartość wolnych związków fenolowych ogółem [µg/g s.m.] Content of total free phenolic compounds [µg/g d.m.]				Zawartość kwasu ferulowego [µg/g s.m.] Content of ferulic acid [µg/g d.m.]			
		x <sub>1,2,3</sub>	$\bar{X}$	Mąka Flour		Otręby Bran		Mąka Flour		Otręby Bran	
				x <sub>1,2,3</sub>	$\bar{X}$	x <sub>1,2,3</sub>	$\bar{X}$	x <sub>1,2,3</sub>	$\bar{X}$	x <sub>1,2,3</sub>	$\bar{X}$
		Jasna	A	74,96 74,23 74,25	74,48	84,27 86,53 93,40	88,07	385,52 381,26 395,77	387,52	54,02 52,88 57,46	54,79
Opatka	A	74,72 74,85 74,04	74,54	102,58 97,64 95,65	98,62	376,05 359,67 365,61	367,11	48,40 51,88 50,75	50,34	1233,12 1224,11 1208,47	1221,90
Eta	B	70,85 71,38 71,46	71,23	83,26 84,36 84,18	83,93	292,96 312,34 317,42	307,57	56,27 51,58 50,22	52,69	1172,57 1137,20 1172,57	1160,78
Hena	B	70,25 70,68 70,69	70,54	116,32 111,54 110,94	112,93	401,29 364,40 400,73	388,81	52,15 63,67 56,36	57,39	1208,96 1300,71 1300,73	1270,13
Wartość średnia Mean value		72,70		95,89		362,75		53,80		1226,98	
Odchylenie standardowe Standard deviation		1,93		12,04		36,36		4,12		55,71	
Współczynnik zmienności [%] Coefficient of variation		2,65		12,56		10,02		7,66		4,54	

Analiza zawartości wolnych związków fenolowych ogółem potwierdziła znaną zależność większej ich ilości w otrębach pszenicznych (247,67 - 529,79 µg/g s.m.) w porównaniu z mąką (62,26 - 135,00 µg/g s.m) (tab. 2 i 3). Zależności te zostały stwierdzone już we wcześniejszych badaniach prowadzonych w Katedrze Towaroznawstwa i Badań Żywności UWM w Olsztynie [9, 10, 11]. Wykazano, że zawartość związków fenolowych ogółem w otrębach uzyskanych z wybranych odmian pszenicy uprawianej w Polsce w latach 1995, 1998, 1999 i 2000 wynosiła średnio 773,51 µg/g

i była około 3-krotnie większa niż w mące, w której średnia zawartość tych związków wynosiła 217, 934  $\mu\text{g/g}$ .

Zawartość wolnej frakcji związków fenolowych różnicowała poszczególne odmiany pszenicy (tab. 2 i 3). Odmiany ozime charakteryzowały się większą, w porównaniu z odmianami jarymi, zmiennością zawartości związków fenolowych ogółem zarówno w mące, jak i w otrębach. Zawartość tej frakcji związków polifenolowych w mące odmian ozimych kształtowała się na poziomie od 62,26 do 135,00  $\mu\text{g/g}$  s.m. (współczynnik zmienności  $v = 24,03\%$ ), natomiast w mące odmian jarych wynosiła od 83,93 do 112,93  $\mu\text{g/g}$  s.m. ( $v = 12,56\%$ ). Zakres zawartości związków fenolowych ogółem w otrębach pszenicznych to 247,67 – 529,79  $\mu\text{g/g}$  s.m. ( $v = 23,35\%$ ) w odmianach ozimych i 307,57 – 388,81  $\mu\text{g/g}$  s.m. ( $v = 10,02\%$ ) w przypadku odmian jarych (tab. 2 i 3). Większe zróżnicowanie zarówno cech rolniczych, jak i użytkowych odmian pszenicy ozimej potwierdzone jest w Liście Opisowej Odmian [13] i w badaniach Kaczyńskiego [5, 6].

Stwierdzono, że zawartość związków fenolowych ogółem zależy od cech odmianowych analizowanego ziarna pszenicy, ale nie wykazuje związków z wartością technologiczną (klasą jakości). Na zależności między zawartością związków fenolowych ogółem a cechami odmianowymi i gatunkowymi surowców roślinnych wskazują również badania Maillarda i wsp. [15]. Analizowali oni ziarno jęczmienia browarnego i stwierdzili, że w zależności od badanej odmiany zawiera ono od 930 do 1140  $\mu\text{g/g}$  związków fenolowych ogółem. Badania Zielińskiego i Troszyńskiej [25] wykazały, że zawartość związków fenolowych różnicuje nie tylko poszczególne odmiany, ale również gatunki surowców roślinnych. Autorzy ci wykazali, że ogólna zawartość związków fenolowych w obłuszczonych nasionach gryki wynosi 4082  $\mu\text{g/g}$ , w ziarnie jęczmienia 1118  $\mu\text{g/g}$ , w ziarnie żyta i owsa polifenole roślinne występują na poziomie od 656 do 669  $\mu\text{g/g}$ , a w ziarnie pszenicy jest ich 548  $\mu\text{g/g}$ .

Analiza zależności między wydajnością przemiału a zawartością wolnych związków fenolowych ogółem wykazała, że istnieje zależność korelacyjna statystycznie istotna między ilością związków fenolowych zawartych w otrębach pszenicy ozimej a wydajnością przemiału ( $r = -0,623$ ) (tab. 4). Wraz ze wzrostem wyciągu mąki malała zawartość wolnych związków fenolowych występujących w otrębach.

Zawartość kwasu ferulowego zależała od cech odmianowych pszenicy i w mące analizowanych odmian mieściła się w zakresie od 45,92 do 75,20  $\mu\text{g/g}$  s.m., a w otrębach była prawie dwudziestokrotnie wyższa i wynosiła od 1160,78 do 1372, 63  $\mu\text{g/g}$  s.m. (tab. 2 i 3). Różnice te wynikają z faktu, że kwas ferulowy w ziarnie pszenicy umiejscowiony jest głównie w okrywie nasiennej i warstwie aleuronowej, które w wyniku przemiału ziarna stanowią frakcję otrąb, a jedynie w śladowych ilościach obecny jest w bielmie skrobiowym ziarna [17]. Kelfkens [8] wykorzystał oznaczanie zawarto-

ści kwasu ferulowego do postawienia pytania, czy nie daje on lepszych, niż zawartość popiołu, możliwości oceny obecności cząstek okrywy w mące. Teza badań zawierała założenie, że zawartość kwasu ferulowego w mące jasnej wynosi około 40 µg/g, natomiast w próbkach otręb pobieranych w młynach jego ilość może dochodzić do poziomu 1500 µg/g. Rybka i wsp. [22] wykazali wyraźnie większą zawartość kwasu ferulowego w otrębach pszennych (1964 µg/g), w porównaniu z mąką (199 µg/g), a Nishizawa i wsp. [18] określili zawartość kwasu ferulowego w zakresie od 4,7 do 7,9 µg/g w mące pszennej i 1272 µg/g w całym ziarnie. Zależność większej zawartości kwasu ferulowego w całym ziarnie pszenicy w porównaniu z mąką potwierdzona została badaniami Pussayanawina i Wetzla [20]. Autorzy ci wykazali, że w zależności od analizowanej odmiany pszenicy zawartość kwasu ferulowego w mące pszennej wynosiła od 38,3 do 44,3 µg/g, natomiast w całym ziarnie jego zawartość kształtowała się na poziomie od 489,9 do 521,3 µg/g.

Tabela 4

Współczynniki korelacji między zawartością związków fenolowych a wyciągiem mąki.

Coefficients of correlations between the content of phenolic compounds and the flour yield.

Odmiany Varieties	Współczynniki korelacji między zawartością wolnych związków fenolowych ogółem a wyciągiem mąki Coefficients of correlation between total free phenolic compounds and yield of flour		Współczynniki korelacji między zawartością kwasu ferulowego a wyciągiem mąki Coefficient of correlation between ferulic acid content and yield of flour	
	Mąka Flour	Otręby Bran	Mąka Flour	Otręby Bran
Ozime Winter	0,110	-0,623*	-0,554*	0,201
Jare Spring	-0,100	0,551	-0,390	0,391

\* - współczynniki korelacji statystycznie istotne / statistically significant correlation coefficients.

Podobnie, jak w przypadku zawartości związków fenolowych, również zawartość kwasu ferulowego zależała od cech odmianowych badanego ziarna i była bardziej zróżnicowana w otrębach odmian ozimych. Wykazano różnice zawartości kwasu ferulowego w mące między odmianami ozimymi należącymi do klasy jakościowej A a odmianami należącymi do klas B i C. Odmiany jare nie różniły się pod względem zawartości kwasu ferulowego w zależności od klasy jakościowej. Zawartość kwasu ferulowego jako cecha odmianowa ziarna pszenicy udokumentowana jest w wielu badaniach. Maga i Lorenz [14] wykazali zmienność zawartości kwasu ferulowego

w mąkach pszennych uzyskanych z różnych odmian pszenicy w zakresie od 25 do 32  $\mu\text{g/g}$ . Pussayanawin i Wetzel [20] analizowali występowanie kwasu ferulowego w pszenicy amerykańskiej i wykazali, że jego zawartość w całym ziarnie zmienia się w zakresie od 489,9 do 521,3  $\mu\text{g/g}$  w zależności od odmiany. Rybka i wsp. [22] oznaczyli zawartość kwasu ferulowego w polskich odmianach pszenicy na poziomie od 772 do 982  $\mu\text{g/g}$  w zależności od analizowanych odmian, natomiast Weidner i wsp. [24] podają, że kwas ferulowy występujący w połączeniach estrowych różnicuje polskie odmiany pszenicy i mieści się w zakresie od 13,51 do 24,91  $\mu\text{g/g}$ . Oprócz genotypu odmiany zawartość kwasu ferulowego zależy również od warunków jej uprawy. Lempereur i wsp. [12] analizowali zawartość kwasu ferulowego w pięciu odmianach pszenicy francuskiej i wykazali, że mieści się ona w zakresie od 780 do 1980  $\mu\text{g/g}$  w zależności od cech odmianowych i warunków uprawy (stosowano różny poziom nawożenia azotowego i nawadniania). Różnice w podawanej przez różnych autorów zawartości kwasu ferulowego, oprócz zmienności odmianowej analizowanego ziarna pszenicy i odmiennych warunków środowiskowych, wynikają też ze zróżnicowanych terminów zbioru, odmiennego sposobu przygotowania próbek do badań oraz stosowania różnych metod analitycznych.

Analizując zależności między wydajnością przemiału a zawartością kwasu ferulowego stwierdzono występowanie statystycznie istotnej korelacji pomiędzy wyciągiem mąki a zawartością kwasu ferulowego w mące uzyskanej z pszenicy odmian ozimych ( $r = -0,554$ ) (tab. 4). Wraz ze wzrostem wydajności przemiału malała zawartość kwasu ferulowego występującego w mące pszennej. Na zależności między wyciągiem mąki a zawartością w niej kwasu ferulowego wskazują również badania Hatcherera i Krugera [3]. Analizowali oni zawartość kwasu ferulowego w ziarnie i mące pszennej o różnym wyciągu, pochodzącej z pięciu odmian pszenicy kanadyjskiej. Badali zawartość kwasu ferulowego występującego w rozpuszczalnych połączeniach estrowych i w połączeniach nierozpuszczalnych. Kwas ferulowy w połączeniach estrowych występował na poziomie od 8,6 do 17,6  $\mu\text{g/g}$  w całych ziarniakach różnych odmian i w zakresie od 1,4 do 2  $\mu\text{g/g}$  w mące o wyciągu 75 %, 2,1 – 5,2  $\mu\text{g/g}$  w mące o wyciągu 80 % i 4,6 – 7,8  $\mu\text{g/g}$  w mące o wyciągu 85 %. Zawartość kwasu ferulowego występującego w połączeniach nierozpuszczalnych w całych ziarnach pszenicy kształtowała się w zakresie od 274,8 do 337,6  $\mu\text{g/g}$  w zależności od odmiany, w mące o wyciągu 75 % zmieniała się w zakresie od 57,5 do 75,7  $\mu\text{g/g}$ , przy wyciągu 80 % kwas ferulowy występował w ilości od 46,3 do 100,0  $\mu\text{g/g}$ , a przy wyciągu 85 % jego zawartość zmieniała się w zakresie od 160,2 do 179,2  $\mu\text{g/g}$ .



## Wnioski

1. Duże różnice zawartości związków fenolowych występujących w otrębach pszennych, w porównaniu z mąką, są wynikiem ich rozmieszczenia w ziarniakach pszenicy.
2. Zawartość wolnych związków fenolowych ogółem oraz kwasu ferulowego są cechami odmianowymi pszenicy i wykazują zależności korelacyjne z wartością przemiałową odmian ozimych, określoną na podstawie wyciągu mąki. Wraz ze wzrostem wyciągu mąki malała zawartość wolnych związków fenolowych w otrębach ( $r = -0,623$ ) oraz zawartość kwasu ferulowego w mące ( $r = -0,554$ ).

## Literatura

- [1] Andersen M.L., Lauridsen R.K., Skibsted L.H.: Power of phenolic compounds. *Functional Foods & Nutraceuticals*, 2005, 3, 44-48.
- [2] Bourne L.C., Rice-Evans C.: Bioavailability of ferulic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998, 253, 222-227.
- [3] Hatcher D.W., Kruger J.E.: Simple phenolic acids in flours prepared from Canadian wheat: relationship to ash content, colour, and polyphenol oxidase activity. *Cereal Chem.*, 1997, 74 (3), 337-343.
- [4] Holasova M., Fiedlerova V., Smrcinova H., Orsak M., Lachman J., Vavreinova S.: Buckwheat - the source of antioxidant activity in functional foods. *Food Res. Int.*, 2002, 35, 207-211.
- [5] Kaczyński L.: Odmiany pszenicy odpowiednie dla przemysłu młynarsko-piekarskiego. Stan aktualny, wyniki badań zbiorów z lat 1999-2001. *Prz. Zboż. Młyn.*, 2002, 7, 3-7.
- [6] Kaczyński L.: Pszenica dla przemysłu młynarsko-piekarskiego. *Agrochemia*, 2000, 8, 4-6.
- [7] Karakaya S., Taylor & Francis: Bioavailability of phenolic compounds. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2004, 44 (6), 453-464.
- [8] Kelfkens M.: Vorausbestimmung der Daulfähigkeit von Weizen. *Die Muhle Mischfuttertechnik*, 1995, 1322, 51/52, 871-875.
- [9] Klepacka J., Fornal Ł., Borejszo Z., Gudaczewski W.: Optical density of wheat grain surface and content of phenolic compounds in wheat coat. *Natur. Sci.*, 1999, 3, 245-261.
- [10] Klepacka J., Fornal Ł., Borejszo Z.: The content of ferulic acid and the seed coat colour of wheat of different technological quality. *Techn. Sci.*, 2000, 6, 55-65.
- [11] Klepacka J., Fornal Ł., Konopka S., Choszcz D.: Relations between ferulic acid content in wheat coat, and milling quality and colour of grain. *Food Sci. Technol.*, 2002, 5 (2), 1-11.
- [12] Lempereur I., Rouau X., Abecassis J.: Genetic and agronomic variation in arabinoxylan and ferulic acid contents of durum wheat (*Triticum durum* L.) grain and its milling fractions. *J. Cereal Sci.*, 1997, 25, 103-110.
- [13] Lista opisowa odmian: Rośliny rolnicze (zbożowe, przemysłowe). Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych, Słupia Wielka 2005.
- [14] Maga J.A., Lorenz K.: Phenolic acid composition and distribution in wheat flours and various triticale milling fractions. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1974, 7 (5), 273-278.
- [15] Maillard M.N., Soum M.H., Boivin P., Berset C.: Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1996, 29, 238-244.
- [16] McKeehen J.D., Busch R.H., Fulcher R.G.: Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) phenolic acids during grain development and their contribution to *Fusarium* resistance. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47, 1476-1482.
- [17] Morales F., Cerovic Z.G., Moya I.: Time-resolved blue-green fluorescence of sugar beet (*Beta vul-*

- garis* L.) leaves. Spectroscopic evidence for the presence of ferulic acid as the main fluorophore of the epidermis. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996, **1273**, 251-262.
- [18] Nishizawa Ch., Ohta T., Egashira Y., Sanada H.: Ferulic acid contents in typical cereals. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi*, 1998, **45** (8), 499-503.
- [19] Parr A.J., Bolwell G.O.: Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile (review). *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80**, 985-1012.
- [20] Pussayanawin V., Wetzel D.L.: High-Performance Liquid Chromatographic determination of ferulic acid in wheat milling fractions as a measure of bran contamination. *J. Chromatography*, 1987, **391**, 243-255.
- [21] Ribereau-Gayon P.: *Plant phenolics*. Hafner Publishing Company, New York 1972.
- [22] Rybka K., Sitariski J., Raczyńska-Bojanowska K.: Ferulic acid in rye and wheat grain and grain dietary fiber. *Cereal Chem.*, 1993, **70** (1), 55-59.
- [23] Statistica PL: *Podręcznik użytkownika*. Wydawnictwo StatSoft Polska, Kraków 1997.
- [24] Weidner S., Amarowicz R., Karamać M., Dąbrowski G.: Phenolic acids in caryopses of two cultivars of wheat, rye and triticale that display different resistance to pre-harvest sprouting. *Eur. Food Res. Technol.*, 1999, **210**, 109-113.
- [25] Zieliński H., Troszyńska A.: Antioxidant capacity of raw and hydrothermal processed cereal grains. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2000, **9/50**, (3S), 79-83.

#### RESEARCH INTO CORRELATIONS BETWEEN THE CONTENT OF SOME SELECTED PHENOLIC COMPOUNDS AND THE MILLING QUALITY OF WHEAT GRAIN

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

The objective of the research was to determine the correlations between the content of some selected fractions of phenolics and the variety-dependent properties & milling quality of wheat grain.

For investigations, grains of 10 wheat varieties grown in Poland were taken; the grains represented different quality grades. In the flour made of those grains, the contents of total phenolic compounds and ferulic acid were determined. The milling quality (yield of flour) was also determined, and, on this basis, the milling quality was assessed.

The results obtained confirmed the known correlation fact, i.e. that the content of total free phenolics was higher in the bran (247.67-529.79 µg/g d.m.) than in the flour (62.26-135.00 µg/g d.m.), which resulted from the specificity of location of those compounds in wheat grain. No differences referring to the total content of free phenolic compounds were found among the groups of wheat varieties having different quality grades. The winter varieties of wheat were characterized by a higher variability in the content of total phenolics than the spring varieties. The content of ferulic acid in the flour made of wheat varieties investigated ranged from 45.92 to 75.20 µg/g d.m. and in the bran from 1160.78-1372.63 µg/g d.m., i.e. this content was almost 20 times higher in the bran than in the flour. The differences were proved to exist in the content of ferulic acid in the flour produced of winter wheat varieties of 'A' quality grade and of the varieties of 'B' and 'C' quality grade. With regard to the content of ferulic acid, the spring varieties showing various grain quality grades did not differ significantly from each other. The content of phenolic compounds depended on the milling quality of the wheat varieties analysed. It was proved that there was a statistically significant correlation between the milling quality and the content of ferulic acid in the flour of the winter wheat varieties investigated ( $r = -0.554$ ). It was also found that the content of total phenolic compounds in bran made of winter wheat varieties decreased along with the increase in the yield of flour ( $r = -0.623$ ).

**Key words:** wheat, milling quality, yield of flour, phenolic compounds, ferulic acid ☒

MAREK GIBIŃSKI

## CHARAKTERYSTYKA CHEMICZNA I ŻYWIENIOWA HYDROLIZATÓW OWSIANYCH O NISKIM STOPNIU SCUKRZENIA

### Streszczenie

Ziarno czterech odmian owsa poddano hydrolizie enzymatycznej, a uzyskane preparaty oceniono pod względem chemicznym, sensorycznym i żywieniowym. W celach porównawczych wykorzystano handlowy preparat hydrolizatu owsianego Oatrim 5, wyprodukowany przez Meyhall Chemical AG, w Kreuzlingen (Holandia). Oceniono również wpływ odmiany owsa na proces uzyskiwania hydrolizatu, a także na wydajność gotowego produktu.

Ocena sensoryczna nie wykazała istotnych różnic pomiędzy próbkami. W badanych preparatach, w porównaniu z preparatem Oatrim 5, wykazano natomiast większą zawartość związków mineralnych w postaci popiołu, związaną z pojawieniem się jonów chlorkowych, wyższą wartość wskaźnika DE oraz większą zawartość cukrów prostych. Wzrost wielkości tych wartości był spowodowany zastosowaniem odmiennego sposobu przeprowadzenia inaktywacji enzymu w procesie otrzymywania preparatu. Na szczególną uwagę zasługuje zdolność użytych w diecie preparatów do obniżania zawartości cholesterolu całkowitego, frakcji LDL, przy jednoczesnym wzroście poziomu frakcji HDL - (badania przeprowadzono na szczurach), potwierdzając tym samym szeroko opisywane właściwości hipocholesterolemiczne zawartych w owsie  $\beta$ -glukanów. Wykazano także, że ilość uzyskanego preparatu związana jest z obecnością tłuszczu w ziarnie owsa. Wzrost zawartości tego składnika w ziarnie przyczynia się do zmniejszenia wydajności procesu, a także utrudnia sam przebieg uzyskiwania preparatu na etapach sączenia i dekantacji.

**Słowa kluczowe:** owies, hydrolizat owsiany, właściwości hipocholesterolemiczne,  $\beta$ -glukany

### Wprowadzenie

Ziarno owsa charakteryzuje się bogactwem związków, na które składają się: białka, aminokwasy egzogenne, sacharydy, frakcja nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), błonnik z rozpuszczalną frakcją  $\beta$ -glukanów, tokoferole i witaminy z grupy B oraz antyoksydanty, przy niskiej zawartości sodu. Szereg tych związków odgrywa istotną rolę żywieniową, w tym budulcową oraz wspomagającą i oczyszczającą, budzi więc duże zainteresowanie wśród żywieniowców, konsumentów i lekarzy [8]. Prowa-

dzony są liczne prace nad wykorzystaniem i zastosowaniem ziarna owsa jako surowca w technologii produktów spożywczych [3, 20, 32]. Zawartość skrobi (ok. 45 – 55 %) oraz szczególnie wysoka zawartość rozpuszczalnej frakcji błonnika –  $\beta$ -glukanów (3,5 – 5,5 %) umożliwiła uzyskanie hydrolizatu owsianego [6, 12, 13], stwarzającego możliwość substytucji tłuszczu, a także dostarczania do organizmu tych związków, których właściwości zdrowotne były szczegółowo opisane [3, 7, 8, 17, 20, 31, 32].

Wprowadzenie do żywności nowego składnika wymusza określenie jego podstawowych właściwości gwarantujących bezpieczne stosowanie. Wprawdzie zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia [30] hydrolizaty skrobiowe uzyskane na drodze enzymatycznej mogą być stosowane w produktach spożywczych bez ograniczeń, ale mimo tego postanowiono przebadać uzyskane preparaty, oceniając ich wyróżniki sensoryczne, wskaźniki fizykochemiczne a także walory żywieniowe.

Celem pracy było określenie przydatności polskich odmian owsa do otrzymywania hydrolizatów, mających zastosowanie w produkcji żywności, na podstawie określenia ich właściwości chemicznych, sensorycznych, i żywieniowych oraz porównania z analogicznymi właściwościami handlowego preparatu hydrolizatu owsianego OATRIM 5, jak również zbadanie wpływu użytego surowca zbożowego na przebieg procesu otrzymywania i właściwości uzyskanego hydrolizatu.

### **Material i metody badań**

Hydrolizaty owsiane otrzymywano metodą Ingletta [12, 13], zmodyfikowanej przez Gibińskiego [6]. Materiałem wyjściowym było obłuszczone ziarno owsa odmian Chwat, Sam (SHR Strzelce k. Kutna), Cwał (SHR w Choryniu) oraz ziarno owsa nagi odmiany Akt (SHR Strzelce k/Kutna). Ześrutowane w młynku Tecator, firmy FOSS, ziarno owsa przesiewano przez sito o wielkości oczek 0,5 mm. Tak otrzymany z czterech odmian owsa materiał badawczy posłużył do otrzymania hydrolizatów owsianych [6]. Zastosowano hydrolizę enzymatyczną z udziałem termostabilnej  $\alpha$ -amylazy bakteryjnej (*Bacillus licheniformis*) NERVANAZE - T (firmy Ubichem) o optimum działania: temp. 95 – 105 °C, pH = 5,8 - 6,2, aktywności preparatu 800 - 850 jednostek/cm<sup>3</sup> oznaczonych wg SKB. Inaktywację enzymu prowadzono metodą kwasową. Eluat odsączano i zamrażano po czym suszono liofilizacyjnie w suszarce Ralpa 1-4 LSC firmy Christ. Po wysuszeniu określano wydajność hydrolizatu z każdej badanej odmiany owsa. W celu porównania właściwości uzyskanych preparatów hydrolizatów jako próbkę odniesienia użyto preparatu OATRIM 5, wyprodukowanego przez Meyhall Chemical AG (Kreuzlingen, Holandia).

Wykonywano następujące analizy:

a) w próbkach owsa oznaczano zawartość:

- białka ogółem (N×6,25) metodą Kjeldahla [26], Mineralizację i destylację prowadzono w aparatach Digestion Unit B-426 oraz Destillation Unit B-342 firmy Büchi;
  - tłuszczu surowego metodą Soxhleta [27],
  - skrobi metodą Clendenninga wg ICC Standard no. 122/1 [14],
  - cukrów redukujących metodą Luffa–Schoorla wg Kirk, Sawyer [19],
  - $\beta$ -glukanów wg ICC Standard no. 168 [15],
  - włókna pokarmowego wg AOAC Standard no. 985. 29 [2],
  - związków mineralnych w postaci popiołu ogółem wg PN ISO 2171:1994 [25],
- b) w hydrolizatach owsianych oznaczano:
- zawartość błonnika, białka, tłuszczu, skrobi,  $\beta$ -glukanów, popiołu, jak w podpunkcie a,
  - zawartość oligomerów glukozy w zakresie G<sub>1</sub>–G<sub>8</sub> metodą chromatografii HPLC (Brookes, Griffin 1987) [4],
  - zawartość metali ciężkich: (Hg, Cd, Cu) – [20], (Pb) [33],
  - zawartość chlorków – wg PN-90/A-75101/10 [11],
  - wartość równoważnika glukozowego – DE, zgodnie z PN-EN ISO 5377:2001 [28],
  - pH przy użyciu pehametru CPC 551, firmy Elmetron.

W gotowych hydrolizatach w sposób opisowy oceniano organoleptycznie: barwę, smak, zapach i konsystencję. Przeprowadzono także, zgodnie z wymaganiami etycznymi, laboratoryjne próby żywieniowe w celu stwierdzenia czy otrzymany hydrolizat wykazuje hipocholesterolemiczne oddziaływanie. Badania prowadzono na 16 albinotycznych samcach szczurów doświadczalnych odmiany Vistar, o średniej początkowej masie ciała 112 - 115 g, przez 18 dni. Skład diety dla poszczególnych grup był następujący:

- grupa 1 – kontrolna – skrobia kukurydziana oraz dodatki wywołujące hipocholesterolemię: 0,5 % kwasu cholowego, 1 % cholesterolu, 7 % smalcu;
- grupa 2 – badana - skrobia kukurydziana z 10 % dodatkiem badanego hydrolizatu oraz dieta wywołująca hipocholesterolemię w składzie jw.

Wodę podawano w ilościach nieograniczonych. Po zakończeniu doświadczenia szczury usypiano chloroformem, podawano tiopental rozkurczający mięśnie i pobierano krew bezpośrednio z serca. Próbki analizowano w Medycznym Centrum Diagnostycznym w Krakowie, w którym metodami enzymatycznymi, wg zestawów firmy Human [16], oznaczano: zawartość triacylogliceroli (TG), cholesterolu całkowitego oraz jego frakcji HDL i LDL.

Przedstawione we wszystkich umieszczonych w pracy tabelach dane, przeliczone zostały na suchą masę i stanowią średnie arytmetyczne z co najmniej dwóch równoległych, nie różniących się od siebie w sposób istotny powtórzeń. Metodą jednoczynni-

kowej analizy wariancji z zastosowaniem programu STAT Skierniewice 1998, obliczono współczynnik NIR przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

### Wyniki i analiza

Do badań użyto czterech odmian owsa, w tym trzech odmian owsa oplewionego (Cwał, Chwat, Sam) i jednej odmiany owsa nieoplewionego (nagiego) – Akt.

W tab. 1. przedstawiono skład chemiczny ziarna owsa, z którego otrzymano hydrolizaty.

Tabela 1

Skład chemiczny ziarna owsa przeznaczonego do otrzymywania hydrolizatu owsianego [% s.m.].  
Chemical composition of oat grain to be used in the production of oat hydrolysate [% d.m.]

Składnik Compound	Odmiana owsa / Oat variety			
	Cwał	Chwat	Sam	Akt
Skrobia Starch	47,5 <sup>a</sup>	43,6 <sup>a</sup>	45,6 <sup>a</sup>	64,2 <sup>b</sup>
Błonnik Dietary fibre	26,1 <sup>a</sup>	30,4 <sup>a</sup>	28,8 <sup>a</sup>	11,4 <sup>b</sup>
Białko Protein	12,2 <sup>a</sup>	12,5 <sup>a</sup>	11,6 <sup>a</sup>	15,8 <sup>b</sup>
Tłuszcz Fat	4,8 <sup>a</sup>	5,1 <sup>a</sup>	7,2 <sup>b</sup>	9,9 <sup>c</sup>
$\beta$ -glukany $\beta$ -glucans	3,7 <sup>a</sup>	4,5 <sup>b</sup>	4,4 <sup>b</sup>	4,9 <sup>c</sup>
Popiół Ash	2,7 <sup>a</sup>	2,8 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	2,0 <sup>b</sup>

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\* - najmniejsza istotna różnica (NIR) / The Least Significant Difference.

Wartości średnie w wierszach oznaczone tym samym indeksem literowym nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha = 0,05$ . / Mean values in the lines, and denoted by the same superscript letter, are not statistically significantly different at  $\alpha = 0.05$ .

Brak okrywy nasiennej na ziarnie owsa odmiany Akt wpłynął na zdecydowanie mniejszą w nim zawartość błonnika (11,4 %) w stosunku do odmian oplewionych: Cwał (26,1 %), Sam (28,8 %) i Chwat (30,4 %), a także na, powiązaną z obecnością błonnika, zawartość związków mineralnych w postaci popiołu. Równocześnie w ziarnie odmiany Akt odnotowano większą zawartość pozostałych głównych składników chemicznych, a mianowicie skrobi (64,2 %), białka (15,8 %), tłuszczu (9,9 %), a także

$\beta$ -glukanów (4,9 %). Zależność ta była już sygnalizowana we wcześniejszej pracy Gi-  
bińskiego i Berskiego [9]. Skład chemiczny pozostałych badanych trzech odmian owsa  
oplewionego nie wykazał statystycznie istotnych różnic pod względem zawartości  
poszczególnych składników chemicznych, za wyjątkiem zawartości  $\beta$ -glukanów. Za-  
wartość tego składnika w odmianie Cwał była najmniejsza i wynosiła 3,7 % – o 0,7  
i 0,8 % mniej w stosunku do pozostałych form oplewionych Sam i Chwat, a także  
o 1,2 % mniej od nagoziarnistej odmiany Akt, co stanowi zmniejszenie jego ilości aż  
o 1/3. Zróżnicowanie to potwierdzono także wcześniej w badaniach nad zawartością  
 $\beta$ -glukanów w ziarnie oplewionych odmian i rodów owsa, w których wykazano, że  
ilość  $\beta$ -glukanów jest cechą odmianową, najczęściej mieszczącą się w przedziale od  
3,3 do 4,5 % [9].

Gotowe hydrolizaty poddano ocenie organoleptycznej, chemicznej oraz badaniom  
żywnościowym. Wyniki oceny organoleptycznej hydrolizatów przedstawiono w tab. 2.

Tabela 2

Ocena organoleptyczna hydrolizatów owsianych .

Organoleptic assessment of oat hydrolysates.

Cecha Feature	Hydrolizat / Hydrolysate				
	Oatrim 5	Sam	Chwat	Akt	Cwał
Konsystencja Consistency	Proszek, sypki, brak zbryleń	Proszek, sypki, brak zbryleń	Proszek, sypki, brak zbryleń	Proszek puszysty z delikatnie mieniącymi się małymi płatkami	Proszek, sypki, brak zbryleń
Barwa Colour	Biała z odcieniem kremowym	Kremowa	Jasnokremowa	Jasnokremowa o jaśniejszym od- cieniu	Jasnokremowa
Zapach Smell	Słabo wyczuwalny, zbożowy	Słabo wyczuwalny, słodkavo- zbożowy	Słabo wyczuwalny słodki	Słabo wyczuwalny, zbożowy	Słabo wyczuwalny, słodki
Smak Taste	Bez smaku	Bez smaku	Bez smaku	Bez smaku	Bez smaku

Przeprowadzona ocena organoleptyczna nie wykazała zróżnicowania pomiędzy  
preparatem Oatrim 5, a otrzymanymi w pracy hydrolizatami owsianymi. Wszystkie  
próbki były bez smaku, o jasno kremowej bądź kremowej barwie, na którą wpływ

prawdopodobnie wywierał stopień zaawansowania procesu technologicznego (Oatrim 5) czy też mniejsza o ponad połowę w stosunku do odmian Chwat, Cwał i Sam ilość błonnika w odmianie Akt, delikatnym słodkavo-zbożowym zapachu i proszkowej, pozbawionej zbryleń konsystencji.

Wyniki analiz chemicznych przedstawiono w tab. 3.

W chromatograficznej analizie rozkładu oligomerów glukozy w zakresie G1 – G8 w próbkach hydrolizatów laboratoryjnych, w porównaniu z próbką Oatrim 5, stwierdzono większą zawartość fruktozy (Chwat o 50 %, Cwał o 40 %, Sam o 25 %) przy tym samym poziomie w preparacie uzyskanym z odmiany Akt, i jednocześnie mniejszą maltotriozy, maltotetraozy, maltopentaozy, maltoheptozy i maltooktaozy [6]. Na występujące różnicowanie może zdaniem Ingleta [12, 13] wywierać wpływ rodzaj użytego do hydrolizy enzymu. Podwyższony, w stosunku do preparatu Oatrim 5, poziom fruktozy w preparatach laboratoryjnych wywołany został także sposobem przeprowadzenia inaktywacji enzymu. Użycie kwasu spowodowało krótkotrwałą hydrolizę, w wyniku której mogła nieznacznie wzrosnąć ilość cukrów prostych [6].

Zawartość białka w ziarnie jest cechą dziedziczną, charakterystyczną dla danej odmiany i w krajowych odmianach owsa mieści się w przedziale od 12,0 do 16 % [5]. W uzyskanych hydrolizatach stwierdzono 2,8 – 3,3 % białka, przy czym wiadomo, że zawartość białka jest wprost proporcjonalnie skorelowana z zawartością białka w ziarniaku. Dwukrotnie większa zawartość białka w preparacie Oatrim 5 sugeruje, że do jego produkcji użyto wysokobiałkowej odmiany owsa. Tego rodzaju odmiany są typowe na rynku amerykańskim i kanadyjskim, często uzyskując 18 – 24 % zawartość białka [5].

Większa o 0,3 – 0,8 % zawartość popiołu w hydrolizatach laboratoryjnych, w stosunku do preparatu Oatrim 5, związana jest ze zwiększoną w nich obecnością jonów chlorkowych, występujących jako efekt zubożenia nadmiaru kwasu użytego do inaktywacji enzymu.

Mimo znacznych różnic zawartości błonnika i tłuszczu w ziarnie odmian owsa użytych do badań, ich obecność w gotowych preparatach była śladowa, na granicy czułości stosowanych metod, co świadczy o dobrze przeprowadzonym procesie oddzielenia frakcji stałej od hydrolizatu.

Wyniki analizy równoważnika glukozowego w hydrolizatach laboratoryjnych wahały się w przedziale (od 3,3 % – Akt do 5,9 % – Chwat) przy 2,8 % poziomie w preparacie handlowym Oatrim 5. Świadczy to o większej ilości powstałych cukrów redukujących w preparatach laboratoryjnych aniżeli w preparacie handlowym. Powodem tego mógł być zastosowany enzym, choć bardziej prawdopodobne wydaje się zastosowanie kwasu solnego jako czynnika inaktywującego enzym, ale równocześnie sprzyjającego dalszej, tym razem kwasowej hydrolizie blokowanej neutralizacją zasadową.



Tabela 3

Charakterystyka chemiczna hydrolizatów owsianych.

Chemical profile of oat hydrolysates.

Skład chemiczny / Cecha Chemical Profile / Feature	Badana próbka / Sample under investigation					
	Sam	Chwat	Cwał	Akt	Zakres wartości odmian Range of values for varieties	Oatrim 5
Oligomery glukozy <sup>x</sup> w zakresie G <sub>1</sub> – G <sub>8</sub> : Glucose oligomers in the range of G <sub>1</sub> – G <sub>8</sub> :						
fruktoza / fructose	1,4	1,7	1,6	1,1	1,1-1,7	1,1
glukoza / glucose	1,5	1,6	1,3	1,5	1,3-1,6	1,4
maltoza / maltose	-	-	-	-	-	-
maltotrioza / maltotriose	3,6	3,2	3,4	3,7	3,2-3,7	4,5
maltotetraoza / maltotetraose	4,6	4,6	4,1	4,5	4,1-4,6	5,4
maltopentaoza / maltopentose	3,8	3,4	3,7	3,2	3,2-3,8	4,1
maltoheptaosa / maltoheptose	4,2	3,9	4,0	4,4	3,9-4,4	4,8
maltoooktaosa / maltoooktose	5,4	5,1	5,6	5,3	5,1-5,6	6,1
cukry wyższe <sup>xx</sup> / higher sugars	65,5	66,3	67,1	66,8	65,5-67,1	61,5
	2,7	2,5	2,6	2,2	2,2-2,7	2,7
	3,2	3,1	3,4	3,0	3,0-3,4	3,5
	4,2	3,8	4,1	4,2	3,8-4,2	4,9
Białko ogółem / Total protein [%]	3,0 <sup>a</sup>	2,8 <sup>a</sup>	2,6 <sup>a</sup>	3,3 <sup>b</sup>	2,8-3,3	5,3 <sup>c</sup>
Popiół / Ash [%]	2,1 <sup>b</sup>	2,6 <sup>b</sup>	2,5 <sup>b</sup>	2,1 <sup>b</sup>	2,1-2,6	1,8 <sup>a</sup>
Błonnik / Dietary fibre [%]	0,0 <sup>a</sup>	0,1 <sup>a</sup>	0,2 <sup>a</sup>	0,1 <sup>a</sup>	0,0-0,2	0,1 <sup>a</sup>
Tłuszcz / Fat [%]	0,1 <sup>a</sup>	0,1 <sup>a</sup>	0,1 <sup>a</sup>	0,1 <sup>a</sup>	0,1 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
DE	3,8 <sup>b</sup>	5,9 <sup>c</sup>	4,7 <sup>c</sup>	3,3 <sup>b</sup>	3,3-5,9	2,8 <sup>a</sup>
β-glukany / β-glucans [%]	5,3 <sup>b</sup>	5,1 <sup>b</sup>	4,4 <sup>a</sup>	5,3 <sup>b</sup>	4,4-5,3	4,7 <sup>a</sup>
Metale ciężkie / Heavy ions Hg, Cd, Pb, Cu	Nie stwierdzono / Not found					
Chlorki / Chlorides [%]	0,7 <sup>b</sup>	0,7 <sup>b</sup>	0,9 <sup>b</sup>	0,8 <sup>b</sup>	0,7-0,9	0,0 <sup>a</sup>
pH	6,0 <sup>a</sup>	6,1 <sup>a</sup>	6,7 <sup>a</sup>	6,5 <sup>a</sup>	6,0-6,7	6,5 <sup>a</sup>
Rozpuszczalność / Solubility	Całkowita do 50 °C / Total to 50 °C					
Ilość hydrolizatu [g] uzyskanego z 75 g śruty / Amount of preparations obtained from 75 g of groat	23,0 <sup>a</sup>	26,0 <sup>b</sup>	27,0 <sup>b</sup>	22,0 <sup>a</sup>	22,0-27,0	Brak danych No data
Wydajność / Productivity [%]	30	34	36	29	29-36	

Objasnienia: / Explanatory notes:

<sup>x</sup>/ - procentowa wielkość powierzchni pików każdego monomeru / percentage share of peak surface of each monomer;<sup>xx</sup>/ - podane wartości dotyczą niezidentyfikowanych pików cukrów wyższych / the given values refer to unidentified peaks of higher sugars;

\* - najmniejsza istotna różnica (NIR) / The Least Significant Difference;

Wartości średnie w wierszach oznaczone tym samym indeksem literowym nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $\alpha = 0,05$  / Mean values in the line, and denoted by the same superscript letter are not statistically significantly different at  $\alpha = 0.05$ .

$\beta$ -glukany są rozpuszczalnymi frakcjami błonnika, tworząc w połączeniu z wodą żele. Nadają one pożądaną konsystencję produktom, wiarygodnie zastępując tłuszcz. Ich zawartość w ziarnie jest cechą odmianową. W uzyskanych hydrolizatach zawartość  $\beta$ -glukanów mieściła się w przedziale od 4,4 % (Cwał) do 5,3 % (Akt, Sam) i była większa od zawartości  $\beta$ -glukanów w wyjściowych próbkach owsa o około 0,7 %. Zawartość  $\beta$ -glukanów w preparacie Oatrim 5 oznaczono na poziomie 4,7 % i wśród badanych preparatów należał on do preparatów o małej ich zawartości. W żadnym z preparatów nie stwierdzono obecności metali ciężkich.

Obecność chlorków na poziomie 0,7 – 0,9 % wykazano tylko w preparatach laboratoryjnych, a zróżnicowanie to było statystycznie nieistotne. Ich obecność spowodowana była tylko przeprowadzoną reakcją zobojętniania kwasu użytego do inaktywacji enzymu. W preparacie Oatrim 5, w którym proces inaktywacji przebiega z wykorzystaniem pary przegrzanej [12, 13] nie stwierdzono ich obecności.

Odmiany owsa o dużej zawartości tłuszczu (Sam, Akt) charakteryzowały się mniejszą wydajnością otrzymanego preparatu, a w procedurze uzyskiwania z nich hydrolizatu napotkano na trudności. Największą było zbrylanie się śruty w trakcie jej przesiewania, a także zdecydowanie mniejsza sedymentacja osadu podczas wirowania, przez co tracono część eluatu, zmniejszając tym samym wydajność procesu otrzymywania hydrolizatu.

W przeprowadzonych żywieniowych badaniach laboratoryjnych wszystkie szczury wykazały stałą wzrostową tendencję przyrostu masy ciała, osiągając na końcu doświadczenia dwukrotny jej przyrost.

Największe stężenie cholesterolu oraz frakcji LDL, stwierdzono w grupie zwierząt kontrolnych karmionych mieszanką paszową bez dodatku hydrolizatów (tab. 4).

Zawartość cholesterolu całkowitego w grupie kontrolnej mieściła się w przedziale od 9,40 do 12,96 mmol/dm<sup>3</sup> przy średniej 11,19 mmol/dm<sup>3</sup>. Podobnie był wysoki poziom cholesterolu frakcji LDL – od 8,65 do 12,52 mmol/dm<sup>3</sup>, przy średniej 10,53 mmol/dm<sup>3</sup>. W grupie szczurów karmionych karmą z dodatkiem preparatu hydrolizatu owsianego zawartość cholesterolu całkowitego mieściła się w przedziale od 2,04 do 1,51 mmol/dm<sup>3</sup> przy średniej 1,68 mmol/dm<sup>3</sup>, a jego frakcji LDL od 0,36 do 0,56 mmol/dm<sup>3</sup> przy średniej 0,46 mmol/dm<sup>3</sup>, co odpowiada ponad 6- i 23-krotnemu obniżeniu zawartości cholesterolu (wartości średnie z poszczególnych grup badawczych). Jednocześnie zauważono prawie dwukrotny wzrost poziomu cholesterolu frakcji HDL (średnio z poziomu 0,65 do 1,22 mmol/dm<sup>3</sup>). Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują na wysoce efektywny wpływ dodatku preparatu hydrolizatu owsianego do spożywanej diety, wywołujący obniżenie poziomu cholesterolu całkowitego i jego frakcji LDL we krwi szczurów. Wielkość tych zmian spowodowana była niewątpliwie obecnością w składzie hydrolizatu  $\beta$ -glukanów, których szczególne właściwości hipokholesterolemiczne zostały wielokrotnie udowodnione m.in. przez Hallfrischa i wsp.

[11] Kahlona i Chow [18], Malkkiego i Virtanena [24], Maki i wsp. [22, 23]. Jednocześnie we wszystkich przypadkach zmniejszenie (średnio o połowę) zawartości triacylogliceroli wynikało ze stosowania diety, do której wprowadzono preparat hydrolizatu owsianego, przy czym zakres tych zmian był dość znacznie zróżnicowany.

Tabela 4

Zawartość cholesterolu i triacylogliceroli w surowicy krwi szczurów grupy kontrolnej i testowanej.  
Contents of cholesterol and triglycerides in blood serum of rats in the control and test groups.

Grupa / Group	Cholesterol całkowity Total cholesterol [mmol/dm <sup>3</sup> ]	Cholesterol HDL/HDL Cholesterol (fraction) [mmol/dm <sup>3</sup> ]	Cholesterol LDL/LDL Cholesterol (fraction) [mmol/dm <sup>3</sup> ]	Triacyloglicerole Triacylglycerol [mmol/dm <sup>3</sup> ]
Grupa kontrolna pasza bez dodatku preparatu hydrolizatu Control group (fed with no hydrolysate added)	12,32	0,36	11,96	1,01
	10,44	0,87	9,57	0,95
	12,50	0,59	11,91	1,00
	11,21	0,63	10,58	0,53
	12,96	0,44	12,52	0,86
	9,40	0,75	8,65	0,75
	10,12	0,82	9,30	1,14
	10,59	0,73	9,86	0,93
Wartość średnia Mean value	11,19	0,65	10,53	0,89
Grupa testowana pasza z dodatkiem preparatu hydrolizatu / test group fed with hydrolysate added	1,66	1,28	0,38	0,24
	1,56	1,05	0,51	0,59
	1,51	1,13	0,38	0,31
	1,60	1,15	0,45	0,31
	1,87	1,40	0,47	0,49
	2,04	1,47	0,7	0,37
	1,73	1,17	0,56	0,45
	1,53	1,17	0,36	0,51
Wartość średnia Mean value	1,68	1,22	0,46	0,40

Przeprowadzone z zastosowaniem ziarna owsa, jęczmienia i szarłatu podobne badania wskazały [10, 18, 22, 23, 30, 31] na korzystny wpływ rozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego, obecnej w tych roślinach, na obniżenie zawartości cholesterolu w surowicy krwi, jak i w wątrobie szczurów. W przypadku ziarna owsa i jęczmienia za tę właściwość odpowiedzialne są w głównej mierze  $\beta$ -glukany [18, 22, 23, 30, 31]. Ich obecność w hydrolizacie może wywoływać podobne zjawisko.

Właściwości otrzymanego na drodze hydrolizy enzymatycznej preparatu hydrolizatu owsianego wskazują, że na rynku żywności funkcjonalnej mogą pojawić się nowe produkty żywnościowe zawierające w swym składzie  $\beta$ -glukany. Ich obecność w produktach spożywczych będzie cennym składnikiem przyczyniającym się do obniżenia poziomu cholesterolu. Ponadto niska wartość równoważnika glukozowego (DE) uzyskanego preparatu, wskazującego na właściwości typowe dla maltodekstryn o niskim stopniu scukrzenia stwarza możliwości zastosowania go jako zamiennika tłuszczu w produktach o obniżonej kaloryczności.

### **Wnioski**

1. Ocena organoleptyczna nie wykazała istotnych różnic między preparatami hydrolizatów otrzymanych na bazie polskich odmian owsa oraz handlowego preparatu Oatrim 5.
2. Badanie składu chemicznego i wydajności hydrolizatu wykazało niewielkie zróżnicowanie ilości uzyskanego materiału. Zauważono, że więcej preparatu uzyskuje się w przypadku użycia odmian o niższej zawartości tłuszczu.
3. Rozkład oligomerów glukozy w preparacie handlowym Oatrim 5 wykazał niższe zawartości cukrów prostych – szczególnie fruktozy, a także wskaźnika DE, w stosunku do preparatów własnych (efekt hydrolizy kwasowej).
4. Nie stwierdzono istotnego wpływu pozostałych składników ziarna owsa na różnice właściwości hydrolizatów. Podwyższona zawartość chlorków w laboratoryjnych preparatach hydrolizatów (i jednocześnie wyższa zawartość popiołu) była spowodowana sposobem ich otrzymywania (inaktywacja kwasowa połączona ze zobojętnieniem użytego kwasu).
5. Dobór odmian ziarna owsa jako surowca do otrzymywania preparatu hydrolizatu istotnie nie wpływa na skład końcowy produktu i jego właściwości, jednak odgrywa rolę w procesie uzyskiwania preparatu. Wysoka zawartość tłuszczu w ziarniakach niektórych odmian owsa utrudnia procesy sączenia, i dekantacji zwalniając przebieg otrzymywania preparatu, a także zmniejszając wydajność produktu końcowego.
6. W przeprowadzonym doświadczeniu żywieniowym stwierdzono korzystne oddziaływanie hydrolizatu owsianego, zawierającego  $\beta$ -glukany, na niektóre wybrane wskaźniki surowicy krwi. Zdecydowanemu, wielokrotnemu obniżeniu uległa zawartość cholesterolu całkowitego i jego frakcji LDL, przy dwukrotnym wzroście frakcji HDL.
7. Potwierdzono przydatność ziarna polskich odmian owsa do produkcji preparatu hydrolizatu owsianego o niskim stopniu scukrzenia, szczególnie w kontekście jego znacznych właściwości hipocholesterolemicznych.

### Literatura

- [1] Anderson JW, Spencer D.B., Hamilton C.C., Smith C.F., Tietzen J., Bryant C.A., Oeltgen P.: Oat-bran cereal lowers serum total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic. *Am. J.Clin. Nutr.*, 1990, **3** (52), 495-499.
- [2] AOAC Standard No.985. 29. Total Dietary Fiber in Foods. *Official Methods of Analysis*, 1990, pp. 1105-1106.
- [3] Brennan C.H.S., Cleary L.J. : The potential use of cereal (1-3, 1-4)-beta-D-glucans as functional food ingredients. *J. Cereal Sci.*, 2005, **42**, 1-13.
- [4] Brooks J.R., Griffin V.K.: Saccharide analysis of corn syrup solids and maltodextrins using high performance liquid chromatography. *Cereal Chem.*, 1987, **64**, 253-262.
- [5] Gąsiorowski H.: *Owies – chemia i technologia*. PWRiL. Poznań 1995.
- [6] Gibiński M.: Production of oat hydrolysates with a low degree of starch saccharification. *Pol. J Food Nutr. Sci.*, 2008, **3** (58), 295-300.
- [7] Gibiński M.:  $\beta$ -glukany owsa jako składnik żywności funkcjonalnej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **2** (57), 15-29.
- [8] Gibiński M., Gumul D., Korus J.: Prozdrowotne właściwości owsa i produktów owsianych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4** (45), 49-60.
- [9] Gibiński M., Berski W.: Skład chemiczny ziarna owsa z uprawy 1999-2001. *Mat. Konf. Nauk. „Żywność regionalna na tle współczesnych trendów produkcji żywności w Polsce i w Europie”*, Kraków, Oddz. Małopolski PTTŻ 16-17 czerwca 2003, s. 36.
- [10] Grajeta H.: Hipolipemiczne działanie ekspandowanych nasion szkarłatu (*Amaranthus cruentus*) u szczurów doświadczalnych. *Bromat.Chem. Toksykol.*, 2000, **XXXIII/ 1**, 7-13.
- [11] Hallfrisch J., Schofield D.J., Behall K.M.: Physiological responses of men and women to barley and oat extracts (Nutrim X). II. Comparison of glucose and insulin responses. *Cereal Chem.*, 2003, **80**, 80-83.
- [12] Inglett G.E.: Amylodextrins containing beta-glucan from oat flours and bran. *Food Chem.*, 1993, **47**, 133-136.
- [13] Inglett G.E., Newman R.K. : Oat  $\beta$ -glucan-amylodextrins: Preliminary preparations and biological properties. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 1994, **45**, 53-61.
- [14] ICC Standard No. 122/1. Determination of starch content by calcium chloride dissolution.
- [15] ICC Standard No. 168 Mixed Linkage Beta-Glucan Assay Procedure.
- [16] Instructions for the determination of cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides in blood serum. Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica GmbH, Germany, 1998.
- [17] Jenkins A.L., Jenkins D.J.A., Zdravkovic U., Wursch P., Vuksasn V.: Depression of the glycemic index by high levels of beta-glucan fiber in two functional foods tested in type 2 diabetes. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2002, **7** (56), 622-628.
- [18] Kahlon T.S., Chow F.L.: Hypocholesterolemic effects of oat, rice and barley dietary fibers and fractions. *Cereal Food World*, 1997, **2** (49), 86-92.
- [19] Kirk R.S., Sawyer R.: *Pearson's Composition and Analysis of Foods*. Longman Scientific, 1991, IX ed., pp. 198-206.
- [20] Lazaridou A., Billiaderis C.G.: Molecular aspects of cereal  $\beta$ -glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *J. Cereal Sci.*, 2007, **2** (46), 101-118.
- [21] Ludwicki J.K.: *Oznaczanie zawartości ręci całkowitej w żywności metodą bezpłomieniowej spektrofotometrii atomowo-absorbpcyjnej*. Wyd. Metodyczne PZH, Warszawa 1990.
- [22] Maki K.C., Shinnick F., Seeley M.A., Veith P.E., Quinn L.C., Hallissey P.J., Temer A., Davidson M.H.: Foods products containing free tall oil-based phytosterols and oat beta-glucan lower serum total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic adults. *J. Nutr.*, 2003, **3**, 808-813.

- [23] Maki K.C., Davidson M.H. Ingram K.A., Veith P.E., Bell M., Gugger E.: Lipid responses to consumption of a beta-glucan containing ready-to-eat cereal in children and adolescents with mild to-moderate primary hypercholesterolemia. *Nutr. Res.*, 2003, **11** (23), 1527-1535.
- [24] Malkki Y., Virtanen E.: Gastrointestinal effects of oat bran and oat gum: a review. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 2001, **6** (34), 337-347.
- [25] PN ISO 2171. Ziarno zbóż: przetory zbożowe. Oznaczenie popiołu całkowitego.
- [26] PN-EN ISO 3188:2000. Skrobia i produkty pochodne. Oznaczenie zawartości azotu metodą Kjeldahla. Metoda miareczkowa.
- [27] PN-EN ISO 3947:2001. Skrobie naturalne i zmodyfikowane. Oznaczenie całkowitej zawartości tłuszczu.
- [28] PN-EN-ISO-5377:2001. Produkty hydrolizy skrobi. Oznaczenie siły redukującej i równowaznika glukozowego. Metoda stałego miana Lane'a i Eynona.
- [29] PN-A-75101-10:1990/Az 1:2002. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizyko chemicznych. Oznaczenie zawartości chlorków.
- [30] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 17.03.2003, w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych, substancji pomagających w przetwarzaniu i warunków ich stosowania. Dz. U. 2003 r. Nr 87, poz 805 z późn. zm.
- [31] Wood P.J. : Relationships between solution properties of cereal B-glucans and physiological effects – a review. *Trends in Food Science & Technology* 2004, **6** (15), 313-320.
- [32] Wood P.: Cereals  $\beta$ -glucans in diet and health. *J. Cereal Sci.*, 2007, **3** (46), 230-238.
- [33] Zawadzka T., Wojciechowska-Mazurek M.: Oznaczenie ołowiu i kadmu w środkach spożywczych metodą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej. Wyd. Metodyczne PZH, Warszawa 1984.

#### CHEMICAL AND NUTRITIONAL PROFILES OF OAT HYDROLYSATES WITH LOW CRYSTALLIZATION LEVEL

##### Summary

Grains of four oat varieties were enzymatically hydrolyzed, and the preparations produced thereof were chemically, sensory, and nutritionally assessed. Those preparations were also compared with 'Oatrim 5', a commercial preparation of hydrolysate, manufactured by a Meyhall Chemical AG Company in Kreuzlingen (The Netherlands). Furthermore, the effect of oat variety on the process of producing hydrolysate was assessed, as was its effect on the final product productivity.

The organoleptic assessment did not prove significant differences to exist among the samples. However, it was found that the content of mineral compounds in the form of ash was higher in the preparations investigated compared to the 'Qatrim 5' preparation. This fact was attributed to the occurrence of chloride ions, higher DE value, and to a higher content of simple sugars (monosaccharides). The increase in the values of those indicators was caused by a method, different than the original one, of enzyme inactivation applied to manufacturing a commercial preparation. Particularly worth highlighting was the ability of preparations, used in the diet, to lower the total cholesterol and LDL fraction levels, and to simultaneously increase the HDL fraction level (the investigations were carried out on rats). This confirmed a well known fact of beta-glucans in oats to have high hypocholesterolemic abilities. It was also proved that amounts of the preparation produced were connected with the presence of lipids in the oat grain. The increase in the amount level of this compound contributed to the decrease in the process productivity, and, also, obstructed the production process of preparation during the filtration and decantation phases.

**Key words:** oats, oat hydrolysate, hypocholesterolemic properties,  $\beta$ -glucans ☒

BEATA DRUŻYŃSKA, IZABELA STRZECHA, RAFAŁ WOŁOSIAK,  
ELWIRA WOROBIEJ

## ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH ZWIĄZKÓW BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH W EKSTRAKTACH Z SUSZONYCH MORELI ORAZ ICH WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE

### Streszczenie

Celem pracy było oznaczenie zawartości wybranych związków biologicznie aktywnych oraz określenie właściwości przeciwutleniających ekstraktów uzyskanych z suszonych moreli. W owocach oznaczono zawartość suchej masy, natomiast w ekstraktach zawartość polifenoli ogółem, katechin, witaminy C i karotenoidów. Właściwości przeciwutleniające ekstraktów z suszonych owoców zbadano metodą z wykorzystaniem rodników DPPH<sup>•</sup>, kationorodników ABTS<sup>•+</sup> oraz oznaczono ich zdolność do chelatowania jonów żelaza(II). Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że suszone morele są cennym, lecz ciągle niedocenianym źródłem ważnych dla organizmu człowieka składników. Wszystkie ekstrakty wykazały silne właściwości przeciwutleniające wobec syntetycznych rodników oraz zdolność do chelatowania jonów żelaza(II).

**Słowa kluczowe:** związki biologicznie aktywne, właściwości przeciwutleniające, suszone morele

### Wprowadzenie

W ostatnich latach znacząco wzrosło zainteresowanie konsumentów składnikami biologicznie aktywnymi występującymi w roślinach z uwagi na ich potencjalnie korzystny wpływ na zdrowie człowieka. Dieta bogata w owoce i warzywa pomaga m.in. w zmniejszaniu ryzyka zachorowalności na chorobę wieńcową serca czy też określone typy nowotworów [5]. Te efekty ochronne diety zostały przypisane, w dużej części, naturalnym przeciwutleniaczom występującym w owocach i warzywach, do których zalicza się m.in. witaminę C i  $\beta$ -karoten, jak również polifenole roślinne, takie jak flawonoidy czy kwasy fenolowe [2]. Jednocześnie wśród konsumentów wzrasta niepokój związany ze stosowaniem przeciwutleniaczy otrzymywanych na drodze syntezy che-

---

*Dr inż. B. Drużyńska, mgr inż. I. Strzecha, dr inż. R. Wołosiak, dr inż. E. Worobiej, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

micznej. Istnieją badania, przeprowadzone *in vivo*, potwierdzające negatywny wpływ m.in. suplementacji  $\beta$ -karotenem na zdrowie palaczy [14]. Dlatego też ważne staje się popularyzowanie produktów naturalnie bogatych w przeciwutleniacze, jakimi są m.in. susze owocowe, w tym suszone morele. Niestety, susze owocowe, pomimo właściwości prozdrowotnych nie są zwyczajowym elementem naszej codziennej diety [20].

Celem pracy było oznaczenie zawartości wybranych związków biologicznie aktywnych i określenie właściwości przeciwutleniających ekstraktów uzyskanych z suszonych moreli. W pracy oznaczono zawartość polifenoli, katechin, witaminy C i karotenoidów w ekstraktach z suszonych owoców. Właściwości przeciwutleniające zbadano metodami z wykorzystaniem stabilnych rodników DPPH<sup>•</sup>, kationorodników ABTS<sup>•+</sup> oraz oznaczono zdolność do chelatowania jonów żelaza(II).

### **Materiał i metody badań**

Materiałem doświadczalnym były suszone morele – trzy rodzaje pochodzące bezpośrednio od różnych producentów z Turcji: I, II, III; oraz trzy rodzaje zakupione w sklepie: A (firmy Bakalland), B (firmy Makar), C (firmy Kresto). Z suszu przygotowywano ekstrakty odpowiednie do metod oznaczania poszczególnych wyróżników.

Charakterystyka chemiczna obejmowała określenie zawartości polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteu'a (wynik wyrażano w przeliczeniu na kwas galusowy) [18, 19], katechin metodą wanilinową (wynik wyrażano w przeliczeniu na (-)epikatechinę [21], karotenoidów [22] oraz witaminy C metodą spektrofotometryczną [1]. Oznaczanie polifenoli ogółem, katechin i właściwości przeciwrodnikowych wykonywano w ekstraktach acetonowych (70 % v/v, stosunek materiału do odczynnika ekstrahującego 1:10), karotenoidy ogółem w ekstraktach heksanowych (stosunek materiału do odczynnika ekstrahującego 1:10), natomiast do ekstrakcji witaminy C stosowano roztwór ekstrahujący mieszaniny kwasu metafosforowego i octowego 1:2,5 (m/v), (stosunek materiału do odczynnika ekstrahującego 1:5). Dodatkowo w pracy wykonano także oznaczenie zdolności do dezaktywacji rodników DPPH<sup>•</sup> w chloroformie [16].

Właściwości przeciwutleniające ekstraktów oznaczano przez pomiar ich zdolności do unieczynniania stabilnych, syntetycznych rodników DPPH. Metoda polega na dodaniu związków przeciwrodnikowych do roztworu DPPH<sup>•</sup>, który w formie rodnikowej wykazuje absorbancję przy 517 nm. Wartość tej absorbancji obniża się po dodaniu związku antyrodnikowego [16]. Z różnicy absorbancji roztworu rodników DPPH<sup>•</sup> przed i po dodaniu potencjalnych przeciwutleniaczy oznacza się ich aktywność przeciwrodnikową [9, 16]. DPPH<sup>•</sup> jest syntetycznym rodnikiem, który przyjmuje elektron bądź wodór tak, aby mógł być przekształcony w stabilną molekułę DPPH. Oznaczenie to jest często wykorzystywane do oceny właściwości przeciwutleniających związków ze względu na krótki czas jego trwania i stosunkowo wysoką czułość metody [4].



Przeciwnodnikowe właściwości ekstraktów oznaczano również, badając ich zdolności do dezaktywacji kationorodników ABTS<sup>•+</sup> [15]. Zasada metody polega na bezpośrednim generowaniu ABTS<sup>•+</sup> w wyniku utleniania ABTS przez nadsiarcezan potasu. Dodatek przeciwutleniacza powoduje redukcję ABTS<sup>•+</sup> do ABTS i spadek intensywności zabarwienia roztworu rodników. Stopień redukcji ABTS<sup>•+</sup> określany jest spektrofotometrycznie przy długości fali 734 nm.

Badanie zdolności chelatowania jonów żelaza(II) przez związki zawarte w ekstraktach prowadzono dodając do roztworów chlorek żelaza(II) i ferrozynę. Absorbancję barwnego kompleksu mierzono po 10 min od dodania ferrozyny przy długości fali 562 nm [9].

Wszystkie oznaczenia wykonywano w pięciu powtórzeniach. Wartości średnie i odchylenie standardowe obliczano korzystając z programu Microsoft Office Excel 2003. Analizę statystyczną doświadczenia dwuczynnikowego oraz współczynniki korelacji wyliczano za pomocą programu Statgraphics Plus 4.1.

## Wyniki i dyskusja

W ekstraktach z suszonych moreli zawartość polifenoli ogółem wahała się w granicach od 580 do 720 mg/100 g s.s. (tab. 1).

Analiza wariancji (ANOVA), w układzie jednoczynnikowym, wykazała istnienie statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi zawartości polifenoli w poszczególnych próbach suszonych moreli (6 poziomów zmienności) na poziomie istotności 95%. Przeprowadzony dodatkowo test Tukey'a na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  pozwolił na pogrupowanie poszczególnych prób w grupy jednorodne, w których nie występują statystycznie istotne różnice.

Według danych literaturowych średnia zawartość polifenoli ogółem w suszonych morelach wynosi 402 mg/100 g s.m. [23, 25]. Należy zauważyć, że wiele czynników, takich jak rodzaj zastosowanej ekstrakcji czy stopień rozdrobnienia materiału wpływają na ilość oznaczanych polifenoli. Różny może być również czas ekstrakcji (od 1 min do 24 h) [12]. Zbyt długi czas ekstrakcji powoduje wzrost możliwości oksydacji polifenoli, dopóki związki redukujące nie zostaną dodane do układu. Ponadto badacze podkreślają, że stosunek masy analizowanego produktu do objętości zastosowanego ekstrahenta także wpływa na wynik oznaczenia, a zwiększanie stosunku objętości z 1:5 do 1:10 (m/v) powoduje wzrost skuteczności ekstrakcji tanin skondensowanych z 257,3 mg do 321 mg/100 g s.s. przy użyciu 70 % (v/v) acetonu jako ekstrahenta. Badacze ci udowodnili, że skuteczność oznaczania zawartości polifenoli w suszonej fasoli jest silnie uzależniona od stopnia rozdrobnienia analizowanego materiału. Dragovic-Uzelac i wsp. [3] zauważają również, że różnice ilościowe zawartości polifenoli ogółem mogą wystąpić w zależności od gatunku owocu, stadium dojrzałości oraz od warunków wzrostu i przechowywania.

Tabela 1

Zawartość polifenoli ogółem i katechin w ekstraktach z suszonych moreli.

Content of total polyphenols and catechins in the extracts of dried apricots.

Suszone morele Dried apricots	Polifenole ogółem Total polyphenols [mg/100 g s.m / d.m.]	Katechiny / Catechins [mg/100 g s.m. / d.m.]
A	666,00 (± 0,61) b	326,01 (± 1,15) b
B	683,17 (± 0,32) bc	179,61 (± 1,32) a
C	720,34 (± 0,45) c	256,11 (± 1,14) c
I	637,87 (± 0,65) b	44,92 (± 1,35) b
II	580,28 (± 0,64) a	137,35 (± 1,07) d
III	589,99 (± 0,37) a	174,37 (± 0,95) a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone tą samą literą w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie./ Mean values in the same column and denoted by the same letter do not differ statistically significant.

Zawartość katechin ogółem w przebadanych ekstraktach z suszonych owoców różniła się znacznie. Najwięcej katechin stwierdzono w próbce A (326,0 mg/100 g s.s.), natomiast najmniej w próbce I (44,9 mg/100 g s.s.).

Przeprowadzona jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA) wyników zawartości katechin ogółem wykazała istnienie statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi w zależności od pochodzenia prób suszonych moreli (6 poziomów zmienności). Przyczyn tak dużego zróżnicowania zawartości katechin ogółem można się dopatrywać wśród tych samych czynników, które wpływają na zawartość ogólną polifenoli. Wartość odżywcza owoców zależy przede wszystkim od gatunku oraz miejsca uprawy [8].

Wśród badanych moreli największą zawartością witaminy C charakteryzowała się próbka II – 16 mg%, natomiast najmniejszą próbka B – 7 mg% (tab. 2). Wszystkie próbki moreli pochodzące bezpośrednio od producenta (I, II, III) charakteryzowały się stosunkowo wysoką zawartością tej witaminy (12 – 16 mg%). Jak wiadomo witamina C jest wrażliwa m. in. na światło i tlen, dlatego mniejszą zawartość tej witaminy w próbkach B i C można tłumaczyć np. ekspozycją na światło w czasie przebywania na półce sklepowej.

Przeprowadzona analiza wariancji (ANOVA) wykazała istnienie statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi badanych prób na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . Zastosowany test Tukey'a nie pozwolił na wyróżnienie żadnej grupy jednorodnej spośród przeanalizowanych.

Tabela 2

Zawartość witaminy C i karotenoidów ogółem w ekstraktach z suszonych moreli.  
Content of vitamin C and total carotenoids in the extracts of dried apricots.

Suszone morele Dried apricots	Witamina C / Vitamin C [mg/100 g s.m. / d.m.]	Karotenoidy ogółem Total carotenoids [mg/100 g s.m. / d.w.]
A	13,56 ( $\pm$ 0,59)	3,21 ( $\pm$ 0,76)
B	7,32 ( $\pm$ 0,43)	5,21 ( $\pm$ 0,87)
C	11,87 ( $\pm$ 0,67)	3,35 ( $\pm$ 0,45)
I	14,74 ( $\pm$ 0,19)	3,56 ( $\pm$ 0,56)
II	16,01 ( $\pm$ 0,87)	4,75 ( $\pm$ 0,69)
III	12,48 ( $\pm$ 0,18)	3,33 ( $\pm$ 0,44)

Również dane źródłowe podają zawartość witaminy C w suszonych morelach na różnym poziomie. Wg danych IŻŻ [7] zawartość witaminy C w 100 g części jadalnych suszonych moreli wynosi 31,7 mg, natomiast w badaniach eksperymentalnych uzyskano 19,2 mg% witaminy C [11]. Przeprowadzone badania wskazują, że zawartość witamin oraz składników mineralnych w owocach może zmieniać się znacząco w zależności od miejsca uprawy i składu gleby. Ponadto wiadomo, że również stopień dojrzałości owoców ma znaczący wpływ na jakość owoców i warzyw [11]. Owoce dojrzałe (bądź przejrzałe) charakteryzują się mniejszą zawartością witaminy C niż owoce w stadium dojrzałości technologicznej [8]. Munzuroglu i wsp. [11] przeprowadzili ponadto badania, w których stwierdzili, że zabiegi pozbiorowe (jak np. fumigacja SO<sub>2</sub>) nie wpływają w sposób znaczący na zawartość tej witaminy.

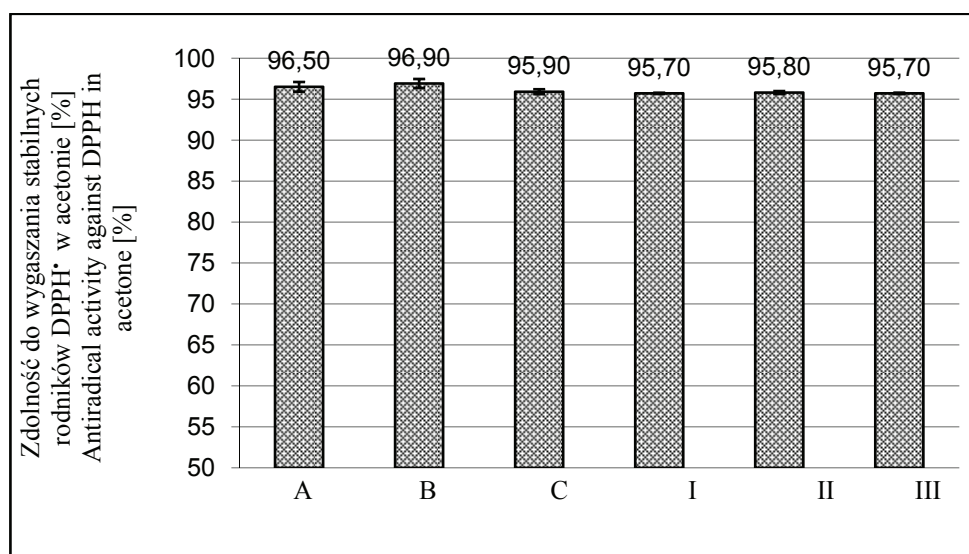
Suszone morele są dobrym źródłem karotenoidów, charakteryzują się ich stosunkowo wysoką zawartością, rzędu 3,2 – 5,2 mg% (tab. 2). Największą zawartość oznaczono w morelach B (5,2 %) oraz II (4,7 %), najmniejszą w próbce A (3,2 %). Według danych literaturowych zawartość  $\beta$ -karotenu w suszonych morelach wynosi 7,8 mg% [8]. Oznaczona zawartość w badanych próbach była mniejsze niż dane źródłowe. Należy jednak wziąć pod uwagę fakt, że wynik końcowy zależy zawsze od sposobu ekstrakcji i zastosowanej metody badawczej [26]. Jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA), na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ , potwierdziła występowanie statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi witaminy C w poszczególnych próbach suszonych moreli (6 poziomów zmienności). Test Tukey'a pozwolił na wyodrębnienie następujących grup jednorodnych ( $\alpha = 0,01$ ): próby A, C i III oraz próby I i C.

Oznaczenie zdolności ekstraktów do dezaktywacji stabilnych rodników DPPH<sup>\*</sup> wykonano w dwóch układach ekstrahujących. Zastosowano ekstrakcję acetonem oraz chloroformem. Warunki ekstrakcji były w obu przypadkach analogiczne, zmieniono jedynie

rodzaj użytego ekstrahenta. W przypadku zastosowania acetonu, ekstrakcji uległy przede wszystkim polifenole. Natomiast w przypadku zastosowania chloroformu jako ekstrahenta, ekstrakcji uległy związki o charakterze lipofilnym, głównie karotenoidy.

Wszystkie przebadane ekstrakty acetonowe z suszonych moreli wykazały zdolność do dezaktywacji rodników DPPH<sup>•</sup> na wyrównanym poziomie 95 – 96 % (rys. 1.).

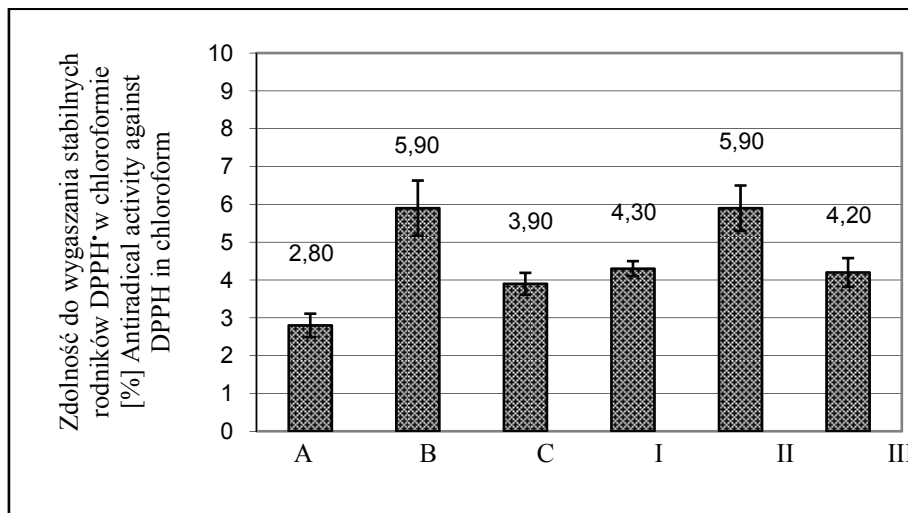
Należy zauważyć, że w wielu pracach badacze sugerują, że aktywność przeciwutleniająca jest w znacznym stopniu zależna od zastosowanej metody oznaczania oraz, że zaobserwowana aktywność (pojemność) nie zawsze koreluje z zawartością polifenoli ogółem w ekstraktach roślinnych [6].



Rys. 1. Aktywność ekstraktów z suszonych moreli wobec rodników DPPH<sup>•</sup> w acetonie [%].

Fig. 1 Activity of extracts of dried apricots against DPPH<sup>•</sup> radicals in acetone [%].

Na podstawie danych literaturowych wiadomo, że prawdopodobnie to taniny skondensowane są związkami odpowiedzialnymi w największym stopniu za efekt wygaszania stabilnych rodników DPPH<sup>•</sup> [16]. W niniejszej pracy nie oznaczano zawartości tanin skondensowanych, dlatego też niemożliwe jest sprawdzenie bezpośrednio istnienia korelacji pomiędzy zawartością tych związków a zdolnością wygaszania rodników DPPH<sup>•</sup>. Natomiast przeprowadzona analiza regresji w 90 % przedziale ufności potwierdziła istnienie dodatniej korelacji pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a zdolnością do inhibicji rodników DPPH<sup>•</sup> przez ekstrakty z suszonych moreli. Przeprowadzona analiza regresji wskazała z kolei na istnienie dodatniej korelacji (w 90% przedziału ufności) pomiędzy zawartością katechin ogółem w ekstraktach z suszonych moreli a ich zdolnością do inhibicji rodników (p-Value = 0,057).



Rys. 2. Aktywność ekstraktów z suszonych moreli wobec rodników DPPH<sup>•</sup> w chloroformie [%].

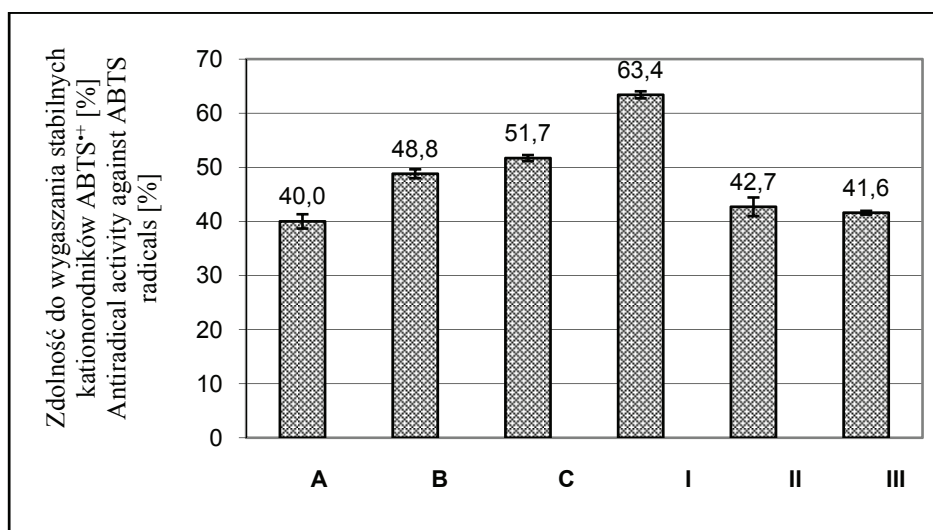
Fig. 2. Activity of extracts of dried apricots against DPPH<sup>•</sup> radicals in chloroform [%].

Ekstrakty chloroformowe charakteryzowały się znacznie mniejszą zdolnością do dezaktywacji stabilnych rodników DPPH<sup>•</sup> niż ekstrakty acetonowe. Ekstrakty z suszonych moreli wygaszały rodniki na poziomie zróżnicowanym w zakresie 2,8 – 5,9 %, przy czym próbki B oraz II wygaszały je najmocniej na poziomie 5,9 %, natomiast próbka A dezaktywowała je najsłabiej na poziomie tylko 2,8 % (rys. 2). Ekstrakty chloroformowe zawierały głównie karotenoidy (a wiadomo, że to polifenole są najsilniejszymi i najaktywniejszymi przeciwutleniaczami), dlatego też można przypuszczać, że jest to powodem mniejszej zdolności tych ekstraktów do wygaszania rodników niż ekstraktów acetonowych zawierających głównie polifenole [7]. Analiza regresji wskazała na istnienie dodatniej korelacji pomiędzy zawartością karotenoidów ogółem a zdolnością do wygaszania rodników DPPH<sup>•</sup>, na poziomie istotności  $\alpha = 0,01$  (p-Value = 0,002), przez analizowane próby suszonych moreli.

W pracy oznaczano również zdolność badanych ekstraktów do dezaktywacji kationorodników ABTS<sup>•+</sup>. Oznaczenie wykonano wg zmodyfikowanej metody opisanej przez Re i wsp. [15]. Przewaga metody zmodyfikowanej nad tradycyjną polega na tym, że rodniki ABTS<sup>•+</sup> powstają w układzie bezpośrednio, bez udziału rodników pośrednich, a związek antyrodnikowy dodawany jest do roztworu już po wytworzeniu kationorodników. Eliminowane jest w ten sposób ryzyko zafałszowania na skutek reakcji badanego związku z rodnikami pośrednimi. Stwierdzono, że wszystkie przebadane ekstrakty wykazywały zdolność do wygaszania syntetycznych kationorodników ABTS<sup>•+</sup> (rys. 3). Wśród badanych suszonych moreli zdolność do wygaszania rodni-

ków ukształtowana była na poziomie 40 – 63,4 %, przy czym najwyższą zdolnością charakteryzowała się próbka I, a najniższą próbka A.

Badania wykazują, że istnieje zależność pomiędzy zawartością katechin a zdolnością związków do dezaktywacji kationorodników ABTS<sup>•+</sup>. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że najbardziej aktywne pod tym względem były galusany katechin, a zwłaszcza galusan epigalokatechiny i galusan epikatechiny [13]. W niniejszej pracy nie stwierdzono takiej korelacji.

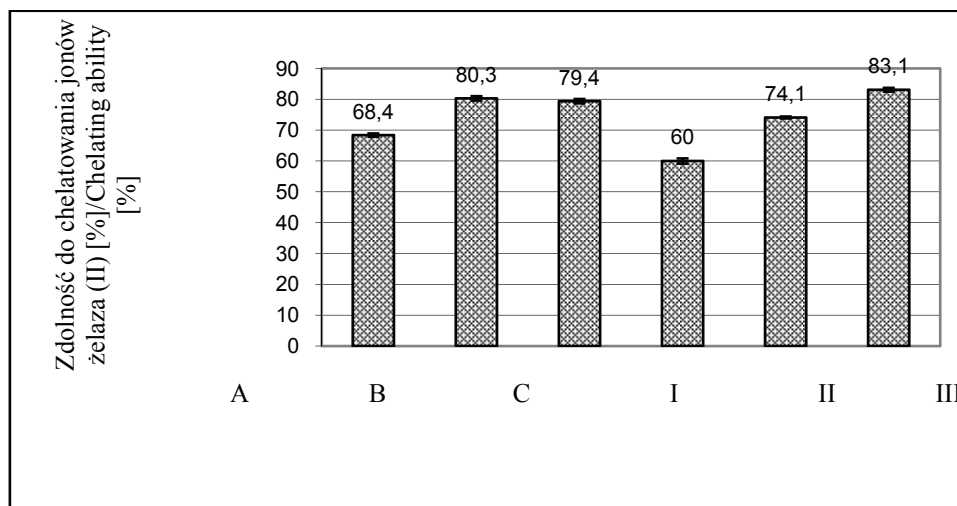


Rys. 3. Aktywność ekstraktów z suszonych moreli wobec rodników ABTS<sup>•+</sup> [%].

Fig. 3. Activity of extracts of dried apricots against ABTS<sup>•+</sup> radicals [%].

W pracy oznaczono również zdolność acetonowych ekstraktów do chelatowania jonów żelaza. Stwierdzono, że wszystkie analizowane ekstrakty wykazywały zdolność do chelatowania jonów żelaza (rys. 4.).

Ekstrakty suszonych moreli wiązały jony przejściowe żelaza(II) od 60 do 83 %. Najskuteczniej działał ekstrakt moreli III (83,1 %), a najslabiej I (60 %). Według niektórych badań naukowych związkami mającymi zdolność do wiązania jonów metali przejściowych są przede wszystkim polifenole [17]. Analiza regresji wykazała istnienie dodatniej korelacji na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  (p-Value = 0,027) pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a zdolnością do chelatowania jonów żelaza(II) w badanych ekstraktach suszonych moreli.



Rys. 4. Zdolność do chelatowania jonów żelaza(II) [%].

Fig. 4. Ability to chelate iron ions (II) [%].

### Wnioski

1. Polifenole są dominującą grupą związków wykazujących aktywność biologiczną wśród przebadanych prób suszonych moreli. Zawartość katechin w analizowanych próbach kształtowała się na zróżnicowanym, jednak istotnym ilościowo poziomie.
2. Zawartość witaminy C kształtowała się również na zróżnicowanym poziomie, jednak w trzech próbach pochodzących bezpośrednio od producenta jej zawartość była na wyższym poziomie niż w pozostałych.
3. Oznaczone zawartości karotenoidów ogółem wskazują, że suszone morele zawierają ich znaczne ilości.
4. Wszystkie przebadane ekstrakty wykazywały zdolność wygaszania stabilnych rodników DPPH<sup>•</sup> i kationorodników ABTS<sup>•+</sup>. Wszystkie ekstrakty wykazywały również zdolność do chelatowania jonów żelaza(II).

### Literatura

- [1] AOAC, Official Method 984.26, 1990.
- [2] Becker E. M., Ntouma G., Skibsted L. H.: Synergism and antagonism between quercetin and other chain-breaking antioxidants in lipid system of increasing structural organization. *Food Chem.* 2007, **103**, 1288-1296.
- [3] Dragovic-Uzelac V., Pospisil J., Levaj B., Delonga K.: The study of phenolic profiles of raw apricots and apples and their purees by HPLC for the evaluation of apricot nectars and jam authenticity. *Food Chem.*, 2005, **91**, 373-383.
- [4] Durmaz G., Alpaslan M.: Antioxidant properties of roasted apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernel. *Food Chem.*, 2007, **100**, 1177-1181.


- [5] Gibney M. J., Macdonald I. A., Roche H. M.: Nutrition and metabolism; Blackwell Science Ltd. The nutrition society textbook series. UK, 2003, pp. 307-317.
- [6] Guclu K., Altun M., Ozyurek M., Karademir S. E., Apak R.: Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and Folin methods. Int. J. Food Sci. Tech., 2006, **41** (Supp. 1), 76-85.
- [7] Ignatowicz E.: Związki polifenolowe. W: Przeciwnutleniacze w żywności, pod red. W. Grajka. WNT, Warszawa 2007, s. 262-270.
- [8] Karatas F., Kamisli F.: Variations of vitamins (A, C and E) and MDA in apricots dried in IR and microwave. J. Food Eng., 2007, **78**, 662-668.
- [9] Lai L.S., Chou S.T., Chao W.W.: Studies on the antioxidative activities of Hsian-tsoa leaf gum. J. Agric. Food Chem., 2001, **49**, 963-968.
- [10] Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K.: Food antioxidants: Technological, toxicological and health perspectives. Biochem. J., 1995, **203**, 67-78.
- [11] Munzuroglu O., Karatas F., Geckil H.: The vitamin and selenium contents of apricot fruit of different varieties cultivated in different geographical regions. Food Chem., 2003, **83**, 205-212.
- [12] Naczki M., Shahidi F.: Extraction and analysis of phenolics in food. J. Chromat. A, 2004, **1054**, 95-111.
- [13] Pannala A.S., Chan T.S., O'Brien P., Rice-Evans C.A.: Flavonoid B – ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. Bioch. Bioph. Res. Commun., 2001, **282**, 1161-1168.
- [14] Rao A.V., Rao L.G.: Carotenoids and human health. Pharmacological Research, 2007, **55**, 207-216
- [15] Re R., Pellergrini N., Prolegente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Rad. Biol. Med., 1999, **9-10**, 1231-1237.
- [16] Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N.: Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. J. Agric. Food Chem., 1999, **47**, 425-431.
- [17] Sanchez-Moreno C., Larrouri J. A., Saura-Colixto A.: A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. J. Sci. Food Agric., 1998, **76**, 270-276.
- [18] Singleton V. L., Rossi J. A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic., 1965, **16**, 144-158.
- [19] Slinkard K., Singleton V.L.: Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol. Vitic., 1977, **28**, 49-55.
- [20] Stahl W., Sies H.: Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. Bioch Bioph A, 2005, **1740**, 101-107.
- [21] Swain T., Hillis W.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. J. Sci. Food Agric., 1956, **1**, 63-68.
- [22] Sztangret J., Korzeniowska A., Niemirowicz-Szczyt K.: Ocena plonowania oraz zawartości suchej masy i związków karotenoidowych w nowych mieszańcach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* Duch.). Folia Hort, 2001, **13/1A**, 37-43.
- [23] Tarhan S.: Selection of chemical and thermal pretreatment combination for plum drying at low and moderate drying air temperatures. J. Food Eng., 2007, **79**, 255-260.
- [24] Turkmen N., Sari F., Velioglu Y.S.: The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidants activity of selected green vegetables. Food Chem., 2005, **93**, 713-718.
- [25] Vinson J. A., Zubik L., Bose P., Samman N., Proch J.: Dried fruits: Excellent *in vitro* and *in vivo* Antioxidants. J. American College of Nutrition, 2005, **24**, 44-50.
- [26] Zhang P., Omaye S. T.: Antioxidant and prooxidant roles for beta-carotene, alpha-tocopherol and ascorbic acid in human lung cells. Toxicol. In Vitro, 2001, **15**, 13-24.



**CONTENT OF SOME SELECTED BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN THE  
EXTRACTS OF DRIED APRICOTS AND THEIR ANTIOXIDANT PROPERTIES**

## S u m m a r y

The objective of this paper was to determine the contents of some selected biologically active compounds in the extracts produced of dried apricots and their antioxidant properties. The value of dry mass was determined in dried fruit whereas in the extracts - the contents of: polyphenols, catechins, vitamin C, and carotenoids. Antioxidant properties of extracts were investigated using DPPH<sup>•</sup> radicals and ABTS<sup>•+</sup> cation radicals; the ability of those extracts to chelate iron ions was also determined. Based on the results obtained, it was concluded that dried apricots were a valuable, but still underestimated source of food compounds appearing important for human organisms. All the extracts showed strong antioxidant properties towards synthetic radicals as well as the ability to chelate iron ions.

**Key words:** biologically active compounds, antioxidant properties, dried apricots 

MAGDALENA MIKA, AGNIESZKA WIKIERA, KRZYSZTOF ŻYŁA

## WPLYW CZASU I TEMPERATURY EKSTRAKCJI NA ZAWARTOŚĆ KATECHIN W WODNYCH EKSTRAKTACH HERBATY BIAŁEJ

### Streszczenie

Herbata niefermentowana jest źródłem flawan-3-oli, które wykazują właściwości przeciwutleniające. W ostatnich latach wykazano, że katechiny zawierające w cząsteczce resztę kwasu galusowego mogą zmniejszać absorpcję jelitową cholesterolu i lipidów z pokarmu. Zróżnicowana efektywność działania galusanów katechin wynika z ich stereoizomerii. Najskuteczniej eliminują cholesterol z miceli kwasów żółciowych galusany katechin należące do (-) form (2S, 3R). Wysoka temperatura powoduje epimeryzację flawon-3-oli i wzrost ilości (-) form (2S, 3R). W pracy zbadano wpływ temperatury i czasu ekstrakcji suchych liści herbaty białej na sumaryczną ilość flawan-3-oli, procentowy udział frakcji (-) form (2S, 3R) i procentowy udział katechin zawierających w cząsteczce resztę kwasu galusowego. Wykazano, że poprzez zmianę warunków ekstrakcji można modelować skład otrzymywanych preparatów katechinowych.

**Słowa kluczowe:** flawan-3-ole, ekstrakcja, herbata biała, galusany katechin

### Wstęp

Liście herbaty zawierają dużo polifenoli (do 36 % s.m.) i metyloksantyn (do 9,5 % s.m.). Główną grupą polifenoli liści herbaty są flawan-3-ole (katechiny), które stanowią między 20 – 30 % s.m. liści. Ze względu na stereoizomerię naturalnie występujące katechiny dzieli się na dwie grupy: (-) epi-formy (2R, 3R) i (-) formy (2S, 3R) [17]. (-) Epi-formy (2S, 3R) stanowią około 90 % naturalnie występujących w liściach herbaty katechin. Większość flawan-3-oli herbaty to estry kwasu galusowego. Główną katechiną występującą w liściach herbaty niefermentowanej jest galusan epigalokatechiny (EGCG), stanowi on od 5 do 18 % s.m. liści. Zawartość pozostałych katechin w suchej masie liści wynosi 0,1 – 1,2 % epigalokatechiny (EGC), 1 – 5 % galusanu epikatechiny (ECG), 0,2 – 1,2 % epikatechiny (EC), 0,2 – 1,5 % galusanu galokatechiny (GCG), poniżej 0,1 % katechiny (C) [10]. Sumaryczna ilość flawan-3-oli oraz ich wzajemne proporcje w liściu świeżej herbaty zależą od okresu zbioru [11], wieku liści

[8] i warunków uprawy [18]. Na ilość uwolnionych do ekstraktu katechin oczwisty wpływ mają warunki przygotowania roztworów: rodzaj rozpuszczalnika [14, 16] stosunek masy herbaty do ilości rozpuszczalnika, stopień rozdrobnienia liści, czyli powierzchnia kontaktu herbata - rozpuszczalnik [15], czas i temperatura ekstrakcji. Flawan-3-ole herbaty ze względu na właściwości przeciwutleniające [5, 13] znalazły zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i spożywczym [19]. W ostatnich latach wykazano, że galusany katechin mogą ograniczać absorpcję jelitową cholesterolu [2, 3] i produktów hydrolizy lipidów [1, 4, 7]. Najskuteczniej eliminują cholesterol z miceli kwasów żółciowych galusany katechin należące do (-) form (2S, 3R) [3]. Preparaty katechinowe bogate w galusany katechin należące do (-) form (2S, 3R) mogłyby znaleźć zastosowanie w przemyśle spożywczym jako stabilizatory żywności wysokotłuszczowej bogatej w cholesterol.

Celem pracy było określenie wpływu warunków ekstrakcji wodnej liści herbaty białej na ilość i procentowy udział poszczególnych frakcji flawan-3-oli.

### **Materialy i metody badań**

W badaniach użyto białej herbaty liściastej zakupionej w lokalnym sklepie z herbatami. Została ona wybrana spośród pięciu herbat niefermentowanych. Jako kryterium wyboru przyjęto skuteczność w ograniczaniu dostępności lipidów w procesie trawienia *in vitro* [12]. Ekstrakty wodne herbaty sporządzano poprzez odważenie  $0,3 \pm 0,0001$  g suchych, rozdrobnionych liści i dodanie 15 ml wody redestylowanej o temperaturze: 40, 60, 70, 80 i 100°C i w każdej z nich prowadzono ekstrakcję przez 2, 5, 15, 30, 60 i 120 min przy stałym wytrząsaniu. Uzyskane próbki sączono przez twardą bibułę filtracyjną. Otrzymane ekstrakty płukano gazowym azotem i przechowywano w temp. -20 °C.

Oznaczanie zawartości katechin w ekstraktach herbaty wykonywano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej opisaną przez Lin i wsp. [10]. Do oznaczeń użyto chromatografu cieczowego (Biorad Lab., Herkules, CA. USA), detektor spektrofotometryczny  $\lambda=280$  nm; kolumnę LUNA C18(2) (250x4,6 mm). Wzorce flawan-3-oli oraz napary herbat przed analizą przesączano przez filtry o średnicy porów 0,45  $\mu$ m. Stosowano przepływ fazy ruchomej równy 1 ml/min i elucję gradientową (0 - 10 min – 100 % fazy A - elucja izokratyczna; 10 - 25 min – 100 %  $\rightarrow$  90 % fazy A, 0 %  $\rightarrow$  10 % fazy B - gradient liniowy; 25 - 60 min – 90 %  $\rightarrow$  70 % fazy A, 10 %  $\rightarrow$  30 % fazy B - gradient liniowy). Jako fazę A zastosowano metanol/kwas mrówkowy/wodę redestylowaną (20:0,3:79,7 v/v/v), a jako fazę B zastosowano metanol/kwas mrówkowy (99,7:0,3 v/v).

Do porównania ilości oznaczonych związków zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano testem LSD Fishera przy poziomie istotności  $p < 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Ilości uwolnionych do roztworu katechin:(-)-galusanu epigalokatechiny EGCG, (-)-galusanu epikatechiny ECG, (-)-epikatechiny EC, (-)-galusanu galokatechiny GCG, (-)-galusanu katechiny CG i (-)-katechiny C przedstawiono w tab. 1. Ekstrakcję prowadzono w warunkach beztlenowych, w celu wyeliminowania procesów oksydacyjnych i polimeryzacyjnych katechin, które mogłyby powodować spadek sumarycznej ilości polifenoli [8, 9,14]. Zawartość oznaczonych związków i ich wzajemne proporcje były zależne od warunków przygotowania ekstraktów. Maksymalną sumaryczną zawartość katechin w roztworze oznaczono po 2-godzinnej ekstrakcji w temp. 100 °C, wynosiła ona 24,88 % s.m. liści. Natomiast najmniejszą ilość flawan-3-oli oznaczono w ekstraktach przygotowanych w temperaturze 20 °C. Ilość uwolnionych katechin w tej temperaturze, w zależności od czasu ekstrakcji, mieściła się w zakresie od 3,49 do 8,15 % s.m. liści. Na rys. 1A przedstawiono wpływ temperatury i czasu ekstrakcji na sumaryczną ilość flawan-3-oli.

Tabela 1

Ilość flawan-3-oli (EGCG, ECG, EC, GCG, CG, C) uwolniona z liści herbaty do ekstraktów przygotowanych w różnych warunkach [% s.m. liści].

Amounts of flavan-3-ols (EGCG, ECG, EC, GCG, CG, C) released from tea leaves into extracts prepared under different conditions [% d.m. of leaves].

Temperatura [°C] Temperature[°C]	Czas[min] Time[min]	EGCG	ECG	EC	GCG	CG	C
20	2	1,94 <sup>a</sup>	0,89 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>	0,18 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>
	5	2,36 <sup>ab</sup>	1,01 <sup>a</sup>	0,38 <sup>b</sup>	0,23 <sup>ab</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,24 <sup>b</sup>
	15	2,61 <sup>bc</sup>	1,16 <sup>a</sup>	0,48 <sup>de</sup>	0,35 <sup>bcd</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,29 <sup>bc</sup>
	30	2,96 <sup>c</sup>	1,25 <sup>ab</sup>	0,51 <sup>ef</sup>	0,39 <sup>cde</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,33 <sup>cde</sup>
	60	4,47 <sup>e</sup>	1,83 <sup>cd</sup>	0,56 <sup>f</sup>	0,51 <sup>efgh</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,45 <sup>f</sup>
	120	4,56 <sup>e</sup>	1,86 <sup>cd</sup>	0,68 <sup>hij</sup>	0,60 <sup>ghij</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,44 <sup>f</sup>
40	2	3,02 <sup>c</sup>	1,64 <sup>bc</sup>	0,39 <sup>b</sup>	0,29 <sup>abc</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,26 <sup>b</sup>
	5	3,87 <sup>d</sup>	1,86 <sup>cd</sup>	0,42 <sup>bc</sup>	0,35 <sup>bcd</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,36 <sup>de</sup>
	15	5,55 <sup>fg</sup>	2,40 <sup>ef</sup>	0,71 <sup>ijk</sup>	0,48 <sup>defg</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,44 <sup>f</sup>
	30	5,58 <sup>fg</sup>	2,42 <sup>ef</sup>	0,80 <sup>n</sup>	0,53 <sup>efgh</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,48 <sup>fgh</sup>
	60	5,82 <sup>gh</sup>	2,52 <sup>fg</sup>	0,86 <sup>o</sup>	0,60 <sup>ghij</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,51 <sup>gh</sup>
	120	6,89 <sup>i</sup>	2,69 <sup>fg</sup>	0,96 <sup>s</sup>	0,62 <sup>ghij</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,57 <sup>ij</sup>
60	2	5,66 <sup>fg</sup>	1,77 <sup>cd</sup>	0,43 <sup>bcd</sup>	0,32 <sup>abc</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,32 <sup>cd</sup>
	5	6,17 <sup>h</sup>	2,78 <sup>fg</sup>	0,54 <sup>f</sup>	0,42 <sup>cdef</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,38 <sup>e</sup>
	15	7,49 <sup>j</sup>	3,42 <sup>h</sup>	0,77 <sup>lmn</sup>	0,57 <sup>fghi</sup>	0,02 <sup>ab</sup>	0,47 <sup>fg</sup>
	30	7,79 <sup>j</sup>	3,98 <sup>ij</sup>	0,78 <sup>mn</sup>	0,59 <sup>ghij</sup>	0,03 <sup>abc</sup>	0,53 <sup>hi</sup>
	60	9,69 <sup>k</sup>	4,41 <sup>klm</sup>	0,96 <sup>st</sup>	0,71 <sup>j</sup>	0,02 <sup>ab</sup>	0,60 <sup>j</sup>
	120	9,71 <sup>k</sup>	4,47 <sup>lm</sup>	0,99 <sup>t</sup>	0,74 <sup>jk</sup>	0,03 <sup>abc</sup>	0,60 <sup>j</sup>

c.d. Tab. 1

70	2	5,31 <sup>f</sup>	2,09 <sup>de</sup>	0,47 <sup>cde</sup>	0,33 <sup>abc</sup>	0,02 <sup>ab</sup>	0,32 <sup>cd</sup>
	5	6,17 <sup>h</sup>	2,88 <sup>g</sup>	0,65 <sup>gh</sup>	0,44 <sup>cdef</sup>	0,02 <sup>ab</sup>	0,38 <sup>e</sup>
	15	9,69 <sup>k</sup>	4,04 <sup>ijk</sup>	0,86 <sup>o</sup>	0,68 <sup>ij</sup>	0,03 <sup>abc</sup>	0,53 <sup>hi</sup>
	30	10,22 <sup>l</sup>	4,41 <sup>klm</sup>	0,96 <sup>st</sup>	0,75 <sup>jk</sup>	0,05 <sup>bcd</sup>	0,60 <sup>j</sup>
	60	10,80 <sup>mn</sup>	4,95 <sup>no</sup>	0,95 <sup>rst</sup>	0,87 <sup>kl</sup>	0,06 <sup>cde</sup>	0,71 <sup>kl</sup>
	120	10,52 <sup>lm</sup>	4,85 <sup>no</sup>	0,93 <sup>prs</sup>	0,98 <sup>lm</sup>	0,08 <sup>ef</sup>	0,77 <sup>m</sup>
80	2	5,27 <sup>f</sup>	2,78 <sup>fg</sup>	0,62 <sup>g</sup>	0,42 <sup>cdef</sup>	0,07 <sup>de</sup>	0,36 <sup>de</sup>
	5	7,89 <sup>j</sup>	3,89 <sup>ij</sup>	0,75 <sup>klm</sup>	0,56 <sup>fgh</sup>	0,09 <sup>efg</sup>	0,47 <sup>fg</sup>
	15	9,44 <sup>k</sup>	4,28 <sup>jkl</sup>	0,87 <sup>o</sup>	0,74 <sup>jk</sup>	0,11 <sup>fg</sup>	0,51 <sup>gh</sup>
	30	11,36 <sup>n</sup>	5,04 <sup>o</sup>	0,99 <sup>t</sup>	1,05 <sup>m</sup>	0,15 <sup>h</sup>	0,71 <sup>kl</sup>
	60	10,91 <sup>mn</sup>	4,73 <sup>mno</sup>	0,86 <sup>o</sup>	1,43 <sup>n</sup>	0,31 <sup>k</sup>	0,75 <sup>lm</sup>
	120	9,24 <sup>k</sup>	4,47 <sup>lm</sup>	0,90 <sup>opr</sup>	1,80 <sup>o</sup>	0,42 <sup>l</sup>	1,08 <sup>o</sup>
100	2	5,27 <sup>f</sup>	2,63 <sup>fg</sup>	0,66 <sup>ghi</sup>	0,50 <sup>defg</sup>	0,12 <sup>gh</sup>	0,38 <sup>e</sup>
	5	7,89 <sup>j</sup>	3,63 <sup>hi</sup>	0,72 <sup>kl</sup>	0,66 <sup>hij</sup>	0,21 <sup>i</sup>	0,44 <sup>f</sup>
	15	9,44 <sup>k</sup>	4,46 <sup>lm</sup>	0,74 <sup>klmn</sup>	1,02 <sup>l</sup>	0,27 <sup>j</sup>	0,66 <sup>k</sup>
	30	11,16 <sup>n</sup>	4,61 <sup>lmn</sup>	0,75 <sup>klmn</sup>	2,15 <sup>p</sup>	0,34 <sup>k</sup>	0,89 <sup>n</sup>
	60	10,91 <sup>mn</sup>	5,06 <sup>o</sup>	0,80 <sup>n</sup>	3,87 <sup>r</sup>	0,67 <sup>m</sup>	1,20 <sup>p</sup>
	120	9,24 <sup>k</sup>	5,63 <sup>p</sup>	0,89 <sup>op</sup>	6,41 <sup>s</sup>	0,98 <sup>n</sup>	1,73 <sup>r</sup>

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Różne litery superskryptu oznaczają różnice statystycznie istotne między wartościami średnimi.

Different superscript letters express statistically significant differences among mean values.

Największy procentowy udział flawan-3-oli we wszystkich ekstraktach stanowił (-)-galusan epigalokatechiny. Udział tej głównej katechiny w całkowitej ilości flawan-3-oli, uwolnionych do roztworu, wynosił od 37 do 60 %. Drugą co do ilości katechiną był (-)-galusan epikatechiny, którego procentowy udział zawierał się w zakresie od 22 do 29 %.

Wyjątek stanowił ekstrakt otrzymany po 2-godzinnej inkubacji w temp. 100 °C, w którym drugą co do ilości katechiną był (-)-galusan katechiny, którego udział stanowił 26 % wszystkich flawan-3-oli. W pozostałych roztworach udział (-)-galusanu katechiny mieścił się w przedziale od 4 do 17 %. Wzrost procentowej zawartości flawan-3-oli, należących do (-) form (2S, 3R): (-)-galusanu katechiny i (-)-katechiny, w ekstraktach przygotowanych w wysokiej temperaturze wynikał z procesu epimerizacji [6, 17].

Ważnym parametrem opisującym preparaty katechinowe jest procentowy udział (-) form (2S, 3R) (rys. 1 B). W temperaturze ekstrakcji 20 °C procentowy udział (-) form (2S, 3R) zawierał się w przedziale od 10,3 do 13,4 %. Ze wzrostem temperatury obserwowano zmniejszenie udziału tej frakcji. Najmniejszy procentowy udział (-) form (2S, 3R) wynoszący od 7 do 10 % oznaczono w ekstraktach przygotowanych w temperaturze 60 i 70 °C. W ekstraktach przygotowanych w temperaturze z przedziału 20 –

70 °C nie obserwowano wpływu czasu inkubacji na procentowy udział poszczególnych stereoizomerów. Wzrost temperatury do 80 °C zwłaszcza przy dłuższym czasie inkubacji wpływał istotnie na przyrost udziału (-) form (2S, 3R). Zaobserwowano, że proces epimeryzacji katechin zachodził już przy 15-minutowej inkubacji w temp. 80 °C. Maksymalną zawartość (-) form (2S, 3R) wynoszącą 36,7 % oznaczono w ekstraktach przygotowanych po 2-godzinnej ekstrakcji w temp. 100 °C. Wang wykazał, że w obecności jonów metali proces epimeryzacji może zachodzić już w temp. 40 °C, jednak obecność jonów katalizowała także procesy utlenienia i polimeryzacji flawan-3-oli [17].

Zanalizowano również wpływ parametrów ekstrakcji na procentowy udział wolnych katechin (katechin niezawierających w cząsteczce reszty kwasu galusowego) (rys. 1 C). Wolne katechiny (EC i C) stanowiły od 8 do 16 % wszystkich flawan-3-oli. Odznaczają się one najmniejszymi masami spośród flawan-3-oli, dlatego w niskiej temperaturze były łatwiej uwalniane z liści herbaty. W ekstraktach przygotowanych w temp. 20 °C procentowy udział flawan-3-oli niezawierających w cząsteczce reszty kwasu galusowego był największy (do 16 %). Natomiast najmniejszym procentowym udziałem wolnych katechin (8 – 9 %) charakteryzowały się ekstrakty przygotowane w wysokiej temperaturze (80 – 100 °C) i w krótkim czasie (2 – 60 min). Wydłużenie czasu ekstrakcji do 120 min powodowało zwiększenie procentowego udziału wolnych katechin do 11 %, czyli największy procentowy udział galusanów katechin był w roztworach przygotowanych przez traktowanie liści herbaty wodą o temp. powyżej 80 °C przez maksymalnie 60 min.

Zmniejszenie procentowego udziału galusanów katechin przy długim czasie ekstrakcji wynikał z procesu ich hydrolizy do wolnych katechin i kwasu galusowego. Ito i wsp. [6] wykazali, że na hydrolizę związków mających w swojej strukturze kwas galusowy wpływa głównie czas przechowywania roztworów galusanów katechin, natomiast działanie wysoką temperaturą nie powodowało istotnych zmian.

## Wnioski

1. Wzrost temperatury i wydłużenie czasu wodnej ekstrakcji herbaty białej powodowały wzrost ilości uwalnianych do roztworu flawan-3-oli. Największą sumaryczną zawartość katechin oznaczono w roztworze przygotowanym po 2-godzinnej ekstrakcji w temperaturze 100 °C.
2. Najwyższy procentowy udział stereoizomerów należących do (-) form (2S, 3R) oznaczono w roztworze przygotowanym po 2-godzinnej ekstrakcji w temperaturze 100 °C. Udział ten stanowił 36,7 % wszystkich flawan-3-oli.
3. Proces epimeryzacji katechin zachodził już przy 15-minutowej inkubacji w temp. 80 °C. W niższych temperaturach proces epimeryzacji nie zachodził.

4. Procentowy udział katechin zawierających w cząsteczce resztę kwasu galusowego był najwyższy w roztworach przygotowanych przez traktowanie liści herbaty wodą o temp. powyżej 80 °C przez maksymalnie 60 min.

### Literatura


- [1] He Q, Lv Y, Yao K.: Effects of tea polyphenols on the activities of  $\alpha$ -amylase, pepsin, trypsin and lipase. *Food Chem.*, 2007, **101**, 1178-1182.
- [2] Ikeda I., Imasato Y., Sasaki E., Nakayama M., Nagao H., Takeo T., Yayabe F., Sugano M.: Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1992, **1127**, 141-146.
- [3] Ikeda I., Kobayashi M., Hamada T., Tsuda K., Goto H., Imaizumi K., Nozawa A., Sugimoto A., Kakuda T.: Heat-epimerized tea catechins rich in gallocatechin gallate and catechin gallate are more effective to inhibit cholesterol absorption than tea catechins rich in epigallocatechin gallate and epicatechin gallate. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 7303-7307.
- [4] Ikeda I., Tsuda K., Suzuki Y., Kobayashi M., Unno T., Tomoyori H., Goto H., Kawata Y., Imaizumi K., Nozawa A., Kakuda T.: Tea catechins with gallolyl moiety suppress postprandial hypertriglycerolemia by delaying lymphatic transport of dietary fat in rats. *J. Nutr.*, 2005, **135**, 155-159.
- [5] Ishikawa T., Suzukawa M., Ito T., Yoshida H., Ayaori M., Nishiwaki M., Yonemura A., Hara Y., Nakamura H.: Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997, **66**, 261-266.
- [6] Ito R., Yamamoto A., Kodama S., Kato K., Yoshimura Y., Matsunaga A., Nakazawa H.: A study on the change of enantiomeric purity of catechins in green tea infusion. *Food Chem.*, 2003, **83**, 563-568.
- [7] Kajimoto O., Yabune M., Nakamura T., Kotani K., Suzuki Y., Nozawa A., Nagata K., Unno T.: Tea catechins with gallolyl moiety reduce body weight and fat. *J. Health Sci.*, 2005, **51** (2), 161-171.
- [8] Khokhar S., Magnusdottir S. G. M.: Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 565-570.
- [9] Komatsu Y., Suematsu S., Hisanobu Y., Saigo H., Madsuda R., Hara K.: Effects of pH and temperature on reaction kinetics of catechins in green tea infusion. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1993, **57**, 907-910.
- [10] Lin J.-K., Lin Ch., Liang Y., Shiau S., Juan I.: Survey of catechins, gallic acid and methylxanthines in green, oolong, pu-erh and black teas. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46** (9), 3635-3642.
- [11] Lin Y., Juan I., Chen Y., Liang Y., Lin J.: Composition of polyphenols in fresh tea leaves and associations of their oxygen-radical-absorbing capacity with antiproliferative actions in fibroblast cells. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 1387-1394.
- [12] Mika M., Wikiera A., Żyła K.: Effects of non-fermented tea extracts on *in vitro* digestive hydrolysis of lipids and on cholesterol precipitation. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **226** (4), 731-736.
- [13] Miura Y., Chiba T., Miura S., Tomita I., Umegaki K., Ikeda M., Tomita T.: Green tea polyphenols (flavan-3-ols) prevent oxidative modification of low density lipoproteins : an *ex vivo* study in humans. *J. Nutr. Biochem.*, 2000, **11**, 216-222.
- [14] Perva-Uzunalić A., Škerget M., Knez Ž., Weinreich B., Otto F., Grüner S.: Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chem.*, 2006, **96**, 597-605.
- [15] Peterson J., Dwyer J., Bhagwat S., Haytowitz D., Hlden J., Eldridge A. L., Beecher G., Aladesanmi J.: Major flavonoids in dry tea. *J. Food Comp. Anal.*, 2005, **18**, 487-501.

- [16] Row K., H., Jin Y.: Recovery of compounds from Korean tea by solvent extraction. *Biores. Technol.*, 2006, **97**, 790-793.
- [17] Wang H., Helliwell K.: Epimerisation of catechins in green tea infusions. *Food Chem.*, 2000, **70**, 337-344.
- [18] Wierzejewska, R., Jarosz, M.: Związki polifenolowe w herbacie i ich znaczenie zdrowotne. *Żyw. Człow. Metab.*, 2004, **3**, 274-280.
- [19] Yilmaz Y.: Novel uses of catechins in foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 2006, **17**, 64-71.

#### EFFECT OF EXTRACTION TIME AND TEMPERATURE ON THE CONTENT OF CATECHINS IN WHITE TEA WATER EXTRACTS

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

Non-fermented tea is a rich source of flavan-3-ols that have antioxidative properties. Recently, it has been proved that catechins containing gallic acid radical in their molecule are able to reduce intestinal absorbance of cholesterol and lipids from foods. The varying efficiency of the activity of catechin gallates is a consequence of their stereochemical structure. Catechin gallates, which belong to the (-) forms (2S, 3R) eliminate cholesterol from the micelles formed by bile acids in the most effective way. High temperature causes the epimerization of flavan-3-ols and the increase in the amounts of the (-) forms (2S, 3R). In this paper, the effect of temperature and time of extraction of dried white tea leaves was investigated on the total amount of flavan-3-ol, on the percent share of the (-) fraction of the forms (2S, 3R), and the percent share of catechins containing gallic acid radical in their molecule. It was showed that the composition of catechin preparations could be moulded by changing the conditions of tea extraction.

**Key words:** flavan-3-ols, extraction, white tea, catechin gallates 



EDWARD KOŁAKOWSKI, MAREK WIANECKI, IWONA MILEWSKA

## TEMPERATURA CIEPLNEJ KOAGULACJI BIAŁEK MIĘŚNIOWYCH RYB I ZWIERZĄT RZEŹNYCH WYBRANYCH GATUNKÓW

### Streszczenie

Posługując się wcześniej opracowaną metodą termomechaniczną wyznaczono zakresy temperatury cieplnej koagulacji białek miofibrylarnych i sarkoplazmatycznych mięsa 5 gatunków ryb (12 partii surowca) oraz wołowiny i wieprzowiny, a także graniczną temperaturę denaturacji wszystkich białek mięśniowych. Wykazano, że pomimo podobnej temperatury dogrzania mięsa (ok. 77°C), potrzebnej do pełnego zdenaturowania wszystkich białek, temperatura pełnej koagulacji białek miofibrylarnych (bez wolnej aktyny, która występowała sporadycznie w badanych próbach) była różna i wynosiła: w przypadku ryb morskich ok. 48 °C, ryb słodkowodnych ok. 51 °C, a zwierząt rzeźnych ok. 56 °C. Okres tarła ryb nie miał istotnego wpływu na zakresy temperatury koagulacji poszczególnych frakcji białek, natomiast powodował zmniejszenie wielkości pików frakcji białek sarkoplazmatycznych.

**Słowa kluczowe:** temperatura, denaturacja, mięso, ryby, zwierzęta rzeźne

### Wstęp

Obróbka cieplna jest jednym z podstawowych procesów jednostkowych stosowanych w przetwórstwie rybnym. Służy ona zarówno do utrwalenia żywności, jej kulinarnego przygotowania, restytucji, jak również do uszlachetniania surowców przed ich dalszym przerobem na gotowe wyroby [7, 8]. Na przykład w produkcji konserw rybnych w zalewach olejowych wstępna obróbka cieplna (WOC: parowanie, podsuszanie, podwędzanie lub inne) powinna zagwarantować usunięcie z surowca tyle wody, aby podczas sterylizacji nie następowało jej dalsze uwalnianie się i mieszanie z olejem. Jednak nadmierne usunięcie wody podczas WOC bardzo pogarsza teksturę mięsa sterylizowanych ryb. Usuwanie nadmiaru wody z mięsa ryb podczas WOC jest z kolei ściśle związane z przebiegiem denaturacji białek mięśniowych [7, 8].

Przyjęte w instrukcjach technologicznych parametry WOC nie zawsze są optymalne. Zwykle są one bardziej dostosowane do zachowania bezpieczeństwa żywności niż do celów technologicznych [8]. Nieuzasadnione zawyżanie parametrów WOC powoduje niepotrzebne straty składników odżywczych mięsa ryb.

Markowski i wsp. [11] wykazali, że wpływ temperatury na proces denaturacji białka mięsa ryb jest większy niż wpływ czasu. Przy stosowaniu odpowiednio wysokiej temperatury dogrzania czas obróbki jest na tyle krótki, że może być pominięty przy wyznaczaniu zależności.

Odporność białek mięśniowych na ogrzewanie różni się w zależności od gatunku ryby. Na przykład oczyszczona miozyna dorsza jest szczególnie niestabilna termicznie, tworząc szybko agregaty [2], podczas gdy miozyna ryb pochodzących z wód ciepłych (np. *Lutianus sebae*) jest bardziej stabilna, chociaż mniej niż miozyna ssaków [3]. Miozyna mięsa ryb podlega szybszym i głębszym zmianom denaturacyjnym podczas obróbki cieplnej niż miozyna zwierząt rzeźnych [3]. Większość badaczy uzasadnia tę różnicę inną temperaturą ciała *in vivo* zwierząt zmiennocielnych i stałocielnych [5]. Ogawa i wsp. [13] stosując DSC wykazali, że denaturacja miozyny karpia rozpoczyna się w temp. 30 °C, podczas gdy miozyny królika w temp. 40 °C. Ponadto miozyna królika wykazywała tylko jeden pik denaturacyjny, a miozyna karpia dwa piki, odpowiadające prawdopodobnie denaturacji subfragmentu S-1 i lekkiej meromiozyny (LMM), co potwierdza wysoką niestabilność miozyny ryb.

Do bliższego poznania temperatury denaturacji białek znacznie przyczyniło się wprowadzenie różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), która pozwala badać białka mięśniowe bez potrzeby ich izolowania z mięsa [4]. Aparatura ta jest bardzo kosztowna, co przekracza możliwości finansowe wielu laboratoriów badawczych. Ponadto, poważną wadą tej metody jest mała wielkość próbki pobieranej do badań, nieprzekraczająca kilkudziesięciu miligramów. Pobranie takiej próbki z tkanki mięśniowej tak, aby była ona reprezentatywna, nastęrcza poważne trudności. Zastosowanie elektroforezy białek do wyznaczania końcowej („end-point”) temperatury ogrzewania mięsa ryb [16] jest również kłopotliwe i czasochłonne. Kołakowski i Wianecki [9] opracowali metodę wyznaczania temperatury koagulacji podstawowych frakcji białek mięśniowych ryb bezpośrednio w mięsie bez potrzeby ich wstępnej izolacji, polegającą na dogrzewaniu dużej próby mięsa (ok. 1 kg) z szybkością ok. 1 °C/min do ok. 90 °C. Metodę tę nazwano termomechaniczną.

Celem niniejszej pracy było wyznaczenia temperatury cieplnej koagulacji frakcji białkowych mięsa ryb wybranych gatunków metodą termomechaniczną i porównanie z wynikami temperatury koagulacji białek wieprzowiny i wołowiny.

## **Materiały i metody badań**

Badania wykonano na 12 partiach ryb świeżych (nie mrożonych), obejmujących 5 gatunków (płóć, leszcz, karp, śledź bałtycki i dorsz bałtycki) i 2 partiach mięsa zwierząt rzeźnych, obejmujących: udziec wołowy bez kości i tłuszcz, schab wieprzowy bez kości i tłuszcz. Wszystkie partie ryb, a szczególnie leszcza, były celowo zróżnicowane pod względem daty połowów i stopnia dojrzałości gonad (tab. 1).

Ryby pochodziły z Zatoki Pomorskiej (śledź, dorsz), Jeziora Dąbskiego, (płóć, leszcz), i stawów hodowlanych k/Chociwła (karp), a mięso zwierząt rzeźnych z Zakładów Mięsnych w Szczecinie-Dąbiu.

Ryby, po dostarczeniu do laboratorium i oddzieleniu lodu, oprawiono ręcznie do postaci tusz, płukano w bieżącej wodzie wodociągowej i pozostawiano do ocieknięcia (ok. 20 min). Tusze przepuszczano przez separator bębnowy typu NF 13X (Bibun, Japonia) o średnicy otworów w bębnie 4 mm, a otrzymane mechanicznie odkostnione mięso (MOM) doczyszczano na separatorze ślimakowym (streinerze) typu SUB 420 (Bibun, Japonia) o średnicy otworów w siatce 2,7 mm w celu usunięcia resztek ości i skóry.

Mięso zwierząt rzeźnych rozdrabniano w wilku o średnicy oczek siatki 4 mm. Po wymieszaniu, poszczególne próby mięsa pobierano bezzwłocznie do badań.

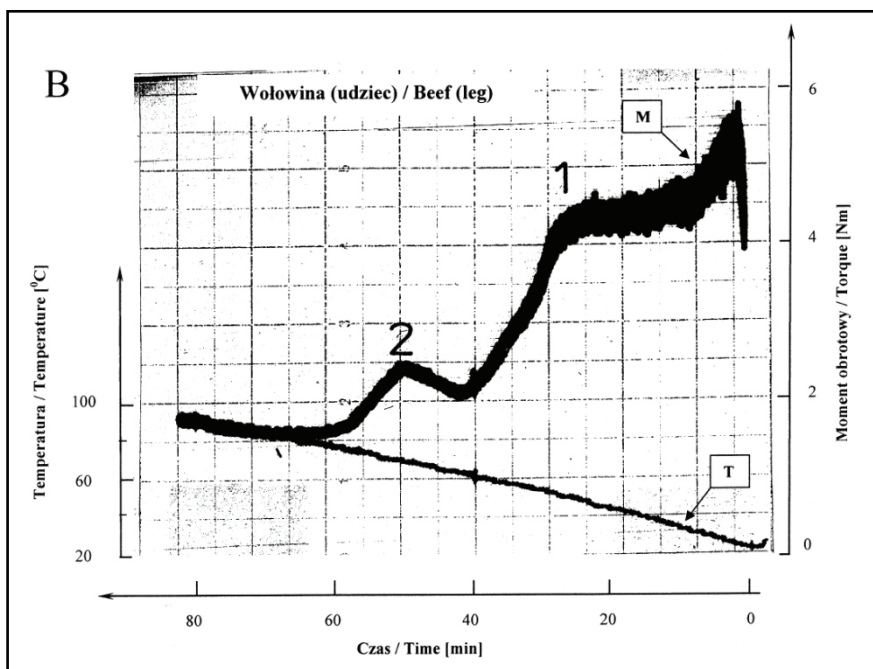
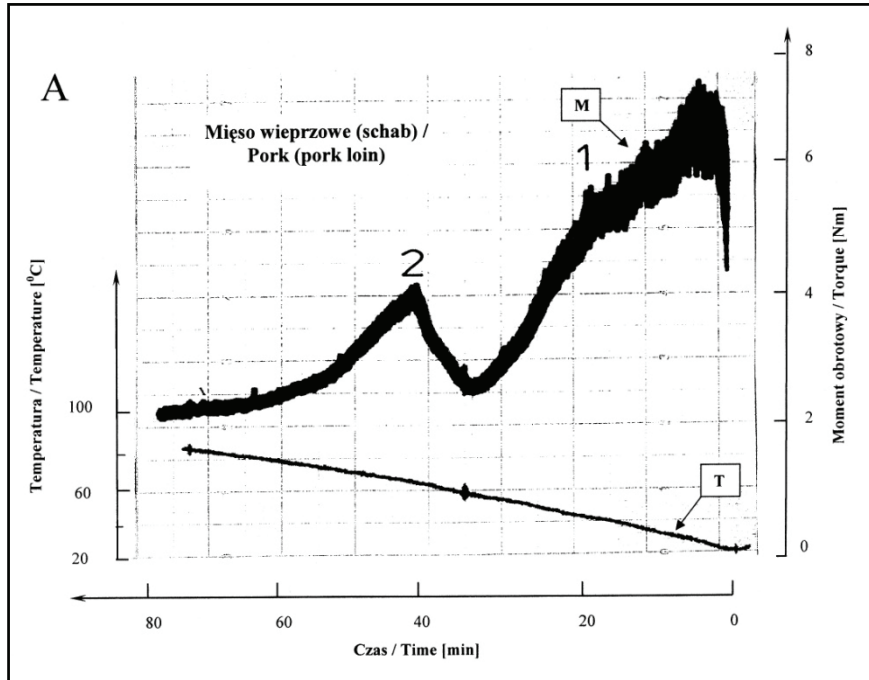
Ogrzewanie mięsa w celu wyznaczenia krzywych termomechanicznych prowadzono wg metody własnej, opisaną wcześniej [9]. Próbę rozdrobnionego mięsa (1000 g) mieszano ze stałą prędkością 66,5 obr./min i ogrzewano w sposób ciągły do temp. ok. 85 °C z szybkością 1 °C/min, w mieszadło planetarnym typu P 600, stosując zestaw firmy Brabender, (Niemcy) umożliwiający rejestrację temperatury i momentu obrotowego. Temp. początkowa mięsa wynosiła 15 – 18 °C, a końcowa temp. dogrzenia 83 – 85 °C.

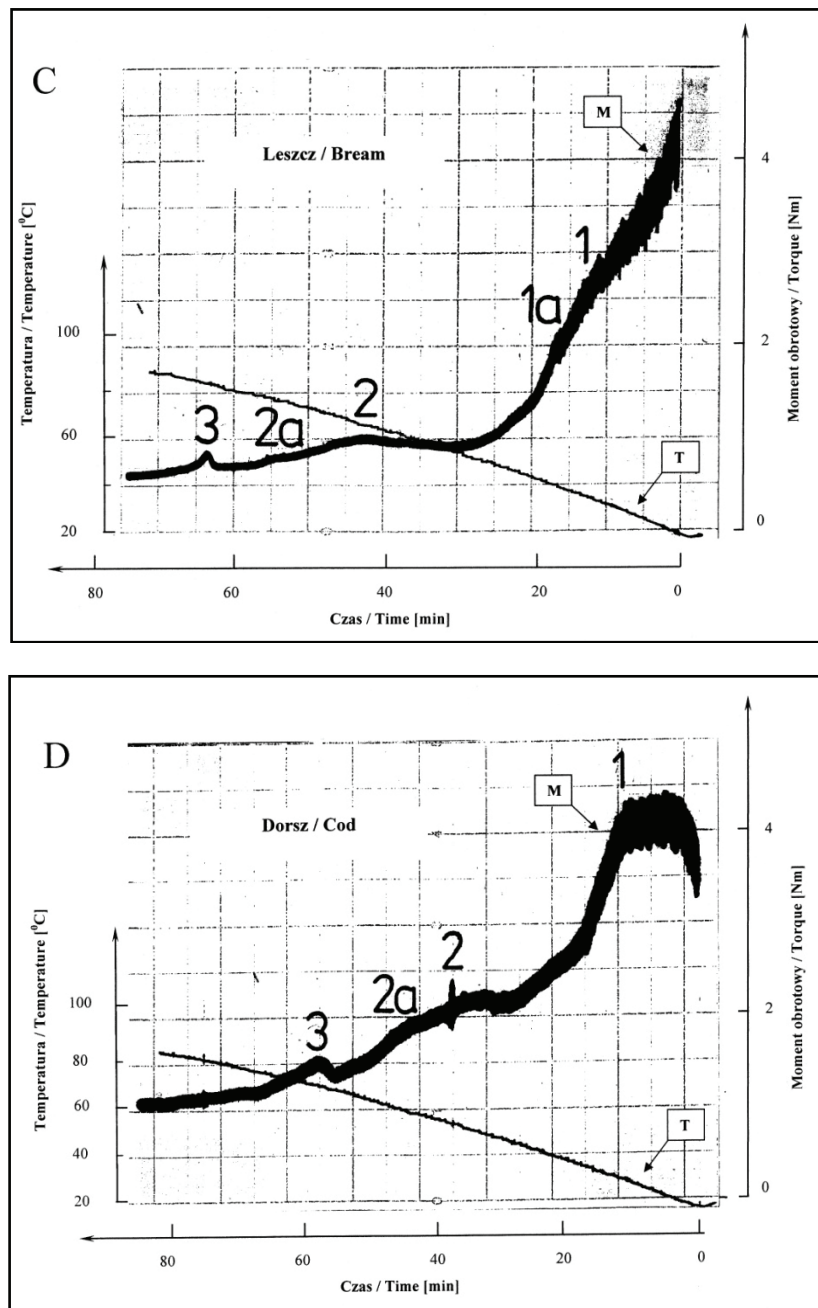
Istotność różnic na poziomie  $p < 0,05$  pomiędzy wartościami temperatury denaturacji białek mięśniowych leszcza w zależności od stopnia dojrzałości gonad weryfikowano testem Tukey'a korzystając z programu Statistica 7.0

## **Wyniki badań i dyskusja**

Stosując termomechaniczną metodę ogrzewania mięsa, uzyskano trzy podstawowe piki momentu obrotowego, odpowiadające kolejno: 1)– białkom miofibrylarnym, 2) białkom sarkoplazmatycznym, 3) wolnej aktynie (rys. 1).

Zakres temperatury koagulacji frakcji 1., aż do punktu przegięcia krzywej i przejścia we frakcję 2., wynosił w przypadku ryb morskich 26 – 50 °C (dorsz 26 – 43 °C), ryb słodkowodnych 30 – 52 °C, a w przypadku mięsa zwierząt rzeźnych 44 – 54 °C. Ponadto, w obrębie frakcji 1. wyodrębniono podfrakcję 1a, w której temperatura koagulacji mięsa ryb morskich, słodkowodnych i zwierząt rzeźnych mieściła się w zakresie odpowiednio: 36 – 46, 44 – 45 i 50 – 54 °C. Wyznaczone zakresy temperatury koagulacji frakcji 1. są bardzo zbliżone z wartościami temperatury koagulacji białek mięsa ryb, oznaczonymi metodą DSC [4, 13].





Rys. 1. Zmiany momentu obrotowego mieszadła (M) podczas ogrzewania (T) rozdrobnionego mięsa. (A - mięso wieprzowe (schab), B - wołowina (udziec), C - leszcz, D - dorsz).

Fig. 1. Changes in the mixer torque (M) while heating up (T) the minced meat. (A - pork (pork loin), B - beef (leg), C - bream, D - cod).

Temperatura koagulacji frakcji 2. mięsa ryb morskich, słodkowodnych i zwierząt rzeźnych mieściła się w zakresie, odpowiednio: 47 – 78, 60 – 77 i 61-76 °C, a maksimum pików przypadało w obszarze, odpowiednio: 47 – 55, 60 – 64 i 61 – 64 °C. Oznacza to, że podstawowe białka frakcji 2. koagulowały stosunkowo szybko, natomiast białka bardziej termooporne powodowały wydłużenie piku, czyli zakresu temperatury koagulacji. Wynikało to prawdopodobnie z dużej złożoności białek frakcji 2., która zawierała od 50 do 100 białek o bardzo zróżnicowanej masie cząsteczkowej ( $20 \cdot 10^3$  –  $100 \cdot 10^3$  Da) i punkcie izoelektrycznym pomiędzy pH 6,0 i 7,0 [6, 12]. Uddin i wsp. [17] wykazali, że podczas ogrzewania najtrudniej koagulującą frakcją białek sarkoplazmatycznych mięsa marlina była dehydrogenaza mleczanowa; jej strącanie następowało dopiero w temp. 67 °C.

Cały przedział temperaturowy, jak i zakres odpowiadający maksimum koagulacji frakcji 2. ryb słodkowodnych i zwierząt rzeźnych były zbliżone. Natomiast białka mięśni ryb morskich tej frakcji, a szczególnie dorsza, koagulowały w zakresie niższym o ok. 10 °C niż białka mięsa wieprzowego i wołowego. Prawdopodobnie jest to związane z niską temperaturą środowiska, w którym przebywają głębinowe ryby morskie [14]. Pewien wpływ na niższą temperaturę koagulacji tej frakcji mięsa dorsza może mieć również mała w nim zawartość tłuszczu. Działanie ochronne triacylogliceroli na denaturację cieplną białek jest znane w piśmiennictwie naukowym [15].

Tabela 1

Wartości temperatury denaturacji frakcji białek mięśniowych leszcza determinowane stopniem dojrzałości gonad.

Temperature values of denaturation of bream muscle protein fractions as determined by the gonad maturity index.

Partia ryb Fish sample	Data połowu Date of catch	Stopień dojrzałości gonad Gonad maturity index	Temperatura denaturacji frakcji białkowych [°C] Coagulation temperature of protein fractions [°C]							
			1	1a	Tpp	2	2a	2b	tpp	3
A	03 II	III	30 <sup>CD*</sup>	41	50	60	-	-	74 <sup>B</sup>	75 <sup>B</sup>
B	08 III	III - IV	30 <sup>CD</sup>	41	52 <sup>D</sup>	60	65	70	77 <sup>A</sup>	79 <sup>AD</sup>
C	28 III	IV - V	33 <sup>ABD</sup>	41	52 <sup>D</sup>	62	-	72	76	-
D	11 V	VI, VII, II	36 <sup>ABC</sup>	41	49 <sup>BC</sup>	60	-	-	75	76 <sup>B</sup>

Objaśnienia / Explanatory notes:

- różnice między partiami ryb statystycznie istotne na poziomie  $p < 0,05$  / differences among fish samples that are statistically significant at  $p < 0,05$ ; Brak indeksu <sup>A,B,C,D</sup> oznacza różnice nieistotne / Values with no <sup>A,B,C,D</sup> index mean that the differences are insignificant.

Wpływ stopnia dojrzałości gonad na temperaturę koagulacji frakcji białkowych mięsa ryb zbadano na tkance leszcza, odłowionego w okresie przedtarłowym (partie A, B, C) i na początku okresu tarłowego (D). Wykazano, że pomimo znacznych różnic, szczególnie u samic, we wskaźnikach SDG i GSI, temperatura koagulacji frakcji białkowych nie różniła się istotnie (tab. 1), natomiast w okresie tarła znacznie zmalała wielkość pików drugiej frakcji. Może to świadczyć o mniejszej ekstraktywności białek mięśniowych leszcza w okresie tarła [1]. Nie miało to jednak istotnego wpływu na zakresy temperatury koagulacji białek mięśniowych pod wpływem ogrzewania.

Tabela 2

Zakresy temperatury i średnie wartości temperatury denaturacji poszczególnych frakcji białek mięsa ryb morskich, ryb słodkowodnych i zwierząt rzeźnych.

Temperature ranges and average values of coagulation temperatures of protein fractions of fish and slaughter animal-derived meat.

Frakcja (pik) Fraction (peak)	Temperatura [°C] Temperature [°C]		
	Ryby morskie Saltwater fish	Ryby słodkowodne Freshwater fish	Zwierzęta rzeźne Slaughter animals
1	26 ÷ 36 32 ± 5,3	30 ÷ 36 32 ± 2,9	44 ÷ 46 45 ± 1,4
1a	36 ÷ 46 41 ± 5,0	41 ÷ 45 42 ± 1,5	50 ÷ 54 52 ± 2,8
T <sub>PP 1,2</sub>	43 ÷ 50 48 ± 4,0	49 ÷ 52 51 ± 1,2	54 ÷ 58 56 ± 2,8
2	47 ÷ 55 52 ± 4,6	60 ÷ 64 61 ± 1,8	61 ÷ 64 63 ± 2,1
2a	55 ÷ 61 59 ± 3,5	64 ÷ 65 65 ± 0,7	ok. 64 -
2b	63 ÷ 74 70 ± 6,1	70 ÷ 73 71 ± 1,0	ok. 71 -
T <sub>PP 2,3</sub>	64 ÷ 78 73 ± 7,6	73 ÷ 77 75 ± 1,6	71 ÷ 76 74 ± 3,5
3	ok. 66 -	74 ÷ 80 77 ± 2,4	=

Objaśnienie / Explanatory note:

T<sub>pp</sub> – temp. punktu przegięcia / inflection point temperature.

Frakcja 3. występowała tylko w mięsie ryb słodkowodnych oraz dorsza pobranego do badań w okresie „pre-rigor-mortis”. Pośrednio, potwierdza to jej identyfikację jako aktyny. W większości prób frakcja ta nie występowała lub tworzyła bardzo mały

pik, co może świadczyć, że aktyna jest szybko włączana w okresie pośmiertnym w kompleks aktomiozynowy. Przedstawione wartości uśrednione (tab. 2) świadczą, że graniczna temperatura koagulacji wszystkich białek mięśniowych wynosiła ok. 77 °C niezależnie od rodzaju surowca.

Pomijając sporadycznie występującą frakcję 3., można przyjąć, że graniczna temperatura koagulacji białek mięśniowych ryb morskich, ryb słodkowodnych i zwierząt rzeźnych wyniosła, odpowiednio ok. 73, 75 i 74 °C. W celu pełnego skoagulowania wszystkich białek miofibrylarnych (frakcja 1.) w okresie „post-rigor-mortis” niezbędna temperatura dogrzenia mięsa ryb morskich wyniosła ok. 48 °C, ryb słodkowodnych ok. 51 °C, a zwierząt rzeźnych ok. 56 °C. Wartości te są o kilka stopni niższe od temperatur wyznaczonych metodą denaturacji frakcjonowanej białek soków tkankowych mięsa ryb, rozpuszczalnych w 0,9 % roztworze chlorku sodu [10, 11]. Może to świadczyć, że temperatura denaturacji białek rozpuszczonych w roztworze soli jest nieco wyższa niż białek ogrzewanych bezpośrednio w mięsie. Fakt ten przemawia na korzyść metody termomechanicznej, jako bardziej dokładnej. Ponadto metoda ta pozwala wyznaczyć także czas ogrzewania niezbędny do pełnego zdenaturowania danej grupy białek (rys. 1).

## Wnioski

1. Analiza krzywych termomechanicznych, uzyskanych na podstawie pomiaru momentu obrotowego podczas dogrzewania próbek rozdrobnionego mięsa do temp. ok. 85 °C, umożliwiła wyznaczenie zakresu temperatury koagulacji przynajmniej trzech frakcji białek mięśniowych: miofibrylarnych, sarkoplazmatycznych i wolnej aktyny oraz końcowej temperatury dogrzenia, niezbędnej do zdenaturowania wszystkich białek.
2. Graniczna temperatura koagulacji wszystkich białek mięśniowych badanych ryb i zwierząt rzeźnych wyniosła ok. 77 °C.
3. Graniczna temperatura koagulacji białek mięśniowych, z pominięciem sporadycznie występującej frakcji 3. (wolna aktyna), wyniosła: ok. 73 °C w przypadku ryb morskich, ok. 75 °C ryb słodkowodnych i ok. 74 °C w przypadku zwierząt rzeźnych.
4. Koagulacja białek miofibrylarnych (frakcja 1.) nastąpiła po dogrzeniu mięsa do temperatury: ryby morskie ok. 48 °C, ryby słodkowodne ok. 51 °C i zwierzęta rzeźne ok. 56 °C.
5. Okres tarła ryb nie miał istotnego wpływu na zakresy temperatury koagulacji poszczególnych frakcji białkowych, natomiast spowodował zmniejszenie wielkości pików, szczególnie frakcji 2.



### Literatura

- [1] Bortnowska G., Kołakowski E.: Sezonowe zmiany rozpuszczalności białek mięśniowych leszcza. Mat. XXIV Konf. Nauk. KTiChŻ PAN „Jakość żywności – uwarunkowania surowcowe i technologiczne”, Wrocław 29-30 czerwca 1993, LC.2,87.
- [2] Connell J.J.: Changes in the actin of cod flesh during storage at  $-14^{\circ}\text{C}$ . J. Sci. Food Agric., 1960, **11**, 515-519.
- [3] Connell J.J.: The relative stabilities of the skeletal muscle of some animals. Biochem. J., 1961, **80**, 503-509.
- [4] Davies J.R., Bradsley R.G., Leward D.A., Poulter R.G.: Myosin thermal stability in fish muscle. J. Sci. Food Agric., 1988, **45**, 61-68.
- [5] Jahnston I.A.: Temperature adaptation in myosin of Antarctic fish. Nature, 1975, **254**, 74-75.
- [6] Kijowski J.: Muscle proteins. In: Chemical & Functional Properties of Food Proteins, Ed. by Z.E. Sikorski, Technomic Publ. Co., Inc., Lancaster. Basel 2001, Chapt. 10, pp. 233-269.
- [7] Kołakowski E.: Technologia farszów rybnych. PWN, Warszawa 1986.
- [8] Kołakowski E.: Wstępne obróbki cieplne w technologii konserw rybnych. Informator dla przedsiębiorców. AR w Szczecinie, Szczecin 2007.
- [9] Kołakowski E., Wianecki M.: Thermal denaturation and aggregation of protein in minced fish as studied by thermomechanical method. J. Food Sci., 1990, **55**, 1477-1479.
- [10] Markowski B.: Charakterystyka technologiczna ostroboka i możliwości jego wykorzystania. Zesz. Centr. Lab. Przem. Rybn., 1967, **XV** (7), 1-104.
- [11] Markowski B., Sokołowska A., Wilska S.: Kinetyka zmian tkanki rybnej podczas obróbki cieplnej. I. Zmiany soków tkankowych. Zesz. Centr. Lab. Przem. Rybn., 1971, **XIX** (14), 1971, 5-88.
- [12] Morrissey P.A., Mulvihill D.M., O'Neill E.M.: Functional properties of muscle proteins. In: Developments in Food Proteins – 5, Ed. by B.J.F. Hudson, Elsevier Appl. Sci., 1982, Chapt. 5, pp. 195-256.
- [13] Ogawa M., Tamiya T., Tsuchiya T.: Structural changes of carp myosin during heating. Fisheries Science, 1994, **60**, 723-727.
- [14] Sikorski Z.E.: Technologia żywności pochodzenia morskiego, WNT, Warszawa 1980.
- [15] Stodolnik L., Gabryszak J.: Wpływ związków lipidowych, produktów ich hydrolizy i utleniania, na białka tkanki mięśniowej dorsza bałtyckiego (*Gadus morhua*). Przem. Spoż., 1984, **38** (1), 21-22.
- [16] Uddin M., Ishizaki S., Ishida M., Tanaka M.: Assessing the end-point temperature of heated fish and shellfish meats. Fisheries Science, 2002, **68**, 768-775.
- [17] Uddin M., Ishizaki S., Tanaka M.: Coagulation test for determining end-point temperature of heated blue marlin meat. Fisheries Science, 2000, **66**, 153-160.

#### THERMAL COAGULATION TEMPERATURE OF MUSCLE PROTEINS IN FISH AND SLAUGHTER ANIMALS FROM SOME SELECTED SPECIES

#### S u m m a r y

Using an already developed thermo-mechanical method, temperature ranges were determined of thermal coagulation of myofibrillar and sarcoplasmic meat proteins. Those proteins as indicated in the first sentence were determined in meat of 5 fish species (12 samples of raw material) and in beef and pork [9]. Moreover, a limiting temperature of denaturation of all muscle proteins was determined. Temperatures necessary to heat up meat (ca.  $77^{\circ}\text{C}$ ) so as to get complete denaturation of all the meat proteins were simi-

lar. However, despite this fact, it was proved that the temperature of complete coagulation of myofibrillar proteins (without free actin that sporadically occurred in the samples tested) varied and was ca. 48°C as for saltwater fish, ca. 51°C as for freshwater fish, and ca. 56°C as for slaughter animal meat. The period of fish spawning produced no significant effect on the temperature range of individual protein fractions coagulation, but it depressed peaks of the sarcoplasmic protein fraction.

**Key words:** temperature, denaturation, meat, fish, slaughter animals ☒

MAREK ADAMCZAK, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI

## ENZYMATYCZNA SYNTEZA GALAKTOOLIGOSACHARYDÓW I LAKTULOZY W PERMEACIE PO ULTRAFILTRACJI SERWATKI

### Streszczenie

Przedstawiono wyniki badań dotyczące technologicznych możliwości sterowania procesem transgalaktozylacji laktozy, katalizowanym przez handlowe preparaty  $\beta$ -galaktozydazy, w permeacie po ultrafiltracji serwatki, w celu poprawy wydajności syntezy galaktooligosacharydów (GOS) i/lub laktulozy. Wykazano, że o wydajności procesu decyduje dobór preparatu  $\beta$ -galaktozydazy, stężenie substratu, a w syntezie laktulozy proporcja laktozy i fruktozy dodawanej do mieszaniny reakcyjnej. Uzyskaną wydajność syntezy GOS, a przede wszystkim laktulozy w ilości 65 g/dm<sup>3</sup>, można uznać jako zadowalającą. Korzystną zawartość GOS, tj. 13,7 %, w sacharydach uzyskano po procesie prowadzonym w 10 % roztworze laktozy, w reakcji katalizowanej przez Ha-Lactase. Efektem przeprowadzonych badań jest propozycja technologii koncentratów GOS lub laktulozy (zagęszczonych lub suszonych) z wykorzystaniem (jako źródła laktozy) permeatu po ultrafiltracji mleka lub serwatki. Otrzymane koncentraty galaktooligosacharydów można stosować jako źródło prebiotyków do produkcji prozdrowotnej żywności, pasz lub preparatów farmaceutycznych. Zaproponowana technologia pozwala na bezodpadowe zagospodarowanie permeatów po UF mleka lub serwatki.

W dalszych pracach z tego zakresu planowane są doświadczenia mające na celu ocenę warunków ciągłej syntezy GOS i/lub laktulozy z użyciem immobilizowanych enzymów.

**Słowa kluczowe:**  $\beta$ -galaktozydaza, permeat serwatki, transgalaktozylacja, galaktooligosacharydy (GOS), laktuloza

### Wprowadzenie

Galaktooligosacharydy (GOS) są naturalnymi składnikami mleka, a także niektórych owoców i warzyw. GOS traktowano jako mało ważne składniki żywności, m.in. ze względu na niewielką słodkość, słabą rozpuszczalność w wodzie i małą strawność. Obecnie GOS zalicza się do prebiotyków, tj. składników żywności nieulegających trawieniu w górnych odcinkach przewodu pokarmowego i będących składnikiem odżywczym dla pożytecznych bakterii bytujących w okrężnicy, głównie z rodzaju *Bifido-*

*bacterium* i *Lactobacillus*. Zaleca się spożywanie GOS w dawce około 3 g dziennie, a produkty zawierające GOS zalicza się do żywności prozdrowotnej. Znajdują zastosowanie jako zamienniki sacharozy m.in. do produkcji gumy do żucia oraz żywności funkcjonalnej dla diabetyków i osób starszych. Preparaty galaktooligosacharydów stosowane są w produkcji odżywek dla dzieci, jogurtów, deserów, mleka lub maślanki w proszku [6].

GOS stosowane są także do produkcji farmaceutyków wspomagających przyswajanie wapnia, środków przeciwrócnicznych, leków przeciw zaparciom [21, 23, 25].

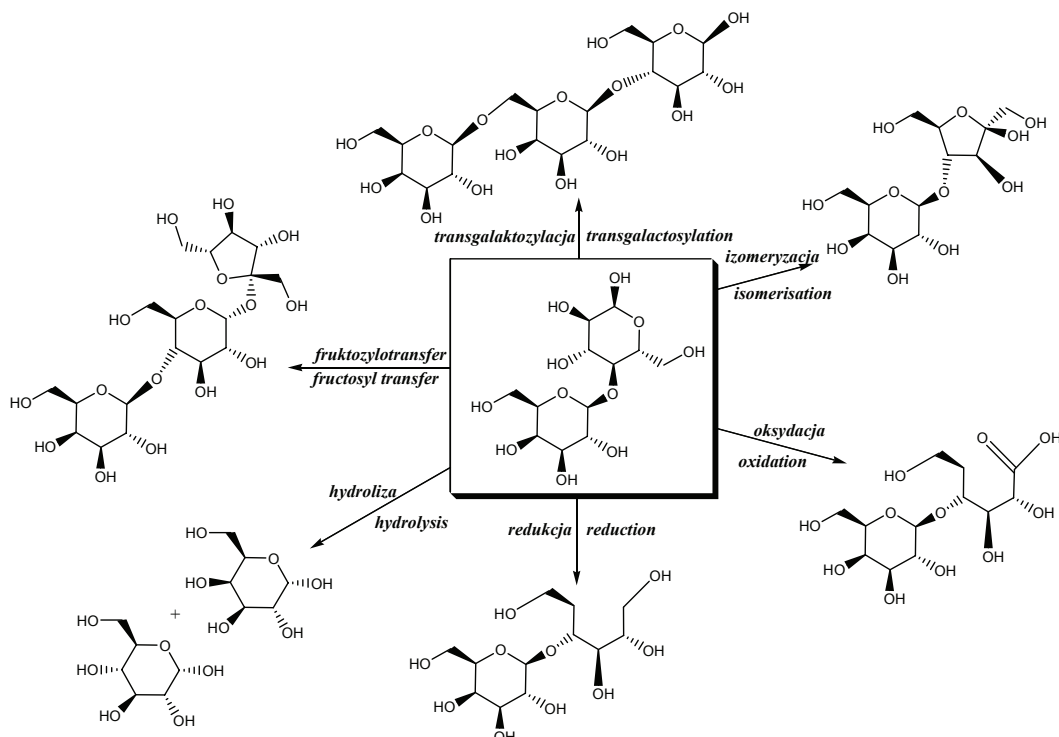
Reakcje syntezy galaktooligosacharydów katalizują glikozydazy (EC 3.2.1.X), a najpowszechniej stosowane są  $\beta$ -galaktozydazy (EC 3.2.1.23). Enzymy te katalizują hydrolizę wiązań *O*-glikozydowych w  $\beta$ -D-galaktozydach, np. wiązania  $\beta$ -1,4-glikozydowego w laktozie, ale również reakcję transgalaktozylacji. W zależności od warunków reakcji enzymatycznej reszta cukrowa tworząca glikonową część laktozy może być przenoszona na różne akceptory. Jeśli akceptorem donorów będzie woda to prowadzona jest hydroliza sacharydów, a jeśli będzie nim inny cukier, np. D-galaktoza to powstają GOS [29].

Laktoza, jeden z głównych składników mleka, jest ważnym substratem reakcji chemicznych, których celem jest zwiększenie jej wartości użytkowej i funkcjonalnej [8] (rys. 1). Laktoza może być substratem w reakcjach hydrolizy, fruktozylotransferu, transgalaktozylacji, izomeryzacji, oksydacji i redukcji, w wyniku których powstają odpowiednio: glukoza i galaktoza, laktosacharoza, galaktooligosacharydy, laktuloza, kwas laktobionowy i laktikol.

Zastosowanie powszechnie znanej reakcji hydrolizy laktozy w przemyśle mleczarskim może wspomagać przetwórstwo mleka i produktów ubocznych w celu: usunięcia laktozy z mleka, kontroli krystalizacji laktozy w koncentratkach mleczarskich, pełnego wykorzystania serwatki i jej permeatu, produkcji karmy dla zwierząt, syntezy oligosacharydów i egzopolisacharydów, intensyfikacji syntezy kultur starterowych, poprawy i zwiększenia syntezy związków smakowo-zapachowych, otrzymania nowych, modyfikowanych produktów, np. serów serwatkowych, serów o nowych cechach smakowo-zapachowych, produktów do smarowania pieczywa.

Obeenie duże zainteresowanie towarzyszy zastosowaniu laktozy jako substratu w reakcjach enzymatycznej syntezy prebiotycznych galaktooligosacharydów [26]. Kataliza reakcji transgalaktozylacji prowadzona jest z udziałem enzymów o różnym stopniu oczyszczenia oraz katalizatorów niewydzielonych ze struktur komórkowych (całokomórkowe, ang. whole-cell system) [10, 17, 20, 27].

W technologicznym sterowaniu reakcją syntezy galaktooligosacharydów ważny jest dobór parametrów decydujących o wydajności procesu, np. stężenie substratu, czas, temperatura i kwasowość środowiska reakcji, właściwości, pochodzenie  $\beta$ -galaktozydazy, a nawet źródło laktozy.



Rys. 1. Możliwości otrzymania wartościowych produktów w wyniku modyfikacji laktozy.

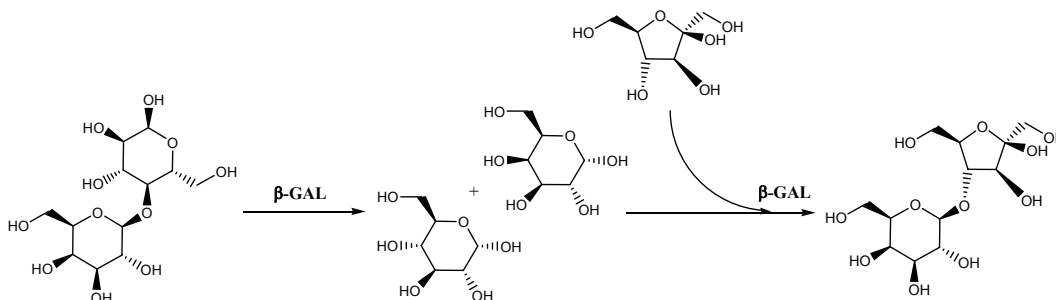
Fig. 1. Possibilities of producing valuable products by modifying lactose.

Do sacharydów o właściwościach prebiotycznych zalicza się także laktulozę, tj. 4-*O*- $\beta$ -D-galaktopiranozyl-D-fruktozę, która jest produktem izomeryzacji laktozy [1]. Laktuloza dobrze rozpuszcza się w wodzie i jest 1,5-rza słodsza niż laktoza, a jej słodkość wobec sacharozy wynosi 0,6. Cukier ten występuje w formie 5 izomerów, z których dominująca jest  $\beta$ -D-fruktofuranaza. Z dostępnych informacji wynika, że spożywanie określonych dawek laktulozy sprzyja poprawie przyswajalności wapnia, hamuje tzw. wtórne tworzenie kwasów żółciowych, stymuluje układ odpornościowy organizmów dotkniętych marskością wątroby, stosowana jest w leczeniu chronicznej encefalopatii wątrobowej i zaparć [2, 11, 24, 26].

Laktuloza powstaje w niewielkich ilościach także podczas ogrzewania mleka i jest wskaźnikiem zakresu jego obróbki termicznej [7]. Powszechnie dostępne preparaty laktulozy są otrzymywane po chemicznej izomeryzacji laktozy w środowisku alkalicznym, z dodatkiem kwasu borowego, który korzystnie przesuną równowagę reakcji w kierunku syntezy laktulozy i przeciwdziała reakcjom ubocznym. Charakteryzują się one słodkim smakiem, ale z wyczuwalnym obcym posmakiem i zapachem, nie zawsze

tolerowanym przez konsumentów. W poszukiwaniu alternatywnych metod izomeryzacji laktozy zwraca się uwagę na zastosowanie w tym celu preparatów  $\beta$ -galaktozydazy.

Otrzymywanie oligosacharydów z udziałem glikozydaz, w tym  $\beta$ -D-galaktozydazy jest możliwe dzięki termodynamicznie kontrolowanym reakcjom syntezy, tj. odwróconej hydrolizie, bądź dzięki kinetycznie kontrolowanym reakcjom transferu, tzw. transgalaktozylacji (rys. 2). W środowisku wodnym reakcja transgalaktozylacji konkuruje z reakcją hydrolizy [14]. Często reakcja prowadzona jest w układach heterogennych preferujących transgalaktozylację, np. w środowisku dwufazowym [3]. Problemem jest stabilność  $\beta$ -galaktozydazy w reakcji transgalaktozylacji w środowisku o subkrytycznie małym współczynniku aktywności wody ( $a_w$ ). Synteza w środowisku o małej wartości  $a_w$  nie jest zagadnieniem nowym, jednak najbardziej preferowane do tego typu zastosowań lipazy są aktywne w środowisku o wartości  $a_w=4 \times 10^{-3}$ , a  $\beta$ -galaktozydaza z migdałów wymaga do swojej aktywności środowiska o wartości  $a_w$  od 0,4 do 0,8 [30]. W celu zapewnienia korzystnej aktywności  $\beta$ -galaktozydazy konieczne jest zastosowanie metod pozwalających zwiększyć ich stabilność w środowiskach o małej wartości współczynnika  $a_w$ , np. immobilizacji enzymu [18, 22].



Rys. 2. Reakcja enzymatycznej syntezy laktulozy w wyniku transgalaktozylacji ( $\beta$ -GAL –  $\beta$ -galaktozydaza).

Fig. 2. Enzymatic reaction of lactulose synthesis resulting from the transgalactosylation catalyzed by  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -GAL –  $\beta$ -galactosidase).

Intensyfikacji badań w tym zakresie sprzyja wzrastające zainteresowanie laktulozą stosowaną jako składnik bifidogenny (prebiotyczny) dodawany do żywności lub farmaceutyków, choć jej właściwości prebiotyczne są mniejsze niż frukto- lub galaktooligosacharydów [26]. O opłacalności metody otrzymywania laktulozy decyduje także cena substratu. Można w tym celu zastosować koncentraty serwatki lub permeatu po jej ultrafiltracji.

W niniejszym opracowaniu przedstawiono wyniki badań, których celem było ustalenie warunków syntezy GOS i/lub laktulozy w roztworach permeatu po ultrafiltracji serwatki z użyciem handlowych preparatów  $\beta$ -galaktozydazy. Podczas ustalania parametrów technologicznych zwrócono uwagę na zależność wydajności syntezy GOS

i/lub laktulozy od: rodzaju stosowanego preparatu  $\beta$ -galaktozydazy, stężenia laktozy i fruktozy w środowisku reakcji, a także czasu procesu.

### Materialy i metody badań

W doświadczeniach stosowano następujące preparaty  $\beta$ -D-galaktozydazy: Maxi-lact 2000 z *Kluyveromyces lactis* (DSM, Warszawa, Polska), Lactozym 2000L z *Kluyveromyces fragilis* (Novozymes, Polska), Ha-Lactase z *Aspergillus oryzae* (Chr. Hansen, Chorwacja), o aktywności enzymatycznej odpowiednio: 500, 780, 600 GAU. Aktywność preparatów enzymatycznych oznaczano z użyciem, jako substratu, roztworu *O*-nitrofenylo- $\beta$ -D-galaktopyranozydu (ONPG). Jednostkę aktywności  $\beta$ -galaktozydazy (GAU) definiowano jako dawkę enzymu, która w warunkach oznaczenia ( $T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 6,5$ ,  $t = 10\text{ min}$ ) uwalnia  $1\text{ }\mu\text{mol}$  *O*-nitrofenolu w ciągu 1 min [13]. W badaniach stosowano suszony permeat po ultrafiltracji serwatki, produkowany przez Zakład Mleczarski Ostrowia (Ostrów Mazowiecki), o zawartości suchej masy 97 %, w tym 75 % laktozy.

Reakcje hydrolizy laktozy z równoczesną transgalaktozylacją były prowadzone w roztworach wodnych permeatu po ultrafiltracji serwatki zawierających: 10, 20 lub 30 % laktozy, w temperaturze  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Syntezę laktulozy prowadzono w roztworze permeatu o zawartości laktozy 20 % ( $\text{pH} = 6,5$ ), wzbogacanym dodatkiem 5, 10 lub 15 % fruktozy.

Reakcje katalizowaną przez preparaty  $\beta$ -galaktozydazy dodawane w dawce odpowiadającej 40 GAU na 1 g laktozy prowadzono w łaźni wodnej o temp.  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  przez 1 godzinę. Przebieg reakcji kontrolowano pobierając co 5 min próbki, które w celu inaktywacji enzymu ogrzewano w temp.  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  przez 10 min, odwirowywano ( $2000\times\text{g}$ , 10 min,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), filtrowano przez filtr o porowatości  $0,45\text{ }\mu\text{m}$  i poddawano analizie chromatograficznej.

Oznaczenie chromatograficzne składu sacharydów prowadzono metodą HPLC, z zastosowaniem systemu 1100 (Agilent). Fazą ruchomą była mieszanina: acetonitryl : woda dejonizowana, 75 : 25 (v:v) ( $1\text{ cm}^3/\text{min}$ ). Stosowano kolumnę Luna  $\text{NH}_2$  (Phenomenex; 250 mm, 4,6 mm,  $5\text{ }\mu\text{m}$ ,  $100\text{ \AA}$ ), termostatowaną w  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  oraz detektor laserowy światła rozproszonego, PL-ELS 1000 (Polymer Laboratories, UK). Temperatura odparowania i rozpylacza wynosiła odpowiednio: 90 i  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a natężenie przepływu azotu 1,5 SLPM (standardowe litry/ min). Próbki o objętości  $1\text{ }\mu\text{l}$  наносzono do kolumny z użyciem automatycznego podajnika próbek G1313A (Agilent). Analizę chromatogramów prowadzono za pomocą oprogramowania Chem Station (Hewlett Packard).

Stosowano wzorce: fruktozy, laktozy, glukozy (POCh S.A. Gliwice), galaktozy (Merck, Polska), laktulozy, 6-*O*- $\beta$ -D-galaktopyranozyl-D-galaktopyranozydu (GOS-2),

i 4-*O*-(3-*O*- $\alpha$ -D-galaktopyranozyl- $\alpha$ -D-galaktopyranozyl)-D-galaktopyranozydu (GOS-3) (Sigma, Poznań).

Zawartość poszczególnych sacharydów (zawartość glukozy i galaktozy oznaczano łącznie) w próbkach wyrażano procentowo w stosunku do całkowitej ich zawartości we frakcji sacharydów.

Na podstawie uzyskanych wyników obliczano także: stopień hydrolizy laktozy (DLH) (1), wydajność uwalniania monosacharydów (*MY*) (2) oraz wydajność syntezy laktulozy wyrażaną w procentach początkowej zawartości laktozy w mieszaninie reakcyjnej.

$$DLH = \left(1 - \frac{RL}{IL}\right) \times 100\% \quad (1)$$

$$MY = \frac{GLU + GAL}{IL} \times 100\% \quad (2)$$

gdzie:

*RL* – końcowe stężenie laktozy [g/dm<sup>3</sup>],

*IL* – początkowe stężenie laktozy [g/dm<sup>3</sup>],

*GLU*, *GAL* – stężenie glukozy i galaktozy [g/dm<sup>3</sup>].

Wyniki wszystkich doświadczeń przedstawiono jako średnie z 3 powtórzeń. Wartość odchylenia standardowego uzyskanych wyników nie przekraczała 3 %.

## Wyniki i dyskusja

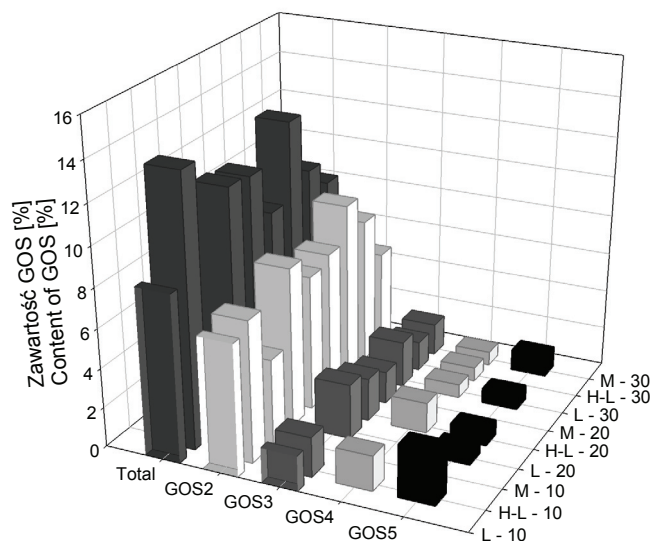
Korzystną aktywność badanych preparatów  $\beta$ -galaktozydazy uzyskano w środowisku o pH 6,5 i temp. 40 °C. Po zwiększeniu temp. powyżej 40 °C następowało gwałtowne zmniejszenie aktywności wszystkich badanych enzymów. Stopień hydrolizy laktozy, w roztworze permeatu po ultrafiltracji (UF) serwatki (10 % laktozy), przeprowadzonej w temp. 40 °C przez 60 min wynosił: 61, 64 i 77 %, odpowiednio w reakcji katalizowanej przez Lactozym, Ha-Lactase i Maxilact. W 30 % roztworach laktozy z permeatu jej stopień hydrolizy wynosił odpowiednio: 86, 88 i 91 %.

W kolejnym etapie badań oceniano właściwości transgalaktozylacyjne stosowanych preparatów  $\beta$ -galaktozydazy. Wydajność syntezy GOS oceniano w zależności od początkowego stężenia laktozy w roztworach permeatu po UF serwatki (rys. 3). Największe zawartości GOS, w danych warunkach procesu i z danym rodzajem enzymu, uzyskano najczęściej po 20 min jego prowadzenia.

Wykazano także, że wydajność syntezy GOS oraz ich skład zależy od stężenia laktozy, czasu reakcji oraz właściwości stosowanego preparatu enzymatycznego. W procesie prowadzonym z użyciem preparatu Maxilact stwierdzono, że początkowe stężenie laktozy w roztworze permeatu decydowało o składzie chemicznym syntety-



zowanych galaktooligosacharydów. W roztworze permeatu z 10 % zawartością laktozy syntetyzowane były wyłącznie GOS-2, w mieszaninie reakcyjnej o początkowej zawartości laktozy 20 % od 20. min syntetyzowane były GOS-3, a w reakcji transgalaktozyzacji w 30 % roztworze laktozy stwierdzono również obecność GOS-4 (rys. 3). Podobne zależności wykazali Cheng i wsp. [5], którzy w reakcji laktozy z preparatem Maxilact 2000 otrzymali galaktooligosacharydy o składzie GOS-2 : GOS-3, w proporcji ilościowej 2 : 1. Z badań Boon i wsp. [4] wynika, że preparaty  $\beta$ -galaktozydazy z *Bacillus cirulans*, *Aspergillus oryzae*, *Kluyveromyces lactis* syntetyzują różne ilości i rodzaje GOS, np. enzymy z *Kluyveromyces* spp. syntetyzują głównie trioligosacharydy.



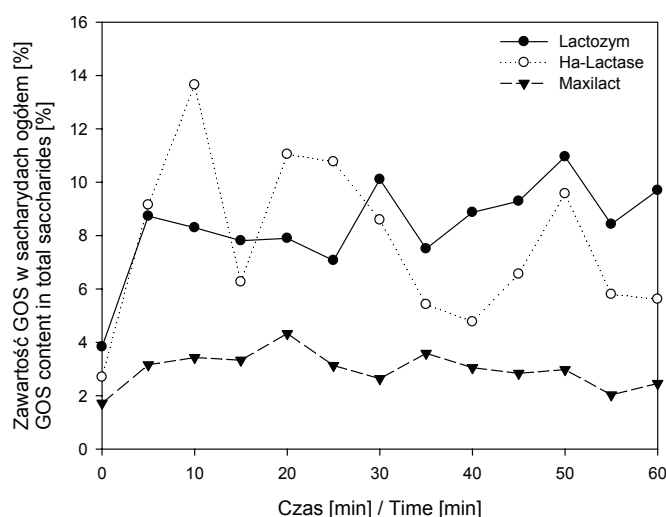
Rys. 3. Wydajność syntezy GOS w zależności od: początkowego stężenia laktozy w mieszaninie reakcyjnej oraz rodzaju enzymu (L - Lactozym, H-L - Ha-Lactase, M - Maxilact; 10, 20, 30 % - początkowe stężenie laktozy w mieszaninie reakcyjnej).

Fig. 3. GOS synthesis yield depending on the initial concentration of lactose in the reaction mixture and on the type of enzyme (L - Lactozym, H-L - Ha-Lactase, M - Maxilact; 10, 20, 30 % - initial concentration of lactose in the reaction mixture).

Najkorzystniejszą zawartość GOS (% udziału w sacharydach ogółem) uzyskano w procesie prowadzonym w roztworze permeatu o 10 % zawartości laktozy z zastosowaniem preparatu Ha-Lactase - 13,7 % (rys. 3 i 4). Wyjątkowo w reakcji z użyciem tego preparatu enzymatycznego korzystną zawartość GOS uzyskano po 10 min reakcji, gdy stopień hydrolizy laktozy wynosił 43 %, a wydajność syntezy monosacharydów wynosiła 50 %. Po zastosowaniu immobilizowanej  $\beta$ -galaktozydazy z *Penicillium*

*expansum* F3 w 38 % roztworze laktozy dopiero po 60 h reakcji uzyskano 28,7 % GOS [16].

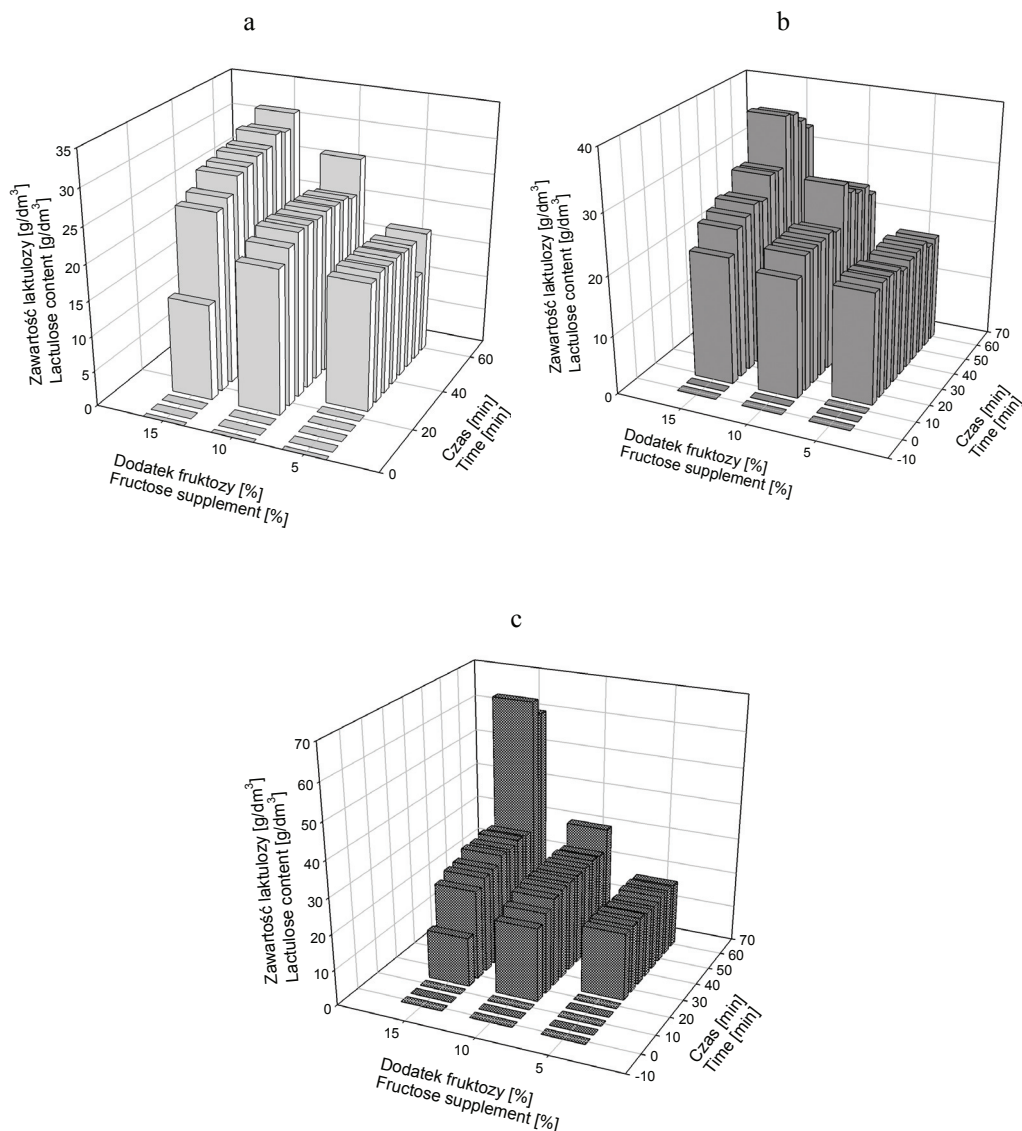
Zheng i wsp. [31] wykazali natomiast, że wydajność syntezy GOS katalizowana przez  $\beta$ -galaktozydazę z *Aspergillus candidus* CGMCC3.2919 jest tym większa, im wyższe jest początkowe stężenie laktozy w mieszaninie reakcyjnej. Zastosowanie biomasy *Bifidocaterium bifidum* NCIMB 41171, jako źródła  $\beta$ -galaktozydazy, umożliwiło uzyskanie 20 % GOS w ogólnej zawartości sacharydów, gdy stężenie początkowe laktozy wynosiło aż 50 % [28]. Warunki tego procesu zostały następnie udoskonalone, co umożliwiło zwiększenie zawartości GOS do 36 – 43 % [9].



Rys. 4. Kinetyka syntezy GOS w reakcji katalizowanej przez enzymy w 10 % roztworze laktozy z permeatu po ultrafiltracji serwatki.

Fig. 4. Kinetics of GOS synthesis in the reaction catalyzed by enzymes in a 10 % solution of lactose prepared from permeate upon the ultrafiltration of whey.

Z uwagi na ograniczoną rozpuszczalność sacharydów w temp. 40 °C skład mieszaniny reakcyjnej podczas syntezy laktulozy był następujący: 20 % laktozy i od 5 do 15 % fruktozy. W badanych preparatach enzymatycznych nie stwierdzono aktywności izomerazy glukozowej (EC 5.3.1.5), dlatego do syntezy laktulozy konieczny był dodatek fruktozy. Laktuloza może być syntetyzowana przez  $\beta$ -galaktozydazę w roztworze zawierającym laktozę i fruktozę lub w reakcji z użyciem galaktozy i fruktozy. Przeprowadzono próby syntezy laktulozy w 15 % roztworze fruktozy z dodatkiem 5, 10 lub 15 % galaktozy w temp. 40 °C i pH 6,5. Analiza chromatograficzna próbek pobieranych co 10 min wykazała, że  $\beta$ -galaktozydaza z *Kluyveromyces lactis* nie syntetyzuje laktulozy bezpośrednio z produktów jej hydrolizy.



Rys. 5. Wpływ wielkości dodatku fruktozy do roztworu permeatu serwatki na syntezę laktulozy w reakcji katalizowanej przez preparaty enzymatyczne: a) Maxilact, b) Lactozym, c) Ha-Lactase.

Fig. 5. Effect of the amount of fructose added to whey permeate solution on the synthesis of lactulose in the reaction catalyzed by: a) Maxilact, b) Lactozym, c) Ha-Lactase.

Wykazano jednocześnie, że nie ma zależności pomiędzy aktywnością hydrolytyczną analizowanych preparatów  $\beta$ -galaktozydazy wobec laktulozy i aktywnością transgalaktozylacyjną, której wynikiem może być np. synteza laktulozy. Wysoką aktywność hydrolytyczną w stosunku do laktulozy wykazywał preparat Maxilact, nato-

miast korzystne jej stężenie uzyskano w reakcji katalizowanej przez preparat  $\beta$ -galaktozydazy, Ha-Lactase (stężenie początkowe laktozy i fruktozy, odpowiednio 20 i 15 %).

Stopień hydrolizy laktozy w reakcjach syntezy laktulozy wynosił od 80 do ponad 99 %. Korzystną zawartość laktulozy, po 40 - 60 min reakcji, uzyskano w roztworze permeatu po ultrafiltracji serwatki, z największym, 15 % dodatkiem fruktozy, w reakcji katalizowanej przez Maxilact – 31,9 g/dm<sup>3</sup> (rys. 5a); Lactozym – 37,9 g/dm<sup>3</sup> (rys. 5b); Ha-Lactase – 65,5 g/dm<sup>3</sup> (rys. 5c). Podobne stężenie laktulozy (50 g/l) uzyskano po 6 h reakcji katalizowanej przez  $\beta$ -galaktozydazę z *Sulfolobus solfataricus* [12].

W skład mieszaniny sacharydów po reakcji syntezy laktulozy wchodziły galakto-oligosacharydy (GOS) (~11 %), allolaktoza (~7 %), glukoza, galaktoza, fruktoza i co ważne tylko śladowe ilości laktozy. Wymagane jest jednak przeprowadzenie analizy spektrometrycznej, NMR, w celu potwierdzenia obecności allolaktozy w mieszaninie reakcyjnej. Dodatek fruktozy nie wpływał znacząco na zawartość i stopień polimeryzacji GOS otrzymywanych w wyniku reakcji transgalaktozylacji. Podobnie, jak po reakcji w roztworze laktozy z permeatu serwatki, głównym produktem był galaktooligosacharyd o stopniu polimeryzacji wynoszącym 2 (GOS-2).

Niewiele jest dostępnych informacji na temat enzymatycznej syntezy laktulozy, np. Mayer i wsp. [19] wskazali, że dodatek fruktozy w dawce 0,1–1,5 mol/l zwiększa aktywność badanego enzymu w kierunku syntezy laktulozy, a strukturę chemiczną produktu potwierdzono w badaniu spektroskopii <sup>13</sup>C NMR. Zastosowanie permeabilizowanych komórek *Kluyveromyces lactis* umożliwiło uzyskanie około 20 g/dm<sup>3</sup> laktulozy po 3 h reakcji (40 % laktoza, 20 % fruktoza, temp. 60 °C), a współczynnik produktywności wynosił 6,8 g/l × h [15].

## Wnioski

1. Wyniki przeprowadzonych badań potwierdzają technologiczne możliwości sterowania enzymatyczną transgalaktozylacją laktozy w roztworach permeatu po ultrafiltracji serwatki w celu poprawy wydajności reakcji syntezy GOS i laktulozy.
2. Wykazano, że o wydajności procesu decyduje dobór preparatu  $\beta$ -galaktozydazy, stężenie laktozy, proporcja laktozy i fruktozy w mieszaninie reakcyjnej.
3. Efektem przeprowadzonych badań jest propozycja technologiczna produkcji koncentratów GOS i laktulozy z wykorzystaniem jako źródła laktozy permeatu po ultrafiltracji mleka lub serwatki. Otrzymane koncentraty GOS i laktulozy można stosować jako dodatki prebiotyczne w produkcji prozdrowotnej żywności (wzbogacania produktów mleczarskich, owocowo-warzywnych, cukierniczych i piekarskich), pasz lub preparatów farmaceutycznych.

### Literatura

- [1] Aider M., de Halleux D.: Isomerization of lactose and lactulose production: review. Trends Food Sci. Technol., 2007, **18**, 356-364.
- [2] Als-Nielsen B., Gluud L.L., Gluud C.: Non-absorbable disaccharides for hepatic encephalopathy: Systematic review of randomized trials. Br. Med. J., 2004, **328**, 1046-1050.
- [3] Bednarski W., Kulikowska A.: Influence of two-phase system composition on biocatalytic properties of  $\beta$ -galactosidase preparations. Chem. Papers, 2007, **61**, 364 - 369.
- [4] Boon M.A., Janssen A.E.M., van t Riet K.: Effect of temperature and enzyme origin on the enzymatic synthesis of oligosaccharides. Enzyme Microb. Technol., 2000, **26**, 271-281.
- [5] Cheng C.-C., Yu M.-C., Cheng T.-C., Sheu D.-C., Duan K.-J., Tai W.-L.: Production of high-content galacto-oligosaccharide by enzyme catalysis and fermentation with *Kluyveromyces marxianus*. Biotechnol. Lett., 2006, **28**, 793-797.
- [6] Curda L., Rudolfová J., Stetina J., Dryák B.: Dried buttermilk containing galactooligosaccharides - process layout and its verification. J. Food Eng., 2006, **77**, 468-471.
- [7] Elliott A.J., Datta N., Amenu B., Deeth H.C.: Heat-induced and other chemical changes in commercial UHT milks. J. Dairy Res., 2005, **72**, 442.
- [8] Gänzle M.G., Haase G., Jelen P.: Lactose: Crystallization, hydrolysis and value-added derivatives. Int. Dairy J., 2008, **18**, 685-694.
- [9] Goulas A., Tzortzis G., Gibson G.R.: Development of a process for the production and purification of  $\alpha$ - and  $\beta$ -galactooligosaccharides from *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171. Int. Dairy J., 2007, **17**, 648-656.
- [10] Hsu C.A., Lee S.L., Chou C.C.: Enzymatic production of galactooligosaccharides by  $\beta$ -galactosidase from *Bifidobacterium longum* BCRC 15708. J. Agric. Food Chem., 2007, **55**, 2225-2230.
- [11] Karczmarewicz E., Skorupa E., Lorenc R.S.: Wpływ probiotyków i prebiotyków na gospodarkę wapniowo-fosforanową i metabolizm kostny. Pediatria Współczesna. Gastroenterologia, hepatologia i żywienie dziecka, 2002, **4**, 63-69.
- [12] Kim Y.-S., Park C.-S., Oh D.-K.: Lactulose production from lactose and fructose by a thermostable  $\beta$ -galactosidase from *Sulfolobus solfataricus*. Enzyme Microb. Technol., 2006, **39**, 903-908.
- [13] Kowalewska-Piontas J., Bednarski W.: The attempts to intensity synthesis of galactooligosaccharides in the process of enzymatic lactose hydrolysis. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2001, **51**, 43-46.
- [14] Kowalewska-Piontas J., Demczuk A., Bednarski W., Amarowicz R.: A comparative study on galactooligosaccharide synthesis by selected  $\beta$ -galactosidase preparations. Gent, Belgium, 2003,
- [15] Lee Y.J., Kim C.S., Oh D.K.: Lactulose production by  $\beta$ -galactosidase in permeabilized cells of *Kluyveromyces lactis*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2004, **64**, 787-793.
- [16] Li Z.-Y., Xiao M., Lu L., Li Y.: Production of non-monosaccharide and high-purity galactooligosaccharides by immobilized enzyme catalysis and fermentation with immobilized yeast cells. Process Biochem., 2008, **43**, 896-899.
- [17] Maischberger T., Nguyen T.-H., Sukyai P., Kittl R., Riva S., Ludwig R., Haltrich D.: Production of lactose-free galacto-oligosaccharide mixtures: comparison of two cellobiose dehydrogenases for the selective oxidation of lactose to lactobionic acid. Carbohydr. Res., 2008, **343**, 2140-2147.
- [18] Makowski K., Białkowska A., Szczesna-Antczak M., Kalinowska H., Kur J., Cieslinski H., Turkiewicz M.: Immobilized preparation of cold-adapted and halotolerant Antarctic  $\beta$ -galactosidase as a highly stable catalyst in lactose hydrolysis. FEMS Microbiol. Ecol., 2007, **59**, 535-542.
- [19] Mayer J., Conrad J., Klaiber I., Lutz-Wahl S., Beifuss U., Fischer L.: Enzymatic production and complete nuclear magnetic resonance assignment of the sugar lactulose. J. Agric. Food Chem., 2004, **52**, 6983-6990.

- [20] Mladenoska I., Winkelhausen E., Kuzmanova S.: Transgalactosylation/hydrolysis ratios of various  $\beta$ -galactosidases catalyzing alkyl- $\beta$ -galactoside synthesis in single-phased alcohol media. *Food Technol. Biotechnol.*, 2008, **46**, 311-316.
- [21] Mussatto S.I., Mancilha I.M.: Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydr. Polym.*, 2007, **68**, 587-597.
- [22] Pessela B.C.C., Dellamora-Ortiz G., Betancor L., Fuentes M., Guisan J.M., Fernandez-Lafuente R.: Modulation of the catalytic properties of multimeric  $\beta$ -galactosidase from *E. coli* by using different immobilization protocols. *Enzyme Microb. Technol.*, 2007, **40**, 310-315.
- [23] Rousseau V., Lepargneur J.P., Roques C., Remaud-Simeon M., Paul F.: Prebiotic effects of oligosaccharides on selected vaginal lactobacilli and pathogenic microorganisms. *Anaerobe*, 2005, **11**, 145-153.
- [24] Ryżko J. Zastosowanie probiotyków i prebiotyków w leczeniu neswoistych zapaleń jelit oraz zaburzeń czynnościowych jelita grubego. *Pediatrics Współczesna. Gastroenterologia, hepatologia i żywienie dziecka*, 2002, **4**, 55-60.
- [25] Sako T., Matsumoto K., Tanaka R.: Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. *Int. Dairy J.*, 1999, **9**, 69-80.
- [26] Schaafsma G. Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. *Int. Dairy J.*, 2008, **18**, 458-465.
- [27] Splechna B., Nguyen T., Steinbock M., Kulbe K.D., Lorenz W., Haltrich D.: Production of prebiotic galacto-oligosaccharides from lactose using  $\beta$ -galactosidases from *Lactobacillus reuteri*. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 4999-5006.
- [28] Tzortzis G., Goulas A.K., Gibson G.R.: Synthesis of prebiotic galactooligosaccharides using whole cells of a novel strain, *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2005, **68**, 412-416.
- [29] Withers S.G. Mechanisms of glycosyl transferases and hydrolases. *Carbohydr. Polym.*, 2001, **44**, 325-337.
- [30] Woudenberg-van Oosterom M., van Belle H.J.A., van Rantwijk F., Sheldon R.A.: Immobilised  $\beta$ -galactosidases and their use in galactoside synthesis. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 1998, **134**, 267-274.
- [31] Zheng P., Yu H., Sun Z., Ni Y., Zhang W., Fan Y., Xu Y.: Production of galacto-oligosaccharides by immobilized recombinant  $\beta$ -galactosidase from *Aspergillus candidus*. *Biotechnol. J.*, 2006, **1**, 1464-1470.


#### ENZYMATIC SYNTHESIS OF GALACTOOLIGOSACCHARIDES AND LACTULOSE IN WHEY-PERMEATE AFTER THE ULTRAFILTRATION OF WHEY

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

The results are presented of a research into technological possibilities of controlling the transgalactosylation process of lactose, catalyzed by the commercially available  $\beta$ -galactosidases, in a permeate obtained after the ultrafiltration of whey, in order to improve the efficiency of GOS and/or of lactulose synthesis. It was proved that the selected  $\beta$ -galactosidase and the substrate concentration decided on the efficiency of synthesis, and, in the case of the synthesis of lactulose, the ratio of lactose and fructose amounts as added to the reaction mixture. The efficiency of GOS synthesis and, first of all, of lactulose (65 % m/V in total saccharides) is found acceptable. A favourable content of GOS, i.e. 13.7 %, in saccharides was recorded after the process run in a solution of permeate with 10 % (m/V) of lactose using Ha-Lactase to catalyze the reaction. Based on the research conducted, a special technology of GOS and/or lactulose

synthesis is suggested with a permeate after the ultrafiltration of milk or whey applied (as a source of lactose). The obtained concentrates of GOS can be applied as a source of prebiotics in the production of health-promoting food, feedstuffs or pharmaceuticals. The postulated technology provides an opportunity for attractive, waste-free management of permeates after the ultrafiltration of milk or whey.

The subsequent investigations in this field will address experiments aiming at evaluating the conditions of continuous synthesis of GOS and/or lactulose with the use of immobilized enzymes.

**Key words:**  $\beta$ -galactosidase, whey-permeate, transgalactosylation, galactooligosaccharides (GOS), lactulose 

JACEK DOMAGAŁA, MONIKA WSZOŁEK

## WPLYW SPOSOBU ZAGĘSZCZANIA ORAZ RODZAJU SZCZEPIONKI NA TEKSTURĘ I PODATNOŚĆ NA SYNEREZĘ JOGURTU I BIOJOGURTÓW Z MLEKA KOZIEGO

### Streszczenie

Badano zmiany tekstury i podatność na synerezę jogurtu i biojogurtów produkowanych z mleka koziego niezagęszczonego, zagęszczonego techniką ultrafiltracji oraz z mleka zagęszczonego przez dodatek koziego mleka w proszku. Do produkcji jogurtu stosowano szczepionkę YC-180, a do produkcji biojogurtów szczepionki ABY-2 i ABT-1. Zagęszczanie mleka techniką ultrafiltracji, w porównaniu z zagęszczaniem poprzez dodatek mleka w proszku, pozwoliło uzyskać produkt o pożądanych cechach sensorycznych i dobrych parametrach tekstury, a zarazem mniejszej podatności na synerezę. Dodatek mleka koziego w proszku wpływał tylko nieznacznie na poprawę tekstury jogurtu i biojogurtów, powodując jednocześnie pogorszenie ich smaku i zapachu. Spośród badanych produktów najlepszymi cechami sensorycznymi oraz dobrą teksturą charakteryzował się jogurt z mleka zagęszczonego techniką ultrafiltracji uzyskany przy użyciu szczepionki YC-180.

**Słowa kluczowe:** jogurt i biojogurt z mleka koziego, rodzaj szczepionki, ultrafiltracja, tekstura, synerеза

### Wprowadzenie

Tekstura, obok smaku i zapachu, należy do najważniejszych wyróżników jakości mlecznych napojów fermentowanych, w tym także jogurtu [4, 12, 18, 23]. To właśnie wady tekstury jogurtu stanowią, obok wad smaku i zapachu, główną przyczynę mniejszej akceptacji konsumenckiej tej grupy produktów mleczarskich. Do najczęściej występujących wad tekstury należą: zbyt luźna konsystencja jogurtu produkowanego metodą termostatową oraz zbyt płynna konsystencja i mała lepkość jogurtu produkowanego metodą zbiornikową [1, 2, 13]. Jogurty z mleka koziego są szczególnie narażone na występowanie wad tekstury, ponieważ skrzep kwasowy z mleka koziego charakteryzuje się mniejszą zwięzłością i lepkością niż skrzep z mleka krowiego [20, 24]. Czynni-



kiem dodatkowym jest duża sezonowa zmienność składu mleka koziego, która sprzyja występowaniu wad tekstury szczególnie w środkowym okresie laktacji oraz utrudnia otrzymanie produktu o standardowych cechach jakościowych w ciągu całej laktacji [9]. Jedną z możliwości przeciwdziałania wystąpieniu tych wad w jogurcie jest wzbogacanie mleka przerobowego w składniki suchej masy. Można to robić przez odparowanie wody z mleka, dodatek mleka zagęszczonego, mleka w proszku albo innych produktów mleczarskich sproszkowanych, zagęszczanie mleka techniką ultrafiltracji lub odwróconej osmozy oraz przez dodatek stabilizatorów [22, 23]. Wybór sposobu wzbogacania mleka przeznaczonego na jogurt nie pozostaje bez wpływu na teksturę gotowego produktu i jego podatność na synerezę. Innym istotnym czynnikiem wpływającym na właściwości jakościowe mlecznych napojów fermentowanych jest odpowiedni dobór kultur startowych. Rodzaj szczepionki i jej skład mogą zmienić fizyczną charakterystykę gotowego produktu, wpływając na jego teksturę i wygląd. Niektóre bakterie mają zdolność produkowania zewnątrzkomórkowych polisacharydów, które mogą poprawiać stabilność fizyczną mlecznych napojów fermentowanych [6, 7, 10].

Celem niniejszej pracy było porównanie cech tekstury oraz podatności na synerezę jogurtu i biojogurtów z mleka koziego niezagęszczonego, zagęszczonego techniką ultrafiltracji oraz wzbogaconego przez dodatek koziego mleka w proszku.

### **Material i metody badań**

Material badawczy stanowiło mleko zbiorcze, pochodzące od 10 kóz rasy 'polska biała uszlachetniona' pobierane trzykrotnie w środkowym okresie laktacji (czerwiec - wrzesień). Do produkcji jogurtu przeznaczano mleko niezagęszczone, poddane 1,5-krotnemu (v/v) zagęszczeniu techniką ultrafiltracji oraz mleko z dodatkiem koziego mleka w proszku firmy Danmis (Polska). Mleko w proszku dodawano w takiej ilości, aby zawartość suchej masy w mleku przerobowym była zbliżona do zawartości suchej masy w mleku zagęszczonym techniką ultrafiltracji. Proces ultrafiltracji prowadzono w temp. 50 °C przy użyciu urządzenia CH2A z filtrem włókienkowym Hollow Fiber H1P30-20 o wielkości por  $30 \cdot 10^3$  Da firmy Amicon (Szwajcaria). Mleko przeznaczone do produkcji jogurtu (niezagęszczone i zagęszczone) pasteryzowano w temp. 85 °C przez 15 min, schładzano i zaszczipiano trzema różnymi kulturami startowymi: jogurtową YC-180 oraz biojogurtowymi ABY-2 i ABT-1 firmy Chr. Hansen (Dania), w ilości 2 % zakwasu roboczego. Temp. zaszczipiania i inkubacji szczepionki YC-180 wynosiła 44 °C, a szczepionek ABY-2 i ABT-1 37 °C Inkubację prowadzono do uzyskania pH 4,8. Po uzyskaniu żądanego pH produkty schładzano do temp. 5 °C. W tej temperaturze produkty przetrzymywano do dnia następnego (około 14 h) i poddawano analizie. W mleku przeznaczonym na jogurt oznaczano zawartość: suchej masy, białka ogółem, azotowych związków niebiałkowych, tłuszczu, laktozy i związków mineral-

nych oraz gęstość, lepkość, kwasowość potencjalną i kwasowość czynną [3, 15]. Analiza jogurtu obejmowała:

- ocenę sensoryczną według skali 5-punktowej; ocenę prowadził odpowiednio przeszkolony zespół składający się z 5 osób, ocenie podlegały następujące wyróżniki jakości: smak, zapach, barwa, konsystencja i opływ serwatki (synereza);
- pomiar lepkości przy użyciu wiskozymetru rotacyjnego Rheotest 2 firmy VEB MLW Medingen (Niemcy) o kontrolowanej szybkości ścinania w układzie cylindrów współosiowych typu  $s/s_2$  i stosunku średnic cylindra wewnętrznego do zewnętrznego 0,94. Temp. pomiarów wynosiła 15 °C. Lepkość pozorną wyliczano przy szybkości ścinania  $9\text{ s}^{-1}$  (piąty punkt pomiarowy w zakresie Ia) na krzywej wznoszącej;
- analizę profilu tekstury – przy użyciu analizatora tekstury TA-XT2 firmy Stable Micro Systems (Wielka Brytania). Stosowano test penetrometryczny przy użyciu walca o średnicy 20 mm, szybkości penetracji 1 mm/s i głębokości penetracji 25 mm. Z każdej próbki otrzymywano wykresy analizy tekstury, które analizowano przy użyciu programu Texture Expert for Windows, v.1,05 firmy Stable Micro System, stosując algorytm Fracture TPA, pozwalający wyznaczyć twardość i adhezyjność skrzepu jogurtowego [16];
- oznaczenia synerezy metodą sączenia na siatce [11] oraz metodą wirówkową [14].

Doświadczenie przeprowadzono w trzech niezależnych powtórzeniach. Wyniki opracowano statystycznie. Przeprowadzono jedno- i dwuczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic między średnimi oszacowano testem Duncana.

## Wyniki i dyskusja

Podstawowy skład chemiczny i właściwości fizykochemiczne mleka przeznaczonego do produkcji jogurtu i biojogurtów (niezagęszczonego i zagęszczonego) przedstawiono w tab. 1. Wzbogacanie mleka zarówno przy użyciu techniki ultrafiltracji, jak i przez dodatek koziego mleka w proszku istotnie zmieniało zawartość głównych składników oraz podstawowe parametry fizykochemiczne mleka wzbogaconego w porównaniu ze składem i właściwościami mleka niewzbogaconego. Zgodnie z założeniem doświadczenia nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy między wynikami zawartości suchej masy mleka zagęszczonego techniką ultrafiltracji i mleka z dodatkiem proszku mlecznego. Sposób wzbogacania mleka istotnie wpływał natomiast na zawartość białka, tłuszczu, laktozy, związków azotowych niebiałkowych, a także gęstość i lepkość mleka przerobowego. Zagęszczanie mleka techniką ultrafiltracji spowodowało zwiększenie zawartości suchej masy, białka, tłuszczu i związków mineralnych, a zmniejszenie zawartości laktozy i związków azotowych niebiałkowych. Wzrosła także gęstość, lepkość i kwasowość potencjalna uzyskanego koncentratu w porównaniu z wartością tych parametrów w mleku niezagęszczonym. Mleko z dodatkiem

kozyego mleka w proszku charakteryzowało się większą zawartością wszystkich głównych składników, większą gęstością, lepkością i kwasowością potencjalną w porównaniu z mlekiem bez dodatku mleka w proszku.

Tabela 1

Skład i właściwości fizykochemiczne mleka koziego przeznaczonego na jogurt i biojogurty (wartości średnie z 3 serii  $\pm$  błąd standardowy średniej).

Composition and physicochemical properties of goat's milk used for preparing yoghurt and bio-yoghurt (mean values from 3 series  $\pm$  standard error of the mean).

Składnik lub cecha Component or feature	N	UF	P
Sucha masa / Total solids [%]	12,07 <sup>AB</sup> $\pm$ 0,15	14,67 <sup>A</sup> $\pm$ 0,15	14,59 <sup>B</sup> $\pm$ 0,10
Białko ogółem / Total protein [%]	3,07 <sup>AB</sup> $\pm$ 0,09	4,48 <sup>AC</sup> $\pm$ 0,05	3,75 <sup>BC</sup> $\pm$ 0,07
N niebiałkowy / NPN [%]	0,44 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,38 <sup>aA</sup> $\pm$ 0,01	0,47 <sup>A</sup> $\pm$ 0,01
Tłuszcz / Fat [%]	3,63 <sup>AB</sup> $\pm$ 0,16	5,27 <sup>AC</sup> $\pm$ 0,15	4,26 <sup>BC</sup> $\pm$ 0,07
Laktoza / Lactose [%]	4,54 <sup>AB</sup> $\pm$ 0,06	4,07 <sup>AC</sup> $\pm$ 0,06	5,50 <sup>BC</sup> $\pm$ 0,14
Popiół / Ash [%]	0,74 <sup>AB</sup> $\pm$ 0,00	0,92 <sup>A</sup> $\pm$ 0,03	0,92 <sup>B</sup> $\pm$ 0,01
Gęstość / Density [g/cm <sup>3</sup> ]	1,0297 <sup>A</sup> $\pm$ 0,0006	1,0321 <sup>a</sup> $\pm$ 0,0006	1,0353 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,0010
Lepkość / Viscosity [mPa·s]	1,99 <sup>AB</sup> $\pm$ 0,00	2,80 <sup>AC</sup> $\pm$ 0,08	2,23 <sup>BC</sup> $\pm$ 0,00
Kwasowość potencjalna / Acidity [ $^{\circ}$ SH]	6,6 <sup>AB</sup> $\pm$ 0,01	7,7 <sup>A</sup> $\pm$ 0,01	8,1 <sup>B</sup> $\pm$ 0,01
pH / pH	6,51 $\pm$ 0,06	6,50 $\pm$ 0,07	6,35 $\pm$ 0,03

Objaśnienia: / Explanatory notes:

N - mleko niezagęszczone / non-concentrated milk; UF - mleko zagęszczone techniką ultrafiltracji / milk concentrated using ultrafiltration method; P - mleko z dodatkiem koziego mleka w proszku / milk with addition of goat's milk powder;

<sup>A-C</sup> - różnice statystycznie wysoko istotne ( $p \leq 0,01$ ) oznaczone takimi samymi literami w rzędach / statistically highly significant differences ( $p \leq 0,01$ ) denoted by the same letter in the rows;

<sup>a</sup> - różnice statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ) oznaczone taką samą literą w rzędach / statistically significant differences ( $p \leq 0,05$ ) denoted by the same letter in the rows.

Podobne tendencje zmian zawartości składników mleka krowiego poddanego ultrafiltracji odnotowali Biliaderis i wsp. [5] oraz Domagała i Kupiec [8]. Niektórzy autorzy, prowadząc ultrafiltrację mleka koziego lub krowiego [2, 4], stwierdzili jednak wzrost zawartości laktozy po ultrafiltracji, podczas gdy w niniejszych badaniach ilość laktozy w koncentratkach UF była mniejsza niż w mleku przed ultrafiltracją. Zmiany

zawartości wszystkich składników suchej masy oraz kwasowości mleka koziego wzbogaconego proszkiem mlecznym uzyskane w niniejszej pracy były podobne do tych, jakie wykazali Abrahamsen i Holmen [2].

Średnie wyniki oceny sensorycznej, parametrów tekstury oraz analizy synerezy produkowanego jogurtu i biojogurtów przedstawiono w tab. 2. W tab. 3. i 4 przedstawiono wyniki analizy wariancji dotyczącej wpływu sposobu wzbogacania i rodzaju stosowanej szczepionki na badane wyróżniki jakości jogurtu i biojogurtów. Stwierdzono statystycznie wysoko istotny wpływ sposobu zwiększenia zawartości suchej masy w mleku na lepkość pozorną, twardość, adhezyjność, siłę ekstruzji i synerezę jogurtu i biojogurtów oraz statystycznie istotny wpływ na wyniki oceny sensorycznej. Rodzaj zastosowanej szczepionki istotnie zmieniał wyniki oceny sensorycznej jogurtu i biojogurtów oraz ich lepkość pozorną, adhezyjność, siłę ekstruzji oraz synerezę oznaczaną metodą sączenia. Stwierdzono także istotne interakcje obu badanych czynników w odniesieniu do lepkości pozornej, adhezyjności i synerezy jogurtu i biojogurtów.

Najwyższą notę w ocenie sensorycznej uzyskał jogurt z mleka zagęszczonego techniką ultrafiltracji produkowany przy użyciu szczepionki YC-180. Jogurt ten charakteryzował się większą lepkością, twardością i adhezyjnością niż jogurty produkowane przy użyciu szczepionek biojogurtowych. Niższa ocena sensoryczna jogurtu i biojogurtów produkowanych z mleka wzbogaconego kozim mlekiem w proszku wynikała nie tylko z mniejszej lepkości i twardości, a większej synerezy tych produktów w porównaniu z produktami z mleka ultrafiltrowanego, ale także z pojawiających się wyraźnie wad smaku i zapachu, określanych jako zapach i posmak kozi. Najmniej punktów w ocenie sensorycznej uzyskały biojogurty produkowane przy użyciu szczepionki ABT-1 zarówno z mleka niezagęszczonego, jak i zagęszczonego obiema metodami. Jogurty te charakteryzowały się istotnie mniejszą lepkością niż jogurt produkowany przy użyciu szczepionki YC-180, jak i biojogurt produkowany przy użyciu szczepionki ABY-2. Z kolei adhezyjność i siła ekstruzji biojogurtu produkowanego przy użyciu szczepionki ABT-1 były generalnie większe od wartości tych parametrów biojogurtu produkowanego przy użyciu szczepionki ABY-2. Nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian kwasowości i twardości skrzepu jogurtowego w zależności od rodzaju użytej szczepionki. Jogurt i biojogurty z mleka niezagęszczonego charakteryzowały się ogólnie większą podatnością na synerezę niż jogurt i biojogurty z mleka zagęszczonego obiema metodami, przy czym zagęszczanie mleka techniką ultrafiltracji w większym stopniu ograniczało synerezę niż wzbogacanie przez dodatek mleka koziego w proszku. Jedynie w przypadku synerezy oznaczanej metodą sączenia na siatce jogurt zarówno z mleka niezagęszczonego, jak i z mleka zagęszczonego charakteryzował się większą podatnością na synerezę niż biojogurty produkowane przy użyciu obu szczepionek.

Tabela 2

Właściwości jakościowe jogurtu i biojogurtów z mleka koziego niezagęszczonego i zagęszczonego różnymi metodami (wartości średnie z 3 serii  $\pm$  błąd standardowy średniej).  
 Quality properties of yoghurt and bio-yoghurts made of goat's milk that was non-concentrated and concentrated using various methods (mean values from 3 series  $\pm$  standard error of the mean).

Cecha / Feature	N			UF			P		
	YC-180	ABY-2	ABT-1	YC-180	ABY-2	ABT-1	YC-180	ABY-2	ABT-1
Ocena sensoryczna [pkt] Sensory evaluation [scores]	4,69 $\pm$ 0,05	4,30 $\pm$ 0,18	3,84 $\pm$ 0,26	4,89 $\pm$ 0,01	4,75 $\pm$ 0,05	4,25 $\pm$ 0,22	4,37 $\pm$ 0,07	4,37 $\pm$ 0,18	4,09 $\pm$ 0,20
pH / pH	4,23 $\pm$ 0,16	4,19 $\pm$ 0,13	4,21 $\pm$ 0,44	4,35 $\pm$ 0,10	4,30 $\pm$ 0,08	4,60 $\pm$ 0,12	4,15 $\pm$ 0,11	3,96 $\pm$ 0,09	4,30 $\pm$ 0,10
Lepkość pozorna Apparent viscosity [mPa·s]	2,73 $\pm$ 0,34	2,16 $\pm$ 0,11	1,02 $\pm$ 0,20	7,62 $\pm$ 0,88	4,26 $\pm$ 0,88	2,27 $\pm$ 0,41	4,43 $\pm$ 0,52	2,96 $\pm$ 0,60	1,48 $\pm$ 0,41
Twardość Hardness [G]	18,22 $\pm$ 0,76	15,86 $\pm$ 0,66	15,20 $\pm$ 0,67	33,93 $\pm$ 6,12	25,39 $\pm$ 4,98	21,91 $\pm$ 4,02	20,54 $\pm$ 0,81	20,60 $\pm$ 1,86	17,12 $\pm$ 1,63
Adhezyjność Adhesiveness [[G·s]]	21,34 $\pm$ 1,17	13,80 $\pm$ 3,26	16,81 $\pm$ 1,22	59,26 $\pm$ 2,27	33,35 $\pm$ 1,79	49,32 $\pm$ 3,03	29,43 $\pm$ 1,88	25,13 $\pm$ 6,85	21,28 $\pm$ 4,14
Siła ekstruzji Extrusion force [G]	121,90 $\pm$ 15,20	57,81 $\pm$ 6,56	71,96 $\pm$ 6,13	255,86 $\pm$ 42,03	166,93 $\pm$ 8,82	171,96 $\pm$ 35,50	167,09 $\pm$ 21,00	65,87 $\pm$ 5,96	129,12 $\pm$ 9,28
Syneresa I* Syneresis I [%]	33 $\pm$ 2	14 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1	14 $\pm$ 3	10 $\pm$ 2	10 $\pm$ 1	34 $\pm$ 2	14 $\pm$ 3	22 $\pm$ 3
Syneresa II** Syneresis II [%]	53 $\pm$ 6	56 $\pm$ 1	55 $\pm$ 1	14 $\pm$ 3	25 $\pm$ 2	23 $\pm$ 1	29 $\pm$ 1	30 $\pm$ 1	33 $\pm$ 3

Objaśnienia: / Explanatory notes:

N - mleko niezagęszczone / non-concentrated milk; UF - mleko zagęszczone techniką ultrafiltracji / milk concentrated using ultrafiltration method;  
 P - mleko z dodatkiem koziego mleka w proszku / milk with addition of goat's milk powder; \* - oznaczona metodą sączenia / determined using a drainage method; \*\* - oznaczona metodą wirówkową / determined using a centrifugal method.

Tabela 3

Wartości średnich kwadratów odchyleń z analizy wariancji dotyczącej wpływu sposobu zagęszczania mleka i rodzaju szczepionki na teksturę jogurtu z mleka koziego  
 Values of mean squares of deviations from the variance analysis concerning the effects of concentration method and starter culture type on the texture of goat's milk yoghurt

Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	Ocena sensoryczna Sensory evaluation	pH	Lepkość pozorna Apparent viscosity	Twardość Hardness	Adhezyjność Adhesiveness	Siła ekstruzji Extrusion force	Synergeza I <sup>1)</sup> Syneresis I	Synergeza II <sup>2)</sup> Syneresis II
Sposób zagęszczania (1) Method of concentration	2	0,376*	0,188	174466,8**	272,37**	2725,93**	30669,4**	357,33**	2786,81**
Rodzaj szczepionki (2) Type of starter culture	2	0,822**	0,107	250881,2**	85,69	595,60**	16829,1**	511,44**	68,48
Interakcja (1) x (2) Interaction	4	0,070	0,027	28117,7*	23,96	234,31**	953,0	79,44**	25,43
Błąd Error	18	0,776	0,099	9033,7	28,88	32,89	1326,4	14,59	20,41

<sup>1)</sup> - oznaczona metodą sączenia / determined using a drainage method; <sup>2)</sup> - oznaczona metodą wirówkową / determined using a centrifugal method;

\*\* - statystycznie wysoko istotny ( $p \leq 0,01$ ) wpływ badanego czynnika / statistically highly significant effect ( $p \leq 0,01$ ) of the factor studied;

\* - statystycznie istotny wpływ ( $p \leq 0,05$ ) badanego czynnika / statistically significant effect ( $p \leq 0,05$ ) of the factor studied.

Tabela 4

Wartości średnie najmniejszych kwadratów dotyczące wpływu sposobu zagęszczania mleka i rodzaju szczepionki na teksturę jogurtu z mleka koziego.

Mean values of the smallest squares referring to the effect of concentration method and starter culture type on the texture of goat's milk yoghurt.

Cecha Feature	Sposób zagęszczania Method of concentration			Rodzaj szczepionki Type of starter culture		
	N	UF	P	YC-180	ABY-2	ABT-1
Ocena sensoryczna Sensory evaluation [pkt] / [scores]	4,28 <sup>a</sup>	4,63 <sup>ab</sup>	4,28 <sup>b</sup>	4,65 <sup>A</sup>	4,47 <sup>B</sup>	4,06 <sup>AB</sup>
pH / pH	4,21	4,41	4,14	4,24	4,15	4,37
Lepkość pozorna Apparent viscosity [mPa·s]	197,09 <sup>Aa</sup>	471,91 <sup>AB</sup>	295,63 <sup>aB</sup>	492,75 <sup>AB</sup>	312,68 <sup>AC</sup>	159,19 <sup>BC</sup>
Twardość Hardness [G]	16,43 <sup>A</sup>	27,09 <sup>AB</sup>	19,42 <sup>B</sup>	24,23 <sup>a</sup>	20,62	18,09 <sup>a</sup>
Adhezyjność Adhesiveness [[G·s]]	17,32 <sup>AB</sup>	50,64 <sup>AC</sup>	25,28 <sup>BC</sup>	40,01 <sup>AB</sup>	24,09 <sup>A</sup>	29,14 <sup>B</sup>
Siła ekstruzji Extrusion force [G]	83,89 <sup>A,a</sup>	198,25 <sup>A,B</sup>	120,69 <sup>a,B</sup>	181,62 <sup>A,B</sup>	96,87 <sup>A</sup>	124,34 <sup>B</sup>
Synereza I* Syneresis I [%]	21 <sup>A</sup>	11 <sup>A,B</sup>	23 <sup>B</sup>	27 <sup>A,B</sup>	13 <sup>A</sup>	15 <sup>B</sup>
Synereza II** Syneresis II [%]	55 <sup>A,B</sup>	21 <sup>A,C</sup>	31 <sup>B,C</sup>	32 <sup>a,b</sup>	37 <sup>a</sup>	37 <sup>b</sup>

Objaśnienia: / Explanatory notes:

N - mleko niezagęszczone / non-concentrated milk; UF - mleko zagęszczone techniką ultrafiltracji / milk concentrated using ultrafiltration method; P - mleko z dodatkiem koziego mleka w proszku / milk with addition of goat's milk powder;

<sup>A-B</sup> - różnice statystycznie wysoko istotne ( $p \leq 0,01$ ) oznaczone takimi samymi literami w rzędach / statistically highly significant differences ( $p \leq 0,01$ ) denoted by the same letter in the rows;

<sup>a-b</sup> - różnice statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ) oznaczone taką samą literą w rzędach / statistically significant differences ( $p \leq 0,05$ ) denoted by the same letter in the rows.

Pazakova i wsp. [13] porównali wyniki oceny sensorycznej jogurtów z niezagęszczonego mleka koziego, krowiego i owczego. Jogurty z mleka koziego otrzymały najmniejszą ilość punktów, przy czym konsystencja jogurtu w największym stopniu wpływała na obniżenie ogólnej oceny sensorycznej. Oceniane przez nich jogurty z mleka koziego charakteryzowały się zbyt luźną konsystencją i miały wyraźnie wyczuwalny kozi posmak. Według Tamime i wsp. [21, 22, 23] o właściwościach teksturalnych i strukturze skrzepu jogurtowego decyduje w głównej mierze zawartość suchej masy, a szczególnie białka. W niniejszych badaniach mleko zagęszczone techniką ultrafiltracji charakteryzowało się tylko o 0,08 % większą zawartością suchej masy w porównaniu z mlekiem z dodatkiem proszku mlecznego. Jednak zawartość w nich białka różniła się o 0,73 %. W porównaniu z zawartością białka w mleku niezagęszczonym, zawartość białka w mleku ultrafiltrowanym zwiększyła się o 1,41 %. Tłumaczyć to może stwierdzone różnice w parametrach tekstury produkowanych jogurtów.

Rohm i Kovac [17] badali wpływ różnych szczepionek jogurtowych i jednej biojogurtowej na lepkość i właściwości fizyczne jogurtu. Spośród przebadanych przez nich szczepionek 10 było tradycyjnie jogurtowych, a jedna zawierała w swym składzie obok *S. thermophilus* także *L. acidophilus* oraz *Bifidobacterium*. Jogurt produkowany przy użyciu tej zmodyfikowanej szczepionki charakteryzował się stosunkowo małą twardością skrzepu i dosyć dużą synerezą. Wyniki biojogurtu produkowanego przy użyciu szczepionki ABT-1, uzyskane w niniejszej pracy, zbliżone są do wyników tych autorów [17] w przypadku szczepionki zmodyfikowanej. Domagała [6], badając wpływ rodzaju szczepionki na teksturę jogurtów i biojogurtów z niezagęszczonego mleka koziego, stwierdził, że rodzaj szczepionki nie wpływał istotnie na zmiany jakości sensorycznej, lepkości pozornej i parametrów tekstury w obrębie samych jogurtów czy biojogurtów, ale istotne różnice wartości tych parametrów wystąpiły między jogurtami i biojogurtami. Podobny wpływ rodzaju szczepionki na właściwości reologiczne jogurtów i biojogurtów z niezagęszczonego mleka koziego stwierdzili wcześniej Domagała i Juszcak [7].

Znaczną poprawę właściwości teksturalnych oraz zmniejszenie podatności na synerezę jogurtu produkowanego z mleka zagęszczonego przez ultrafiltrację stwierdziło wielu autorów [1, 2, 4, 5, 8, 18, 19, 21]. Według Abrahamsena i Holmena [2] jogurty produkowane zarówno metodą termostatową, jak i zbiornikową z mleka koziego poddanego ultrafiltracji otrzymywały w ocenie sensorycznej więcej punktów za konsystencję niż jogurty produkowane z mleka zagęszczonego innymi metodami tj. przez odparowanie wody, dodatek mleka w proszku czy zagęszczanie techniką odwróconej osmozy. Jogurty z mleka krowiego poddanego ultrafiltracji produkowane przez tych samych autorów [1] charakteryzowały się największą twardością żelu i lepkością w porównaniu z jogurtami otrzymanymi z mleka wzbogaconego innymi metodami, a także z mleka niezagęszczonego. Biliaderis i wsp. [5], Becker i Puhan [4], a także



Savello i Dargan [18, 19] stwierdzili, że jogurty produkowane z mleka zagęszczonego techniką ultrafiltracji wykazywały większą twardość żelu i większą lepkość po wymieszaniu niż jogurty produkowane z mleka wzbogaconego mlekiem w proszku. Lankes i wsp. [12] zaobserwowali podobne zależności w odniesieniu do jogurtu z mleka ultrafiltrowanego, zagęszczanego na wyparce i wzbogaconego przez dodatek odtłuszczonego mleka w proszku do zawartości 16 % suchej masy. Obserwacje swoje potwierdzili oni zarówno testami penetrometrycznymi oraz pomiarami reologicznymi, także przy użyciu testów dynamicznych. Savello i Dargan [18, 19] podkreślili także, że zagęszczanie mleka przeznaczonego do produkcji jogurtu techniką ultrafiltracji znacznie zmniejsza podatność jogurtu na synerezę.

### Wnioski

1. Wzbogacanie mleka koziego, przeznaczonego do produkcji jogurtu, w składniki suchej masy oraz sposób jego przeprowadzenia istotnie zmienia skład i właściwości mleka oraz istotnie wpływa na teksturę i podatność na synerezę produktu gotowego.
2. Zagęszczanie mleka techniką ultrafiltracji pozwala uzyskać produkt o znacznie lepszych cechach sensorycznych, dobrych parametrach tekstury i mniejszej podatności na synerezę niż wzbogacanie przez dodatek mleka w proszku, który tylko nieznacznie poprawia właściwości teksturalne jogurtu i biojogurtów, niekorzystnie wpływając jednocześnie na ich smak i zapach.
3. Rodzaj stosowanej szczepionki istotnie wpływa na jakość produktów fermentowanych z mleka koziego. Jogurt uzyskany przy użyciu szczepionki YC-180 charakteryzował się bardziej pożądaną teksturą i ogólną jakością sensoryczną przy nieco większej podatności na synerezę niż biojogurty uzyskane przy użyciu szczepionek ABT-1 i ABY-2.

### Literatura

- [1] Abrahamsen R.K., Holmen T.B.: Yoghurt from hyperfiltrated, ultrafiltrated and evaporated milk and from milk with added milk powder. *Milchwiss.*, 1980, **35** (7), 399-402.
- [2] Abrahamsen R.K., Holmen T.B.: Goat's milk yoghurt made from non-homogenized and homogenized milks, concentrated by different methods. *J. Dairy Res.*, 1981, **48**, 457-463.
- [3] AOAC. Official methods of analysis – dairy products. Washington DC 1995.
- [4] Becker T., Puhon Z.: Effect of different processes to increase the milk solids non-fat content on the rheological properties of yoghurt. *Milchwiss.*, 1989, **44**, (10), 626-629.
- [5] Biliaderis C.G., Khan M.M., Blank G.: Rheological and sensory properties of yoghurt from skim milk and ultrafiltered retentates. *Int. Dairy J.*, 1992, **2**, 311-323.
- [6] Domagała J.: Texture of yoghurts and bio-yoghurts from goat's milk depending on starter culture type. *Milchwiss.*, 2005, **60**, (3), 289-292.
- [7] Domagała J., Juszcak L.: Flow behavior of goat's milk yoghurts and bio-yoghurts. *EJPAU. Food Sci. Technol.*, 2004, **7**, (2).

- [8] Domagała J., Kupiec B.E.: Changes in texture of yoghurt from ultrafiltrated goat's milk as influenced by different membrane types. *EJPAU. Food Sci. Technol.*, 2003, **6** (1).
- [9] Domagała J., Wszolek M.: Wpływ sezonowych zmian w składzie mleka koziego na teksturę jogurtu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **2** (23), 70-78.
- [10] Hassan A.N., Corredig M., Frank J.F.: Capsule formation by non-ropy starter cultures affects the viscoelastic properties of yoghurt during structure formation. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 716-720.
- [11] Kessler H.G.: The structure of fermented milk products as influenced by technology and consumption. W: *Texture of fermented milk products and dairy desserts. IDF Special Issue*, 1998, **9802**, 93-105.
- [12] Lankes H., Ozer H.B., Robinson R.K.: The effect of elevated milk solids and incubation temperature on the physical properties of natural yoghurt. *Milchwiss.*, 1998, **53** (9), 510-513.
- [13] Pazakova J., Burdova O., Turek P., Laciakova A.: Sensorial evaluation of yoghurt produced from cow, sheep's and goat's milk. *Czech J. Food Sci.*, 1999, **17**, 31-34.
- [14] Pluta A., Kazimierzak A., Wąsowska D.: Wpływ wybranych hydrokoloidów na jakość jogurtu. *Przem Spoż.*, 1999, **3**, 41-43.
- [15] PN-ISO 2446:2002. Mleko -- Oznaczanie zawartości tłuszczu (metoda rutynowa).
- [16] PN-ISO 11036:1999. Analiza sensoryczna. Metodologia. Profilowanie tekstury.
- [17] Rohm H., Kovac A.: Effects of starter cultures on linear viscoelastic and physical properties of yoghurt gels. *J. Texture Studies*, 1994, **25**, 311-325.
- [18] Savello P.A., Dargan R.A.: Improved yoghurt physical properties using ultrafiltration and very-high temperature heating. *Milchwiss.*, 1995, **50** (2), 86-90.
- [19] Savello P.A., Dargan R.A.: Reduced yoghurt syneresis using ultrafiltration and very-high temperature heating. *Milchwiss.*, 1997, **52** (10), 573-577.
- [20] Szczepanik A., Libudzisz Z.: Mleko kozie i jego właściwości. *Przegl. Mlecz.*, 2000, **5**, 136-139.
- [21] Tamime A.Y., Kalab. M., Davies G.: Microstructure of set-style yoghurt manufactured from cow's milk fortified by various methods. *Food Microstructure*, 1984, **3**, 83-92.
- [22] Tamime A.Y., Muir D.D.: Strategies for modifying the structure of fermented milks. In: *Texture of fermented milk products and dairy desserts. IDF Special Issue*, 1998, **9802**, 186-196.
- [23] Tamime A.Y., Robinson R.K.: *Yoghurt. Science and technology*. Woodhead Publishing, Cambridge, 1999.
- [24] Wszolek M.: Przydatność technologiczna mleka koziego. *Przegl. Mlecz.*, 1997, **1**, 12-14.

**EFFECT OF CONCENTRATION METHOD AND STARTER CULTURE TYPE ON THE  
TEXTURE AND SUSCEPTIBILITY TO SYNERESIS OF YOGHURT AND BIO-YOGHURTS  
MADE OF GOAT'S MILK**

S u m m a r y

There were investigated changes in texture and susceptibility to syneresis of yoghurt and bio-yoghurts made of goat's milk that was non-concentrated, ultrafiltrated, and concentrated using powdered milk. YC-180 starter culture was used to make yoghurt, and ABY-2 and ABT-1 starter cultures to make bio-yoghurts. When milk was concentrated using an ultrafiltration method, the final product received showed desirable sensory properties, good texture parameters, and a lower susceptibility to syneresis compared to the final product received using milk concentrated by the addition of powdered milk. The addition of powdered milk insignificantly improved the texture of yoghurt and bio-yoghurts, but, on the other hand, it caused the deterioration of their smell and taste. Among the products studied, the yoghurt of goat's milk concentrated by the ultrafiltration method and made using YC-180 starter culture had the best sensory properties and a good texture.

**Key words:** goat's milk yoghurt and bio-yoghurt, starter culture type, ultrafiltration, texture, syneresis ☒

EWA CZARNIECKA-SKUBINA, IWONA NAMYSŁAW

## WYBRANE ELEMENTY ZACHOWAŃ ŻYWIENIOWYCH UCZNIÓW SZKÓŁ ŚREDNICH

### Streszczenie

Celem badań ankietowych była ocena wybranych elementów zachowań żywieniowych 1015 uczniów warszawskich szkół średnich. Znaczna część badanych uczniów nie potrafiła ocenić, czy odżywia się zgodnie z zasadami racjonalnego żywienia lub uznawała swoje nawyki żywieniowe za nieprawidłowe. Uczniowie zazwyczaj spożywali 3 – 4 posiłki, przy czym dziewczęta istotnie częściej ograniczały liczbę posiłków w ciągu dnia. Stwierdzono wiele nieprawidłowych zachowań żywieniowych młodzieży. Ponad 80 % ogółu respondentów spożywało przekąski pomiędzy głównymi posiłkami. Warzywa były głównie spożywane jako dodatek do obiadu, nieliczna grupa młodzieży (około 10 %) spożywała je w czasie podwieczorku i kolacji. Wielu uczniów w ogóle nie spożywało pierwszego i drugiego śniadania, a na drugie śniadanie spożywało batony. Udział szkoły w kształtowaniu zachowań żywieniowych jest dość znaczny, około 30 % młodzieży deklaruowało, że wiedzę na temat racjonalnego odżywiania zdobyło w szkole. Wyniki badań ankietowych wskazują, że niezbędne jest prowadzenie edukacji żywieniowej wśród młodzieży i ich rodziców, w celu kształtowania prawidłowych nawyków żywieniowych i korygowania popełnianych w tym zakresie błędów.

**Słowa kluczowe:** zachowania żywieniowe, młodzież szkół średnich, badania ankietowe

### Wprowadzenie

Dowiedziany jest związek pomiędzy odżywianiem się a zdrowiem. Zachowania żywieniowe nabyte w dzieciństwie i młodości zazwyczaj powielane są w życiu dorosłym. Zależą one od wielu różnorodnych aspektów: ekonomicznych, politycznych, kulturowych, społecznych, geograficznych czy religijnych [8, 16, 29]. Stwierdzono ich ścisły związek z nawykami wyniesionymi i utrwalonymi w domu. Wszelkie nieprawidłowości w tym zakresie należy korygować już u młodzieży szkolnej, gdyż wadliwy sposób żywienia powoduje opóźnienia w rozwoju fizjologicznym, ogranicza aktywność psychofizyczną ucznia, obniża zdolność uczenia się i koncentracji uwagi [25].

---

*Dr inż. E. Czarniecka-Skubina, mgr inż. I. Namysław, Katedra Techniki i Technologii Gastronomicznej, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

Nieprawidłowe zachowania żywieniowe są również główną przyczyną nadwagi i otyłości prostej u młodzieży [7]. Istotną rolę w prewencji otyłości u dzieci i młodzieży odgrywa wiedza rodziców, dlatego edukacja rodziców powinna być ukierunkowana na wzmocnienie postawy świadomości i odpowiedzialności za kształtowanie zachowań żywieniowych i wzorców aktywności ruchowej dzieci [16].

Celem niniejszych badań była ocena wybranych elementów zachowań żywieniowych uczniów warszawskich szkół średnich, a w szczególności liczby i rodzaju spożywanych dań oraz napojów, jak również zainteresowania prawidłowym odżywianiem.

### Material i metody badań

Badania ankietowe przeprowadzono metodą wywiadu bezpośredniego wśród uczniów losowo wybranych warszawskich szkół średnich. Uzyskano w sumie 1015 prawidłowo wypełnionych ankiet. Przeważającą liczbę respondentów stanowili uczniowie szkół ogólnokształcących (93,8 %). Były to głównie osoby w wieku 17 i 18 lat (67,7 %), w przewadze dziewczęta (56,6 % badanych) (tab. 1).

Tabela 1

Charakterystyka badanej populacji.  
Description of the population surveyed.

Cechy populacji Features of the population	Grupa Group	Liczba respondentów Number of respondents [n]	Procent respondentów Percentage of respondents [%]
Ogółem Total	---	1015	100
Płeć Gender	Dziewczeta / Girls	573	56,5
	Chłopcy / Boys	442	43,5
Wiek Age	16 lat / 16 years	259	25,5
	17 lat / 17 years	368	36,3
	18 lat / 18 years	319	31,4
	19-21 lat / 19-21 years	69	6,8
Rodzaj szkoły Kind of school	Liceum ogólnokształcące Secondary School	952	93,8
	Technikum zawodowe Vocational Engineering School	63	6,2

Kwestionariusz ankiety zawierał pytania dotyczące: samooceny sposobu odżywiania przez młodzież, zainteresowań młodzieży prawidłowym żywieniem, rozumienia pojęcia potrawa prozdrowotna, liczby i rodzaju spożywanych posiłków w ciągu dnia, spożywania przekąsek pomiędzy głównymi posiłkami, źródeł zdobywania wie-

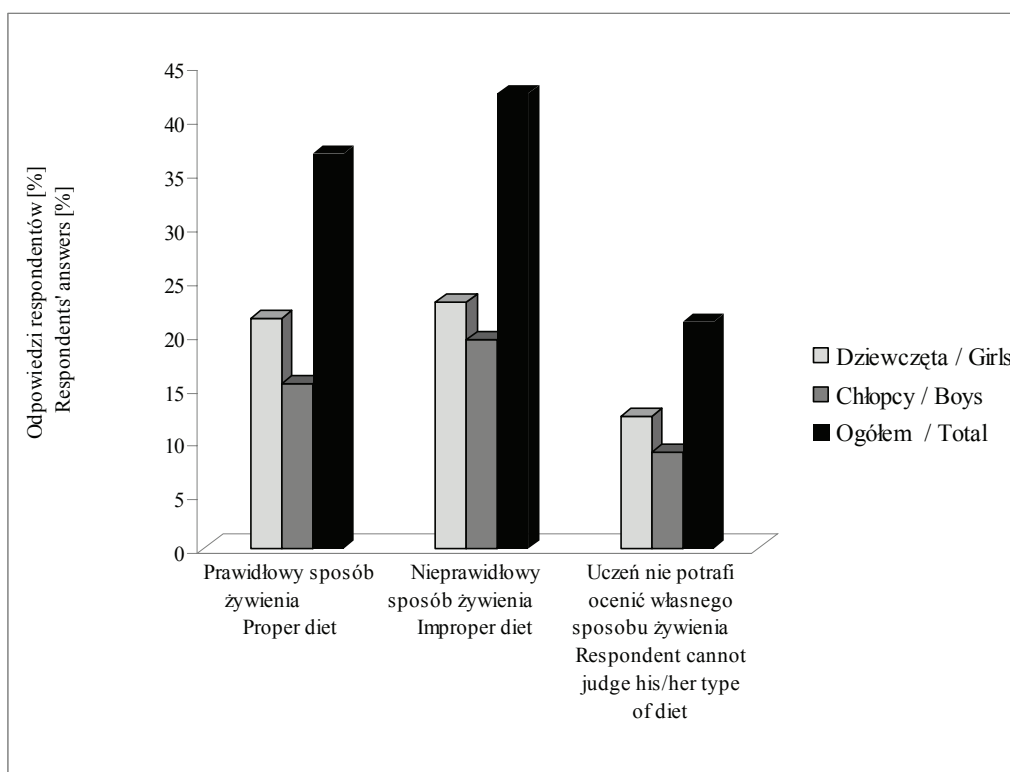
dzy żywieniowej przez młodzież, a także charakterystyki respondentów. Pytania w kwestionariuszu miały charakter zamknięty.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono z wykorzystaniem pakietu statystycznego „Statistica” PL dla Windows v.5.5. Do analizy zastosowano test  $\chi^2$  z poprawką Yatesa. Występowanie różnic statystycznie istotnych badano przy poziomie istotności  $p < 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

### *Samoocena sposobu żywienia uczniów*

Znaczna część badanych respondentów (42,3 %), niezależnie od płci (brak istotnych różnic,  $p = 0,4249$ ), uważała, że odżywia się nieprawidłowo, natomiast 21,1 % nie potrafiło określić czy żywiło się zgodnie z zasadami racjonalnego żywienia (rys. 1). Tylko 36,7 % uczniów było przekonanych, że odżywia się prawidłowo. Istotnie częściej były to osoby w wieku 17 i 18 lat ( $p = 0,01593$ ).



Rys. 1. Opinia uczniów na temat własnego sposobu odżywiania (n = 1015).

Fig. 1. Opinions of the secondary school children on their own eating habits (n = 1015).

Podobne wyniki uzyskali Kowieska i wsp. [15], 30 % ankietowanej przez nich młodzieży szkolnej uznało swój sposób odżywiania jako zdrowy. Jednakże autorzy Ci nie znaleźli potwierdzenia tej opinii w odpowiedziach dotyczących deklarowanych przez młodzież zachowań żywieniowych i stwierdzili znaczne braki wiedzy z zakresu racjonalnego odżywiania.

#### *Zainteresowanie prawidłowym odżywianiem wśród respondentów*

Okolo 41,5 % ogółu badanych respondentów wskazywało na zainteresowanie racjonalnym odżywianiem. Istotnie częściej były to dziewczęta ( $p = 0,000001$ ). Tak wskazywało, niezależnie od wieku ( $p < 0,05$ ), okolo 50 % dziewcząt biorących udział w badaniu. Uczniowie Ci podkreślali, że prawidłowe zasady odżywiania realizują poprzez: spożywanie produktów prozdrowotnych wzbogacanych w witaminy, składniki mineralne czy bifidobakterie (23,3 % odpowiedzi), regularność posiłków (16,8 %), częste spożywanie owoców (16,1 %), jak również spożywanie produktów z obniżoną zawartością tłuszczu, cukru, soli, czy kontrolowanie wartości energetycznej produktów (tab. 2). Można więc powiedzieć, że ta grupa uczniów wykazywała poprawne zachowania żywieniowe.

Babicz-Zielińska i wsp. [1], prowadząc badania wśród dziewcząt w wieku 13-15 lat, stwierdzili, że mimo iż 85 % respondentek deklarowało zainteresowanie zdrowym odżywianiem, to tylko 58 % spożywało posiłki regularnie, a aż 82 % dziewcząt pojadało pomiędzy głównymi posiłkami.

Osoby odpowiadające, że nie są zainteresowane zdrowym odżywianiem (58,4 % ogółu badanych) jako przyczynę wskazywały, że nie jest to dla nich ważne (30,3 % badanych). Istotnie częściej byli to chłopcy ( $p = 0,000001$ ). Uczniowie podkreślali też, że na rodzaj posiłków nie mają wpływu, gdyż spożywają to, co przygotowują im rodzice lub dziadkowie (25,0 %). Uważali też, że brak zainteresowania zdrowym odżywianiem z ich strony jest spowodowany względami sensorycznymi, gdyż według nich te dania są niesmaczne (6,8 %).

Uczniów pytano też, czy znają pojęcie potrawa prozdrowotna i co pod tym określeniem rozumieją (rys. 2). Tylko 26,3 % badanej młodzieży znało to określenie. Rozumieli je głównie jako potrawy wzbogacane w różne dodatki, takie jak: kielki, orzechy, otręby itp., jako zgodne z zaleceniami specjalistów do spraw żywienia czy potrawy urozmaicone z dodatkiem jarzyn, surówek, soków oraz potrawy o małej zawartości tłuszczu, cholesterolu, soli, cukru, wzbogacone w błonnik, z dodatkiem bifidobakterii. Istotnie częściej na to pytanie odpowiadały dziewczęta ( $r = -0,11$ ), które też częściej interesowały się racjonalnym odżywianiem.

Tabela 2

Sposoby realizacji racjonalnego odżywiania przez badanych respondentów (n = 422).

Ways of how the polled carry out the rules of rational nutrition (n = 422).

Realizacja racjonalnego odżywiania Carrying out the rules of rational nutrition	Ogółem odpowiedzi Total of answers		Odpowiedzi dziewcząt Girls' answers		Odpowiedzi chłopców Boys' answers		Poziom istotności Level of significance
	Wartości liczbowe Numerical values [n]	Wartości procentowe Percentage values [%]	Wartości liczbowe Numerical values [n]	Wartości procentowe Percentage values [%]	Wartości liczbowe Numerical values [n]	Wartości procentowe Percentage values [%]	
Sprawdzanie wartości energetycznej produktów Checking energy value of food products	136	13,4	105	77,2	31	22,79	0,000001
Stosowanie produktów niskokalorycznych Using low-calorie food products	100	9,9	85	85,0	15	15,0	0,000001
Stosowanie produktów o obniżonej zawartości tłuszczu Using food products with a reduced fat content	150	14,8	107	71,3	43	28,7	0,00007
Ograniczanie zawartości cukru w potrawach Cutting down on sugar content in dishes	145	14,3	105	72,4	40	27,6	0,00003
Ograniczanie zawartości soli w potrawach Cutting down on salt content in dishes	133	13,1	89	66,9	44	33,1	0,00903
Stosowanie produktów o obniżonej zawartości cholesterolu Using food products with a reduced cholesterol level	82	8,1	57	69,5	25	30,5	0,01286

c.d. Tab. 2

Spożywanie warzyw 4-5 razy dziennie Eating vegetables 4-5 times a day	70	6,9	46	65,7	24	34,3	0,10532
Spożywanie owoców 4-5 razy dziennie Eating fruit 4-5 times a day	163	16,1	112	68,7	51	31,3	0,00057
Spożywanie potraw lekkostrawnych Eating light dishes	144	14,2	104	72,2	40	27,8	0,00004
Spożywanie potraw wegetariańskich Eating vegetarian dishes	60	5,9	51	85,0	9	15,0	0,000001
Stosowanie produktów prozdrowotnych Using pro-healthy food products	236	23,3	155	65,7	81	34,3	0,00110
Regularność posiłków Regularity of meals	170	16,8	87	51,2	83	48,8	0,12424
Inne / Other	49	4,8	29	59,2	20	40,8	0,69274

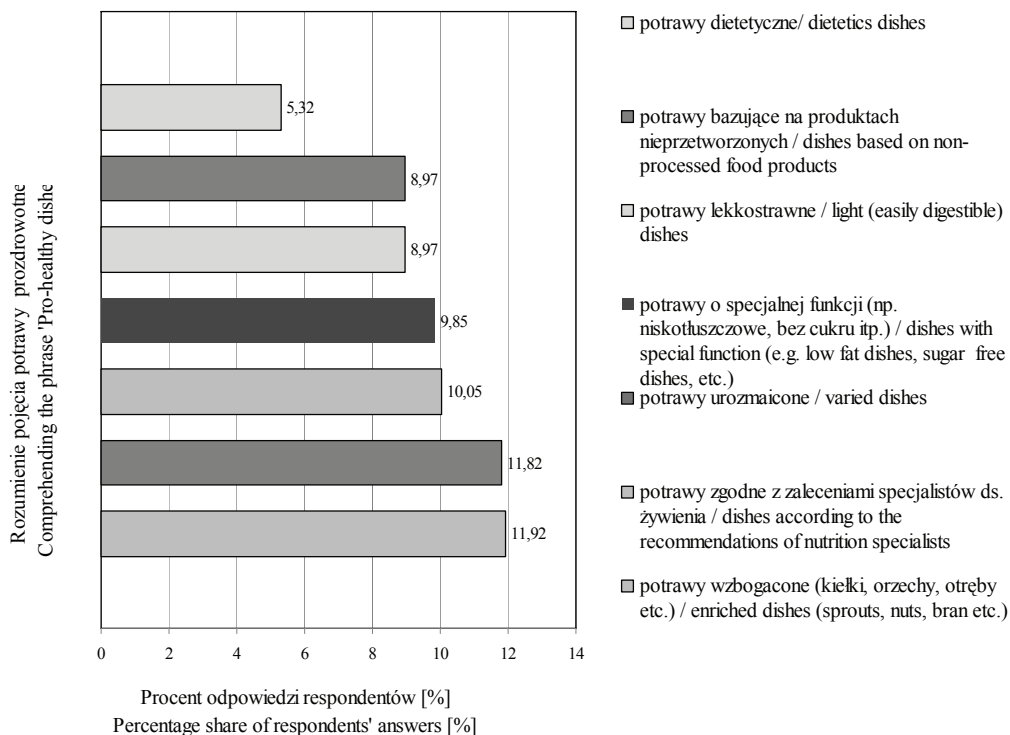
$p < 0,05$  – różnice statystycznie istotne między odsetkiem odpowiedzi udzielanych przez dziewczęta i chłopców,

$p < 0.05$  – statistically significant differences between the percentage share of responses given by the girls and boys polled.

#### *Liczba spożywanych posiłków*

Liczba spożywanych posiłków w badanej grupie młodzieży nie była uzależniona od wieku uczniów ( $p = 0,30293$ ), zależała natomiast od ich płci. Największa grupa uczniów spożywała 3 – 4 posiłki dziennie (rys. 3). Dziewczęta statystycznie częściej uwzględniały w swojej diecie jedynie 2 posiłki ( $p = 0,00001$ ), co prawdopodobnie związane jest z dążeniem do uzyskania szczupłej sylwetki. Chłopcy istotnie częściej spożywali 6 i więcej posiłków ( $p = 0,00001$ ). Na podobne zależności wskazują inni badacze tego problemu [5, 6, 15, 20, 22], według których młodzież zazwyczaj spożywa 3 – 4 posiłki dziennie. Wielu autorów [13, 25, 26] podaje dość znaczny odsetek młodzieży (12-14 %) spożywającej niewystarczającą liczbę posiłków (mniej niż 3) w ciągu dnia, podkreślając, że dziewczęta częściej spożywają mniej niż trzy posiłki dziennie.



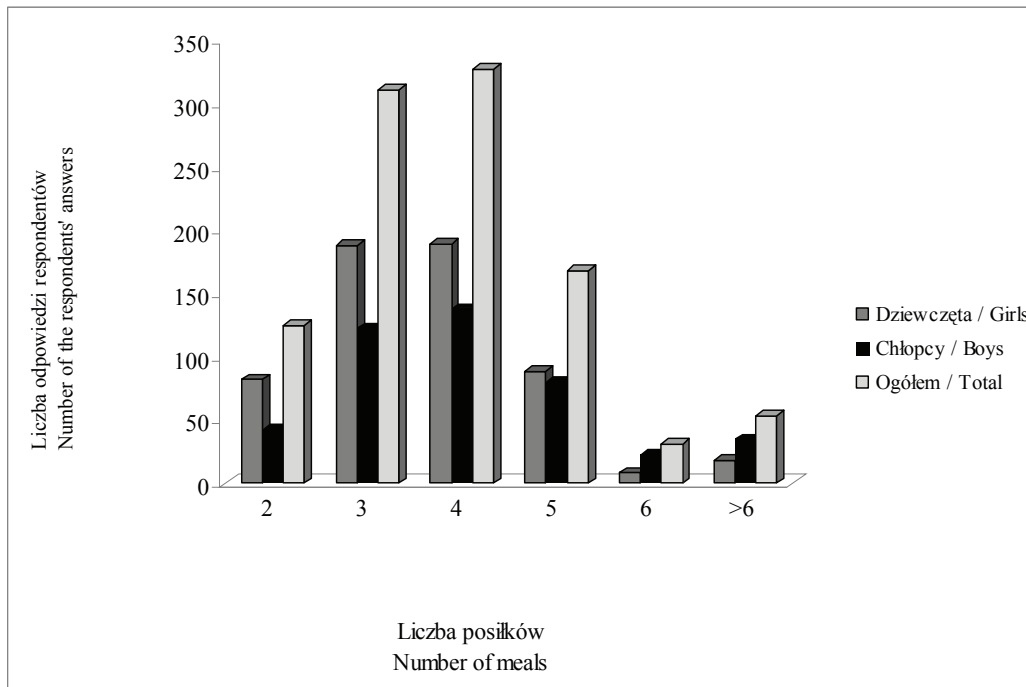


Rys. 2. Rozumienie pojęcia potrawa prozdrowotna przez respondentów (n = 1015).

Fig. 2. The way the respondents comprehend the phrase 'Pro-healthy dish' (n = 1015)

### Asortyment spożywanych potraw i napojów

Asortyment potraw i napojów spożywanych przez badanych uczniów przedstawiono w tab. 3. Większość (84 %) badanej młodzieży pomiędzy głównymi posiłkami spożywa przekąski. Nie stwierdzono istotnych różnic w procentowym udziale populacji deklarującej spożywanie przekąsek między głównymi posiłkami, zarówno w zależności od płci ( $p = 0,95496$ ), jak i wieku badanych ( $p = 0,09983$ ). Sikora i wsp. [22] stwierdzili również, że 85 % ankietowanej przez nich młodzieży pojada między posiłkami, spożywając głównie owoce, kanapki i chipsy. Niektórzy autorzy [6, 26] podkreślają, że to chłopcy istotnie częściej pojadają pomiędzy posiłkami. Z kolei Kołajtis-Dołowy i Olechnowicz [12] stwierdziły niższy udział uczniów I i II klas szkół podstawowych (58 %) pojadających pomiędzy posiłkami. Wśród asortymentu przekąsek spożywanych przez uczniów autorki te wymieniają najczęściej kanapki i owoce (21 % badanych dzieci), batony, jogurty oraz chipsy (po 8 %), jak również czekolady, warzywa, kisiele, budynie, paluszki oraz frytki.



Rys. 3. Deklarowana przez uczniów liczba posiłków spożywanych dziennie (n = 1015).

Fig. 3. Number of daily meals as declared by the secondary school children (n = 1015).

Wielu badanych uczniów nie spożywało pierwszego i drugiego śniadania (około 17 %), przy czym istotnie częściej tych posiłków nie uwzględniały dziewczęta ( $p < 0,05$ ) (tab. 3), na co wskazują również inni autorzy [21]. Według Suligi [23], w środowisku wiejskim wyższy odsetek dzieci (21,5 %) nie spożywa pierwszego śniadania, podczas gdy drugiego śniadania tylko 12,6 %. Cytowana autorka podkreśla, że częstość i regularność spożywania śniadań przez dzieci zależy od płci i od sytuacji ekonomiczno-społecznej rodzin, co podają również Rampersaud i wsp. [21]. Według tych autorów śniadania nie spożywa 8 – 12 % dzieci w wieku do 10 lat, 20 % w wieku 11 – 14 lat i aż 30 % w wieku 15 – 18 lat. Z kolei według wyników Szczepaniak i wsp. [25], pierwsze i drugie śniadania były posiłkami najczęściej spożywanymi przez młodzież w wieku 16 – 19 lat. Szczepańska i wsp. [26], badając młodzież gimnazjalną ze szkoły mistrzostwa sportowego, stwierdzili, że 17 % uczniów nie spożywało I śniadania, a 13 % spożywało je nieregularnie. Było to szczególnie niepokojące, z uwagi na niskie stężenie glukozy we krwi po nocnej przerwie, co wpływa na samopoczucie, procesy poznawcze, ale również na zdolność do wykonywania wysiłku sportowego.

Tabela 3

Asortyment potraw i napojów spożywanych przez respondentów podczas poszczególnych posiłków (n = 1015).

Assortment of dishes and drinks eaten & drunk by the respondents during the individual meals (n = 1015).

Asortyment Assortment	Rodzaj posiłku [% odpowiedzi]/poziom istotności Kind of meals [% of answers]/level of significance				
	Śniadanie Breakfast	II śniadanie 2 <sup>nd</sup> breakfast (brunch)	Obiad Dinner	Podwie- czorek Afternoon snack	Kolacja Supper
Nic nie spożywają Do not eat anything at all	17,5 p = 0,00022	16,7 p = 0,04632	-	33,2 NS	15,9 p = 0,00001
Jogurt Yoghurt	-	12,5 p = 0,00001	-	-	24,5 NS
Zupa Soup	31,4 NS	-	62,3 NS	-	-
Serek homogenizowany Cream Cheese	16,6 NS	-	-	-	18,9 p = 0,03147
Kanapka Sandwich	64,1 p = 0,000001	72,4 NS	-	19,9 p = 0,00002	68,2 p = 0,000001
Owoce Fruit	9,7 NS	31,7 p = 0,000001	-	40,9 p = 0,00012	23,7 NS
Warzywa Vegetables	-	-	-	8,4 NS	11,9 NS
Ziemniaki (frytki lub ryż), mięso, surówka Potatoes (French fries or rice), meat, salad	-	-	69,6 (frytki 21,1; lub ryż 36,6) p = 0,000001	-	-
Frytki, ryba, surówka French fries, fish, salad	-	-	16,4 p = 0,00743	-	-
Dania jednogarnkowe Hotpots	-	-	34,6 NS	-	-
Batony Bars (chocolate)	-	24,8 NS	-	23,1 NS	-
Ciastka (drożdżówka) Teacakes (buns)	-	-	-	22,4 p = 0,00002	-
Inne dania (np. pizza) Other dishes (e.g. pizza)	13,2 NS	8,6 NS	29,2 (19,4) p = 0,00220	6,6 NS	9,9 NS
Herbata Tea	56,4 NS	9,2 NS	31,6 NS	25,4 NS	47,6 NS
Soki Juices	14,1 NS	28,5 NS	38,4 NS	21,9 NS	19,1 p = 0,00500
Przekąski pomiędzy posiłkami Snacks between meals	84,3 NS				

$p < 0,05$  – różnice statystycznie istotne między odsetkiem odpowiedzi udzielanych przez dziewczęta i chłopców,

$p < 0.05$  – statistically significant differences between the percentage of girls' and boys' answers;

NS - różnice statystycznie nieistotne między odsetkiem odpowiedzi udzielanych przez dziewczęta i chłopców,

NS – statistically insignificant differences between the percentage of girls' and boys' answers.

Niektórzy autorzy [14] wskazują na małą skuteczność w Polsce kampanii na rzecz upowszechniania śniadań szkolnych. Należy podkreślić, że regularne spożywanie śniadań przez młodzież szkolną jest szczególnie ważne. Prawidłowe wykorzystanie składników pokarmowych przez człowieka ma miejsce wówczas, gdy posiłki są właściwie rozłożone w ciągu dnia. Nie spożywanie przez młodzież szkolną śniadań może powodować obniżenie wydolności fizycznej i umysłowej oraz wpływać na złe samopoczucie. Śniadanie należy traktować bowiem jako część zdrowej diety i stylu życia [21]. Dzieci w wieku szkolnym, które opuszczały pierwsze śniadanie cechowało niższe dobowe spożycie energii, białka, witamin i składników mineralnych [2, 17].

Podczas śniadań uczniowie najczęściej spożywali kanapki (około 64 – 70 % badanych), przy czym istotnie częściej takie spożycie deklarowali chłopcy ( $p = 0,000001$ ) (tab. 3). W czasie pierwszego śniadania uczniowie zazwyczaj pili herbatę (56,4 %), a w czasie drugiego śniadania – soki (28,5 %), co prawdopodobnie związane jest z tym, że nie we wszystkich szkołach można wypić gorący napój. Niepokojący jest fakt spożywania przez młodzież batonów na drugie śniadanie (24,8 % badanych), co wiąże się z ich łatwą dostępnością w sklepikach szkolnych. Według Suligi [23], dzieci jako drugie śniadanie zazwyczaj spożywają kanapki (51 %), drożdżówki (20 %), owoce (15 %) i słodycze (12,8 %).

Jak wynika z deklaracji badanych uczniów, obiad był jedynym posiłkiem w ciągu dnia spożywanym przez wszystkich respondentów. Składał się zazwyczaj z zupy (ponad 60 % badanych) i ziemniaków, frytek lub ryżu z mięsem (rzadziej z rybą) oraz surówki (tab. 3). Niektórzy uczniowie deklarowali spożycie tzw. dań jednogarnkowych (34,6 %), a około 20 % uczniów pizzy. Podobnie podają inni autorzy [20, 24, 26], według których obiad jest posiłkiem najczęściej spożywanym w ciągu dnia przez młodzież w wieku 13 – 19 lat.

Około 1/3 badanych osób nie spożywała podwieczorku. Respondenci, którzy uwzględniali ten posiłek w swoim żywieniu spożywali owoce (40,9 %), słodycze (45,5 %), kanapki (19,9 %), rzadziej warzywa (8,4 %), a pili głównie herbatę i soki (tab. 3). Jak wskazują Pietruszka i wsp. [19], soki owocowe były najbardziej popularnymi napojami spożywanymi przez młodzież w wieku 16 – 20 lat. Dzielne spożycie napojów przez młodzież wynosiło 2,4 l, w tym herbata stanowiła 0,5 l, soki ogółem, napoje owocowe i nektary – 0,5 l, mleko i napoje mleczne – 0,4 l, wody butelkowane – 0,4 l, gazowane napoje słodzone i napoje typu cola – 0,2 l. Według Cisek i wsp. [4], w grupie młodzieży w wieku 13 – 15 lat, badanej przez te autorki, podwieczorek spo-

żywało jedynie co drugie dziecko. W niniejszych badaniach uczniowie deklarowali spożywanie podczas kolacji kanapek i herbaty.

Z przeprowadzonych badań wynika, że niewielu uczniów spożywało 4 – 5 razy dziennie owoce i warzywa. Najczęściej stanowiły one dodatek do drugiego śniadania i podwieczorku. Warzywa były zazwyczaj spożywane jako dodatek do obiadu. Nieliczna grupa młodzieży (około 10 %) spożywała je na podwieczorek i kolację. Były także składnikiem kanapek, które stanowiły podstawowy posiłek pierwszego i drugiego śniadania oraz kolacji.

Jeżewska-Zychowicz [8] wskazuje na niski poziom wiedzy żywieniowej wśród uczniów. Szczerbiński i Karczewski [24] również wykazali wiele nieprawidłowości w zachowaniach żywieniowych badanej przez nich młodzieży, w tym nieregularność posiłków, rzadkie spożywanie warzyw, owoców, mleka i jego przetworów, częste spożycie słodczy i napojów typu „soft drink”.

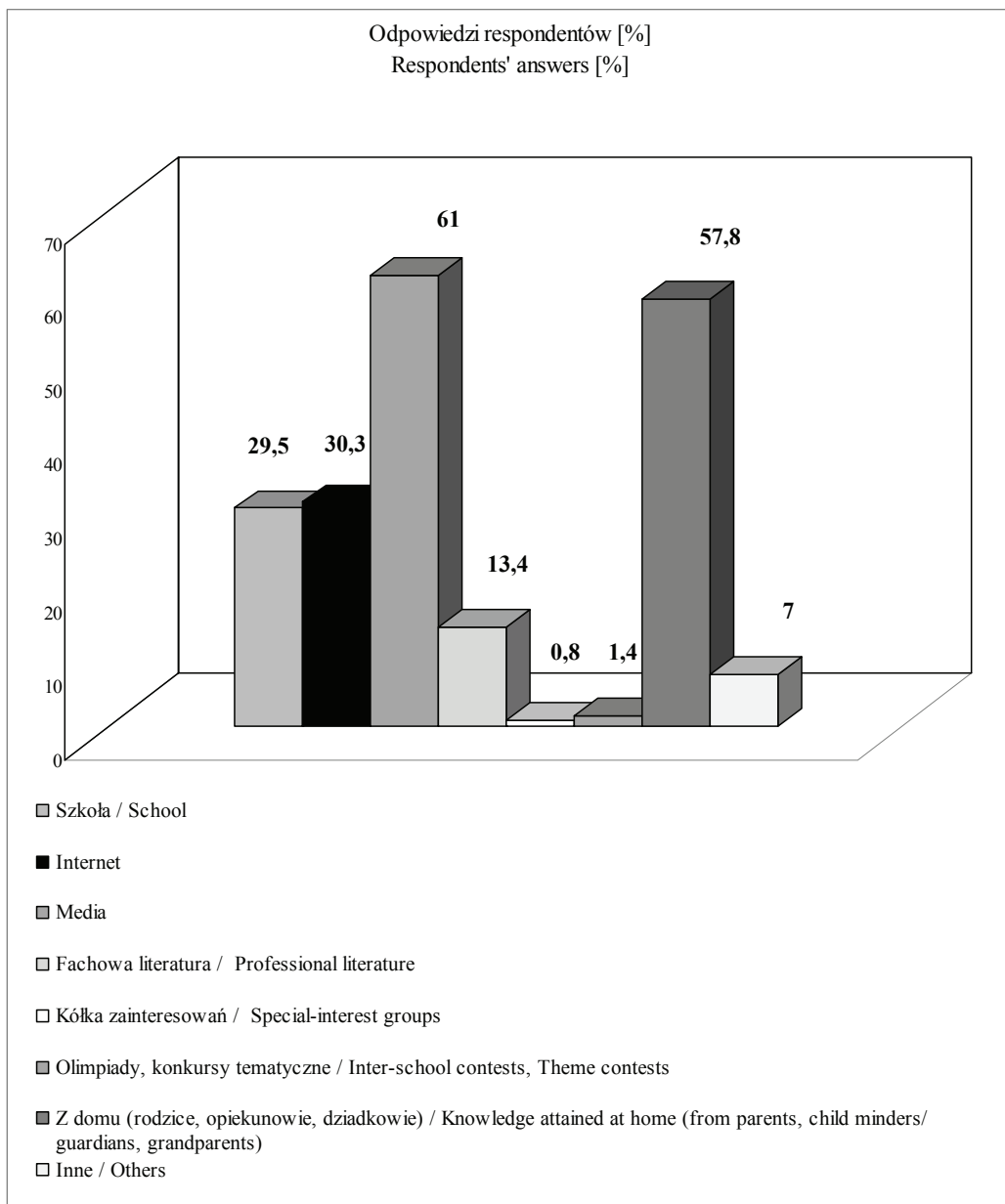
#### *Źródła wiedzy o żywieniu*

Badani uczniowie zadeklarowali, że wiedzę z zakresu żywienia czerpią z różnorodnych źródeł (rys. 4), przede wszystkim z mediów (61 % badanych), z internetu (30 %) oraz z domu (58 %). Potwierdzają to również badania Berg i wsp. [2]. Uczniowie rzadziej podawali szkołę jako źródło wiedzy żywieniowej (29 %), w tym nieliczni (0,8 %) pozalekcyjne kółka zainteresowań. Mały procent respondentów (6,8 %), w tym osoby chore na cukrzycę, deklarowały też inne źródła wiedzy, takie jak: lekarze i poradnie. Według niektórych autorów [9, 18] rodzice są dla dzieci najlepszym źródłem wiedzy o żywieniu. Podkreślają oni też bardziej efektywny w tym zakresie wpływ nauczycieli na rodziców niż na uczniów.

Według Jeżewskiej-Zychowicz [9, 10] sposób żywienia młodzieży szkolnej w dużym stopniu uwarunkowany jest środowiskiem rodzinnym, co wynika z odmiennych systemów wartości, stylu życia, sposobu zaopatrywania się w żywność. Drugim, poza rodziną, środowiskiem wychowawczym jest szkoła, w której w ramach zajęć lekcyjnych i przekazywanej na nich wiedzy żywieniowej, a także poprzez posiłki oferowane w stołówce szkolnej czy w internacie można oddziaływać na zachowania żywieniowe. Autorka ta dowiodła bardziej prawidłowego sposobu żywienia dziewcząt zamieszkałych w czasie roku szkolnego w internacie niż w domu.

Podsumowując, zwyczaje żywieniowe młodzieży, jak wykazano w niniejszych badaniach i na co wskazuje wielu autorów [4, 8, 9, 10, 20], nie w pełni są prawidłowe. Wielu uczniów popełnia szereg błędów żywieniowych, takich jak: niedostateczna liczba posiłków w ciągu dnia, a zwłaszcza nie spożywanie śniadań czy dość monotonna dieta, obejmująca spożywanie kanapek podczas większości posiłków. Cisek i wsp. [4] zwracają uwagę na wzrost częstości występowania nieprawidłowych zachowań żywieniowych w okresie dorastania młodzieży, dlatego też postulują monitorowanie zacho-

wań żywieniowych dorastającej młodzieży. W tym okresie, zwłaszcza dziewczęta, dodatkowo stosują diety redukujące masę ciała, co może powodować określone zaburzenia zdrowotne [20].



Rys. 4. Źródła wiedzy uczniów o prawidłowym żywieniu (n = 1015)

Fig. 4. Sources of school children's knowledge about well-balanced diet (n = 1015)

Należy postulować, aby szkoła bardziej włączała się w kształtowanie prawidłowych nawyków żywieniowych, nie tylko poprzez edukację młodzieży, ale również ich rodziców. Ważne jest zwrócenie uwagi na to, co uczniowie spożywają w szkole na drugie śniadanie, a także kształtowanie prawidłowych nawyków żywieniowych poprzez poprawną organizację stołówki, gdyż jak wskazują badania Klebaniuk [11] nie zawsze oferowane w nich posiłki odpowiadają zalecanym normom dla młodzieży. Niezbędna jest także kontrola asortymentu produktów spożywczych w sklepiku szkolnym, gdyż jak wykazały Urbańska i Czarniecka-Skubina [28], w sklepikach szkolnych brak jest produktów prozdrowotnych, a jest dużo słodczy, przekąsek i dań typu fast-food w niskich cenach, dostępnych dla większości uczniów. Szponar i Turlejska [27] uważają, że posiłek szkolny powinien być integralną częścią procesu nauczania i wychowania.

### **Wnioski**

1. Badania ankietowe dowiodły, że młodzież najczęściej spożywa 3 - 4 posiłki dziennie. Równocześnie, przeważająca część ankietowanych (84 %) pojada pomiędzy posiłkami różnego rodzaju przekąski.
2. Znaczna część badanych uczniów nie potrafi ocenić czy odżywia się zgodnie z zasadami racjonalnego żywienia bądź uznaje swoje nawyki żywieniowe za nieprawidłowe.
3. Informacje żywieniowe młodzież zdobywa za pośrednictwem mediów oraz w domach rodzinnych, rzadziej w szkołach czy w ramach pozalekcyjnych kółek zainteresowań.
4. Niezbędnym wydaje się prowadzenie edukacji żywieniowej wśród młodzieży i ich rodziców, w celu kształtowania prawidłowych nawyków żywieniowych młodzieży i korygowania popełnianych w tym zakresie błędów.

### **Literatura**

- [1] Babicz-Zielińska E., Nazarewicz R., Schlegel-Zawadzka M.: Postrzeganie własnej sylwetki a możliwości występowania zaburzeń w odżywianiu w grupie nastolatków. *Żyw. Człow. Metab.*, 2002, **29**, Supl., 366-370.
- [2] Berg M.Ch., Jonsson J., Conner M.T., Lissner L.: Relation between breakfast food choices and knowledge of dietary fat and fiber among Swedish schoolchildren. *J. Adolesc. Health*, 2002, **31**, 199-207.
- [3] Berkey C.S., Rockett H.R.H., Gillman M.W., Field A.E., Colditz G.A.: Longitudinal study of skipping breakfast and weight change in adolescents. *Int. J. Obes.*, 2003, **27**, 1258-1266.
- [4] Cisek M., Martko H., Schlegel-Zawadzka M.: Ocena sposobu żywienia uczniów w Zubrzycy Górnej. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, **34**, 1/2, 595-601.

- [5] Czarnocińska J., Wądołowska L., Dymkowska M., Szelc M.: Edukacja żywieniowa a dojadanie między posiłkami przez młodzież z Technikum Gastronomicznego. *Nowiny Lekarskie*, 2001, **70**, 9, 1043-1049.
- [6] Gacek M., Fiedor M.: Charakterystyka sposobu odżywiania się młodzieży w wieku 14 - 18 lat. *Rocz. PZH*, 2005, **56**, 1, 49-56.
- [7] Harton A., Sa'eed Bawa, Weker H.: Przyczyny nadwagi i otyłości prostej u młodzieży w wieku 13 – 15 lat – aspekt żywieniowy. *Żyw. Człow. Metab.*, 2002, **29**, Supl., 226-230.
- [8] Jeżewska-Zychowicz M.: Ocena poziomu wiedzy żywieniowej młodzieży w wieku 13 –15 lat w perspektywie prewencji chorób dietozależnych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2004, **31**, Supl., cz. II, 86 - 98.
- [9] Jeżewska-Zychowicz M.: Czynniki warunkujące współczesne zachowania żywieniowe w opinii kobiet. *Żyw. Człow. Metab.*, 1998, **25**, 4, 379-386.
- [10] Jeżewska-Zychowicz M.: Wpływ wybranych czynników środowiskowych na sposób żywienia uczennic szkół gastronomicznych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2002, **29**, Supl., 143-149.
- [11] Klebaniuk R.: Wartość energetyczna i odżywcza obiadów w stołówce szkolnej w zależności od pory roku. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, **34**, 1/ 2, 666-671.
- [12] Kołajtis-Dołowy A., Olechnowicz I.: Rola telewizyjnej reklamy żywności w kształtowaniu postaw i zachowań żywieniowych dzieci. *Żyw. Człow. Metab.*, 2002, **29**, Supl., 360-365.
- [13] Kołajtis-Dołowy A., Pietruszka B., Waszczeniuk-Uliczka M., Chmara-Pawlińska R.: Wybrane zachowania żywieniowe młodzieży gimnazjalnej z Warszawy. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003, **30**, 1/2, 182-187.
- [14] Komosińska K., Woynarowska B., Mazur J.: Zachowania zdrowotne związane z żywieniem u młodzieży szkolnej w Polsce w latach 1990-1998. *Żyw. Człow. Metab.*, 2001, **28**, 1, 17-30.
- [15] Kowieska A., Biel W., Stanisławski A.: Zwyczaje żywieniowe i czynniki wyboru żywności wśród młodzieży szkoły średniej. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, **34**, 1/2, 727-732.
- [16] Matecka M., Głowacka-Rębała A.: Zachowania zdrowotne rodziców a problem otyłości u dzieci. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, **34**, 3/4, 991-996.
- [17] Nicklas T.A., Reger C., Myers L., O'Neil C.: Breakfast consumption with and without vitamin - mineral supplement use favorably impacts daily nutrient intake of ninth-grade students. *J. Adolesc. Health*, 2000, **27**, 314-321.
- [18] Noble C., Corney M., Eves A., Kipps M., Lumbers M.: Food choice and schoolmeals: primary schoolchildrens perceptions of the healthiness of foods and nutritional implications of food choices. *Hospit. Management*, 2000, **19**, 413-432.
- [19] Pietruszka B., Dołowa J., Osypiuk D.: Udział soków i wód mineralnych w spożyciu napojów przez młodzież szkół średnich Płocka i Białej Podlaskiej. *Żyw. Człow. Metab.*, 2002, **29**, Supl., 132-136.
- [20] Piórecka B., Jagielski P., Wójcik K., Żwirska J., Schlegel-Zawadzka M.: Zachowania żywieniowe młodzieży gimnazjalnej w Małopolsce. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, **34**, 1/2, 620-628.
- [21] Rampersaud G.C., Pereira M.A., Girard B.L., Adams J., Metz J.D.: Breakfasts Habits, Nutritional Status, Body Weight, and Academic Performance in Children and Adolescents. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2005, **105**, 5, 743-60.
- [22] Sikora E., Leszczyńska T., Szymański P.: Share of fast food products in dietary behaviour of young people. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57**, 3, 373-380.
- [23] Suliga E.: Ocena częstości spożycia śniadań wśród dzieci wiejskich. *Rocz. PZH*, 2005, **56**, 3, 259-265.
- [24] Szczerbiński R., Karczewski J.: Wybrane zachowania żywieniowe młodzieży szkół ponadgimnazjalnych w powiecie sokólskim. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, **34**, 3/4, 878-884.
- [25] Szczepaniak B., Flaczyk E., Górecka D.: Częstość spożycia wybranych produktów w zależności od sytuacji materialnej młodzieży. *Żyw. Człow. Metab.*, 2002, **29**, Supl., 137-142.



- [26] Szczepańska B., Malczewska-Lenczowska J., Gajewski J.: Zwyczaje żywieniowe młodzieży gimnazjalnej z warszawskiej szkoły mistrzostwa sportowego. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, **34**, 1/2, 578-586.
- [27] Szponar L., Turlejska H.: Aktualne zagadnienia żywienia zbiorowego dzieci i młodzieży w placówkach oświatowo-wychowawczych. *Żywn. Żyw. Zdr.*, 1996, **1**, 21-28.
- [28] Urbańska I., Czarniecka-Skubina E.: Częstotliwość spożycia przez młodzież produktów spożywczych oferowanych w sklepikach szkolnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **3** (52), 193-204.
- [29] Ward-Begnoche W.L., Gance-Cleveland B.: Promoting Behavioral Change in Overweight Youth. *J. Pediat. Health Care*, 2005, **19**, 5, 318-328.

### SOME SELECTED ELEMENTS OF NUTRITIONAL BEHAVIOURS OF SECONDARY SCHOOL CHILDREN

#### S u m m a r y

The objective of the questionnaire survey was to evaluate some selected elements of nutritional behaviours of 1015 secondary school children in Warsaw. The substantial number of the polled could not judge whether or not they ate properly and in accordance with the principles of well-balanced diet or they found their dietary habits to be improper. The secondary school children usually ate 3 - 4 meals a day; the girls cut down, significantly more often than the boys, on the number of their meals per day. A lot of improper dietary habits were found among the secondary school children. More than 80 % of all the respondents ate snacks between main meals. Vegetables were eaten mainly as an addition to lunch/dinner, and only a few children (about 10 %) had vegetables for their afternoon snack and dinner. Many secondary school children did not have their first and second breakfast at all, or they had just bars (of chocolate) for their second breakfast. The secondary schools contribute significantly to forming proper nutritional behaviours of their students, and ca. 30 % of the secondary school children declared to have acquired their knowledge of rational nutrition at school. The results of this questionnaire survey prove that it is indispensable to carry out nutrition education among school children and their parents in order to develop proper diet habits and to rectify mistakes made in this field.

**Key words:** nutritional behaviours, secondary school children, questionnaire survey 

GRAŻYNA MORKIS

## PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP oraz Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 31 grudnia 2008 r.

### *Polskie akty prawne*

1. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 13 listopada 2008 r. w sprawie grzybów dopuszczonych do obrotu lub produkcji przetworów grzybowych oraz środków spożywczych zawierających grzyby oraz uprawnień klasyfikatora grzybów i grzyboznawcy (Dz. U. 2008 r. Nr 218, poz. 139).

Rozporządzenie zawiera:

- wykaz grzybów dopuszczonych do obrotu lub produkcji przetworów grzybowych oraz środków spożywczych zawierających grzyby,
- wykaz przetworów grzybowych dopuszczonych do obrotu oraz cechy dyskwalifikujące,
- warunki skupu, przechowywania i sprzedaży grzybów oraz wymagania technologiczne i warunki przetwarzania, wzory atestów na grzyby świeże i grzyby suszone,
- warunki i tryb uzyskiwania uprawnień klasyfikatora grzybów i grzyboznawcy, w tym ramowe programy kursów specjalistycznych,
- państwowego wojewódzkiego inspektora sanitarnego właściwego do nadawania i pozbawiania uprawnień klasyfikatora grzybów i grzyboznawcy,
- wzory świadectw klasyfikatora grzybów i grzyboznawcy.

### *Unijne akty prawne*

1. Rozporządzenie Komisji (WE) NR 1249/2008 z dn. 10 grudnia 2008 r. ustanawiające szczegółowe zasady wdrożenia wspólnotowych skal klasyfikacji tusz wołowych, wieprzowych i baranich oraz raportowania ich cen (Dz. Urz. UE L 2008 r. Nr 337, s. 3).

Niniejsze rozporządzenie ustanawia m.in. szczegółowe zasady wdrożenia wspólnotowych skal klasyfikacji tusz wołowych, wieprzowych i baranich. Wspólnotowa skala klasyfikacji tusz w sektorze wołowiny i cielęciny ma zastosowanie do tusz dorosłego bydła.

Klasyfikacji i identyfikacji należy dokonać w rzeźni oraz powinna być dokonywana przez wykwalifikowanych rzeczoznawców posiadających odpowiednią licencję.

2. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) NR 1332/2008 z dn. 16 grudnia 2008 r. w sprawie enzymów spożywczych, zmieniające dyrektywę Rady 83/417/EWG, rozporządzenie Rady (WE) nr 1493/1999, dyrektywę 2000/13/WE, dyrektywę Rady 2001/112/WE oraz rozporządzenie (WE) nr 258/97 (Dz. Urz. UE L 2008 r., Nr 354, s. 7).

Rozporządzenie dotyczy enzymów spożywczych stosowanych w środkach spożywczych, w tym enzymów stosowanych jako substancje pomocnicze w przetwórstwie, w celu zapewnienia efektywnego funkcjonowania rynku wewnętrznego, zapewniając wysoki poziom ochrony zdrowia ludzkiego oraz wysoki poziom ochrony konsumentów, z uwzględnieniem interesów konsumentów i uczciwych praktyk w handlu żywnością, w stosownych przypadkach biorąc pod uwagę ochronę środowiska.

Został ustanowiony:

- wspólnotowy wykaz dopuszczonych enzymów spożywczych,
- warunki stosowania enzymów spożywczych w środkach spożywczych,
- zasady etykietowania enzymów spożywczych sprzedawanych jako takie.

3. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) NR 1333/2008 z dn. 16 grudnia 2008 r. w sprawie dotyków do żywności (Dz. Urz. UE L 2008 r., Nr 354, s. 16).

Zostały ustanowione zasady dotyczące dotyków do żywności stosowanych w środkach spożywczych w celu zapewnienia efektywnego funkcjonowania rynku wewnętrznego oraz wysokiego poziomu ochrony zdrowia ludzi, w tym ochrony interesów konsumentów i sprawiedliwych praktyk w handlu żywnością, z uwzględnieniem — w odpowiednich przypadkach — ochrony środowiska.

Rozporządzenie zawiera:

- wspólnotowe wykazy dozwolonych dotyków do żywności,

- warunki stosowania dodatków do żywności w środkach spożywczych, w tym w dodatkach do żywności i w enzymach spożywczych objętych rozporządzeniem (WE) nr 1332/2008 w sprawie enzymów spożywczych oraz w środkach aromatyzujących objętych rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1334/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie środków aromatyzujących i niektórych składników żywności o właściwościach aromatyzujących stosowanych w i na środkach spożywczych,
  - zasady etykietowania dodatków do żywności sprzedawanych jako takie.
4. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) NR 1334/2008 z dn. 16 grudnia 2008 r. w sprawie środków aromatyzujących i niektórych składników żywności o właściwościach aromatyzujących do użycia w oraz na środkach spożywczych oraz zmieniające rozporządzenie Rady (EWG) nr 1601/91, rozporządzenia (WE) nr 2232/96 oraz (WE) nr 110/2008 oraz dyrektywę 2000/13/WE Dz. Urz. UE L 2008 r., Nr 354, s. 34).

Niniejsze rozporządzenie określa przepisy dotyczące środków aromatyzujących i składników żywności o właściwościach aromatyzujących do użycia w i na środkach spożywczych w celu zapewnienia skutecznego funkcjonowania rynku wewnętrznego poprzez zapewnienie wysokiego poziomu ochrony zdrowia ludzi i wysokiego poziomu ochrony konsumentów, w tym ochrony interesów konsumentów oraz uczciwych praktyk w handlu środkami spożywczymi z uwzględnieniem kwestii ochrony środowiska.

Do tych celów niniejsze rozporządzenie ustanowiono:

- wspólnotowy wykaz środków aromatyzujących i materiałów źródłowych zatwierdzonych do użycia w i na środkach spożywczych,
- warunki stosowania środków aromatyzujących i składników żywności o właściwościach aromatyzujących w i na środkach spożywczych,
- przepisy w zakresie etykietowania środków aromatyzujących.

Rozporządzenie ma zastosowanie do środków aromatyzujących stosowanych lub przeznaczonych do stosowania w i na środkach spożywczych; składników żywności o właściwościach aromatyzujących; środków spożywczych zawierających środki aromatyzujące lub składniki żywności o właściwościach aromatyzujących; materiałów źródłowych środków aromatyzujących lub materiałów źródłowych składników żywności o właściwościach aromatyzujących. ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR

### WSPÓŁCZESNY LEKSYKON WIEDZY O ŻYWNOSCI

Prezentujemy 34. część haseł *Współczesnego leksykonu wiedzy o żywności*. Druk leksykonu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 3 (28), 2001.

**ANOKSJA / ANOXIA** – stan niedoboru tlenu w tkankach, co uniemożliwia procesy życiowe na poziomie komórkowym, spowodowany anoksemią lub blokadą wymiany tlenu między krwią a tkankami

**BIĄŁKA C-REAKTYWNE / C-REACTIVE PROTEINS** – grupa białek, których liczba we krwi gwałtownie wzrasta w zakażeniach. Ułatwiają one wiązanie dopełniacza, wpływając w ten sposób na niszczenie i usuwanie czynnika infekcyjnego (fagocytoza). Proces ten nazywa się opsonizacją

**CRACK / CRACK** – wysoce oczyszczona kokaina o szybkim i silnym działaniu. Jest zdecydowanie bardziej niebezpieczna niż postacie o mniejszym stężeniu, a jej zażycie może spowodować zgon

**HIPERALIMENTACJA / SUPERALIMENTATION** – przyjmowanie pokarmów w ilościach przewyższających normę; całkowite żywienie pozajelitowe (dożylne)

**HIPOALBUMINEMIA / HYPOALBUMINAEMIA** – stan nadmiernego rozpadu białek z niedożywienia powstały np. wskutek rozległych obrażeń czy oparzeń, przy jednocześnie na tyle niskiej podaży białka, że organizm nie jest w stanie utrzymać prawidłowego stężenia albumin we krwi. Stan ten nazywany jest czasami kwashiorkorem dorosłych

**HYDROPATIA / HYDROPATHY** – forma medycyny alternatywnej, w której stosuje się wodę z przypisanymi jej zdolnościami leczniczymi, zewnątrznie lub wewnątrznie, z zamiarem leczenia chorób lub poprawy stanu zdrowia

**MEDIATOR / MEDIATOR** – kompleks złożony z około 20 białek, który działa jako koaktywator transkrypcji u eukariontów. Białka wchodzące w skład tego kompleksu mogą wiązać się z różnymi aktywatorami transkrypcji, stabilizują wiązania białka TBP do promotora, a także oddziałują z polimerazą RNA, którą mogą fosforyzować dzięki swojej aktywności kinezy

**NORMOKSJA / NORMOXIA** – prawidłowa zawartość tlenu w tkankach ciała

**SZOK ŻYWIENIOWY / REFEEDING SYNDROME** – szok żywieniowy powstaje u chorych głęboko niedożywionych lub długotrwałe głodzonych. To powikłanie metaboliczne może występować zarówno u chorych z żywieniem dojelitowym, jak i pozajelitowym

**TRANSFEKCJA / TRANSFECTION** – w genetyce wprowadzenie kwasu nukleinowego pochodzącego z wirusa (bądź bakteriofagu) w wyniku czego powstaje wirion, zdolny do wytworzenia wirusa w komórkach organizmu ☒

## NOWE KSIĄŻKI

### **Food Emulsifiers and their Applications**

[Emulgatory żywności i ich zastosowania]

Hasenhuettl G.L., Hartel R.W., University of Wisconsin, USA

Wydawnictwo: Springer, 2008, ISBN 9780387752839, stron 430, cena 62,95 €

Zamówienia: [www.springer.com](http://www.springer.com)

W książce zawarto wiadomości teoretyczne dotyczące emulgatorów żywności oraz praktyczne aspekty ich stosowania w układach żywnościowych. Omówiono zagadnienia z zakresu projektowania i produkcji emulgatorów, ich analizy, właściwości fizycznych, interakcji z innymi składnikami żywności i zastosowań emulgatorów w przetwarzanej żywności. Autorzy dokonali też charakterystyki postępu w produkcji żywności, uwzględniającego nowoczesne techniki przetwarzania.

Omawiana pozycja przeznaczona jest głównie dla technologów żywności oraz pracowników naukowych działów badawczo-rozwojowych i rozwoju produktu.

### **Food Materials Science**

[Nauka o materiałach spożywczych]

Aguilera J.M., Pontificia Universidad Catolica de Chile, Santiago, Chile

Lillford P.J., University of York, Heslington, UK

Wydawnictwo: Springer, 2008, ISBN 9780387719467, stron 622, cena 114,95 €

Zamówienia: [www.springer.com](http://www.springer.com)

Produkcja żywności polega na wytwarzaniu miliardów jednostek standaryzowanych produktów, które muszą być tanie, odżywcze, atrakcyjne i bezpieczne dla konsumenta. Produkty spożywcze to złożone, wieloskładnikowe i ustrukturuwane jadalne materiały, które muszą jednak spełniać prawa fizyki i podstawy nauk technicznych. Autorzy podjęli się naukowego opracowania zagadnień związanych z procesami strukturyzacji materiałów spożywczych i zastosowaniami tych procesów w projektowaniu produktów żywnościowych. Strukturyzacja w przetwórstwie żywności tworzy bowiem tzw. wartość dodaną do surowców spożywczych i stanowi podstawę nowoczesnego przemysłu spożywczego. Dodawanie wartości do artykułów spożywczych wymaga wiedzy o tym, czego chce konsument i tworzenia produktów, które zaspokajają ten popyt. Jakość,

wygoda i bezpieczeństwo, to główne siły napędowe nowoczesnego przemysłu spożywczego. Książka jest przeznaczona dla osób zainteresowanych postrzeganiem technologii żywności jako sposobu konserwowania, przekształcania i tworzenia struktur w artykułach spożywczych oraz związanymi z tym aspektami nauki o materiałach.

### **Wytwarzanie i zastosowanie rozpylonej cieczy**

Orzechowski Z., Prywer J

Wydawnictwo: WNT, Warszawa 2008, ISBN 978-83-204-3416-3, stron 368, cena 34,20 zł

Rozpylanie cieczy jest jednym z najczęściej realizowanych procesów w różnych dziedzinach życia i gospodarki, w tym w technologii żywności. Autorzy przedstawili wiedzę dotyczącą sposobów wytwarzania rozpylonej cieczy, wykorzystywania jej w praktyce oraz zastosowania nowoczesnych rozpylaczy i urządzeń rozpylających. Ze względu na sposób ujęcia tematu książka stanowi unikatową pozycję w piśmiennictwie z dziedziny rozpylania cieczy i konstrukcji rozpylaczy. Może posłużyć studentom wielu różnych kierunków studiów na uczelniach technicznych i rolniczych oraz pracownikom naukowo-technicznym zajmującym się konstruowaniem rozpylaczy i kontrolą skuteczności ich działania.

### **Technika ekstruzji w przemyśle rolno-spożywczym**

Mitrus M., Mościcki L., Wójtowicz A.

Wydawnictwo: PWRiL, Warszawa 2008, ISBN 9788309010272, stron 222, cena 51,00 zł

Ekstruzja zdobywa coraz większą popularność w światowym przetwórstwie rolno-spożywczym, zwłaszcza wśród producentów żywności i pasz. W podręczniku autorzy przybliżyli czytelnikom zagadnienia tej stosunkowo nowej dziedziny produkcji, ze szczególnym uwzględnieniem aspektów praktycznych, to jest procesów technologicznych różnorodnych ekstrudatów oraz maszyn i urządzeń niezbędnych do ich wytwarzania. Przedstawiono też zalecenia o charakterze czysto eksploatacyjnym. Lektura książki pozwoli nie tylko na poznanie aspektów inżynierijno-technologicznych wyrobów ekstrudowanych, ale także ułatwi producentom podjęcie decyzji o ewentualnym wdrożeniu tej techniki w swoich zakładach przetwórczych.

Podręcznik przeznaczony jest dla pracowników naukowych, studentów, kadry inżynierijno-technicznej oraz technologów studiujących lub zajmujących się w swej pracy zawodowej zagadnieniami z zakresu inżynierii rolniczej, technologii żywności, inżynierii procesowej oraz dyscyplin pokrewnych.



**Żywność genetycznie zmodyfikowana. Aspekty prawne**

Wrześniewska-Wal I.

Wydawnictwo: Wyd. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa 2008, ISBN 978-83-235-0561-7, stron 244, cena 37,00 zł

Ryzyko związane z wprowadzaniem żywności GMO do obrotu stanowi wystarczający argument przemawiający za stosowaniem reżimu prawnego w tym zakresie. Wprowadzanie do obrotu żywności GMO jest objęte prawem międzynarodowym, wspólnotowym i krajowym. Regulacje te mają na celu respektowanie praw podstawowych, w tym prawa do ochrony zdrowia oraz innych dóbr publicznych, takich jak ochrona środowiska, bezpieczeństwo obywateli oraz rzetelna informacja.

Autorka wskazuje, że obowiązywanie obszernych, restrykcyjnych regulacji samo przez się nie wzmacni zaufania obywateli do instytucji wspólnotowych, a co za tym idzie, do procedury wydawania zezwoleń na wprowadzanie do obrotu żywności GMO. Dopiero skuteczność regulacji minimalizujących ryzyko, w szczególności dostępność środków dochodzenia swych praw przez uczestników rynku w praktyce stosowania prawa, może przynieść oczekiwane i konkretne wyniki.

Opracował: *Stanisław Popek*

## TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

### INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 18 Nr 6

grudzień 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. Trwają prace nad przygotowaniem elektronicznego czasopisma propagującego wiedzę na temat żywności i żywienia.

#### WAŻNIEJSZE MIĘDZYNARODOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2009 r.

##### Kwiecień

- 1 – 3 ROMA, Italy = The 3<sup>rd</sup> International IUPAC Symposium on Trace Elements in Food (TEF-3)  
[www.tef3-2009.it](http://www.tef3-2009.it)  
Contact: e-mail: [lupac2009@fasiweb.com](mailto: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 **WROCLAW, 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](http://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. Sławy, POZMET S.A., Poznań.**

Przy Oddziale Wrocławskim: **REGIS Wieliczka.**

---

*Material zawarty w Nr 6 (61)/2008 Biuletynu podano według stanu informacji do 10 grudnia 2008 r. Materiały do Nr 1 (62) /2009 prosimy nadsyłać do 1 lutego 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](http://www.pttz.org)

**SPIS TREŚCI**  
**CZASOPISMA „ZYWNOSC”**  
**NR 56–61**

**Wykaz opublikowanych materiałów**

**Nr 56**

Od Redakcji .....	3
<i>Tadeusz Kołczak</i> : Jakość wołowiny .....	5
<i>Marek Sikora, Magdalena Krystyjan</i> : Interakcje skrobi różnego pochodzenia botanicznego z nieskrobiowymi hydrokoloidami polisacharydowymi .....	23
<i>Dorota Galkowska, Teresa Fortuna</i> : Charakterystyka żeli sporządzonych ze skrobi ziemniaczanej z udziałem wybranych sacharydów .....	41
<i>Zbigniew Rzedzicki, Anna Wirkijowska</i> : Charakterystyka składu chemicznego przetworów jęczmiennych ze szczególnym uwzględnieniem składu frakcyjnego błonnika pokarmowego .....	52
<i>Agnieszka Nawirska, Anna Sokół-Lętowska, Alicja Z. Kucharska, Anita Biesiada, Malwina Bednarek</i> : Porównanie zawartości frakcji włókna pokarmowego w odmianach dyni z gatunku <i>Cucurbita maxima</i> i <i>Cucurbita pepo</i> .....	65
<i>Anna Stasiak, Aneta Ulanowska</i> : Aktywność przeciwutleniająca nowych odmian fasoli ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	74
<i>Marian Remiszewski, Małgorzata Kulczak, Krzysztof Przygoński, Eugeniusz Korbas, Maria Jeżewska</i> : Zmiany aktywności przeciwutleniającej nasion fasoli kolorowej ‘Red Kidney’ ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) pod wpływem różnych form obróbki hydrotermicznej .....	83
<i>Mirosława Szlachta, Maria Malecka</i> : Właściwości przeciwutleniające herbatek owocowych.....	92
<i>Dariusz Klódka, Maciej Bońkowski, Arkadiusz Telesiński</i> : Zawartość wybranych metyloksantyn i związków fenolowych w naparach różnych rodzajów herbat rozdrobnionych ( <i>dust</i> i <i>fannings</i> ) w zależności od czasu parzenia .....	103
<i>Eugenia Czernyszewicz</i> : Ważność wybranych cech jakościowych jabłek dla konsumentów.....	114
<i>Jerzy Szpendowski, Emil Szymański, Monika Białobrzewska, Agnieszka Kwiatkowska</i> : Wpływ dodatku chlorku wapnia i ogrzewania mleka na skład chemiczny i wartość odżywczą sera salami .....	126
<i>Piotr Pokrzywa, Ewa Cieślik</i> : Ocena sposobu żywienia pacjentów w szpitalach województwa małopolskiego.....	138
<i>Wiesław Łukasiński</i> : Zarządzanie jakością produktu ekologicznego.....	146
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....	154
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Dagmara Mierzejewska</i> : Współczesny leksykon wiedzy o żywności.....	156
<i>Stanisław Poppek</i> : Nowe książki .....	157
Technolog Żywności .....	161

**Nr 57**

Od Redakcji .....	3
<i>Ewa Cieślak, Agnieszka Niedośpiel, Barbara Mickowska</i> : Wykorzystanie elektroforezy kapilarnej w analizie żywności .....	5
<i>Marek Gibiński</i> : $\beta$ -glukany owsa jako składnik żywności funkcjonalnej .....	15
<i>Agnieszka Kościelny, Marek Gibiński</i> : Charakterystyka skrobi owsianych pochodzących z różnych form owsa .....	30
<i>Anna Diowksz, Danuta Sucharzewska, Wojciech Ambroziak</i> : Wpływ składu mieszanek skrobiowych na właściwości chleba bezglutenowego .....	40
<i>Anna Korus, Waldemar Kmiecik, Zofia Lisiewska</i> : Wpływ czasu i temperatury przechowywania na jakość apertyzowanej masy makowej .....	51
<i>Dorota Zaręba, Małgorzata Ziarno, Mieczysław Obiedziński, Anna Bzducha</i> : Profil lotnych związków modeli mleka niefermentowanego i fermentowanego przez bakterie jogurtowe .....	60
<i>Ewa Stasiuk, Piotr Przybyłowski</i> : Wpływ zmodyfikowanego sposobu stosowania $\text{KNO}_3$ na przemiany azotanów (V) i (III) podczas dojrzewania sera tykocińskiego .....	74
<i>Roman Niedziółka, Krystyna Pieniak-Lendzion, Elżbieta Horoszewicz, Grażyna Remiszewska</i> : Wpływ nasion lnu na wartość rzeźną i jakość mięsa koziołków rasy białej uszlachetnionej .....	86
<i>Grażyna Krasnowska, Anna Salejda</i> : Wybrane cechy jakościowe tłuszczu pochodzącego z tusz tuczników różnych grup genetycznych .....	95
<i>Ewa Majewska</i> : Walidacja wybranych metod oznaczania aspartamu w słodzikach .....	106
<i>Eugenia Czernyszewicz</i> : Zastosowanie analizy głównych składowych do opisu konsumenckiej struktury jakości jabłek .....	119
<i>Anna Bogacka, Beata Nawrot, Milena Gryza, Edyta Balejko, Elżbieta Kucharska</i> : Ocena znajomości i przestrzegania zasad diety śródziemnomorskiej u pacjentów przychodni kardiologicznych .....	128
<i>Teresa Leszczyńska, Elżbieta Sikora, Renata Bieżanowska-Kopeć, Katarzyna Pysz, Estera Nowacka</i> : Ocena prawidłowości bilansowania składu racji pokarmowych osób starszych zamieszkujących w wybranych domach pomocy społecznej oraz w zakładzie opiekuńczo-leczniczym .....	140
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....	155
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Dagmara Mierzejewska</i> : Współczesny leksykon wiedzy o żywności .....	158
<i>Stanisław Popek</i> : Nowe książki .....	160
Technolog Żywności .....	163

**Nr 58**

Od Redakcji .....	3
<i>Katarzyna Kycia</i> : Czynniki kształtujące teksturę serów topionych .....	5
<i>Dorota Zaręba, Mieczysław Obiedziński, Małgorzata Ziarno</i> : Porównanie profilu lotnych związków mleka fermentowanego i niefermentowanego przez bakterie jogurtowe i szczepy probiotyczne .....	18
<i>Grażyna Krasnowska, Anna Salejda</i> : Czynniki wpływające na wybór mlecznych napojów fermentowanych przez studentów Wrocławia .....	33
<i>Małgorzata Nogala-Kalucka, Jan Pikul, Aleksander Siger</i> : Zastosowanie chromatografii cieczowej w badaniach autentyczności masła .....	47

<i>Katarzyna Śmiecińska, Stanisław Wajda</i> : Jakość mięsa krów zaliczonych w klasyfikacji poubojowej EUROP do różnych klas .....	57
<i>Hanna Miszkiewicz, Joanna Okrajni, Stanisław Bielecki</i> : Zmiany zawartości oraz aktywności przeciwutleniającej polifenoli i albumin grochu podczas fermentacji w bioreaktorze SSSR .....	67
<i>Anna Ciołek, Ewa Makarska, Bogusław Makarski</i> : Zawartość wybranych składników żywieniowych w ziarnie owsa czarnego i żółtoziarnistego .....	80
<i>Danuta Górecka, Jacek Aniola, Krzysztof Dziedzic, Patrycja Ławniczak</i> : Wpływ stopnia rozdrobnienia mikronizowanych preparatów wysokobłonnikowych na ich wybrane właściwości funkcjonalne .....	89
<i>Magdalena Michalczyk, Ryszard Macura</i> : Wpływ warunków przechowywania na jakość wybranych, dostępnych w obrocie handlowym, mało przetworzonych produktów warzywnych .....	96
<i>Barbara Sokołowska, Łucja Łaniewska-Trokenheim</i> : Zastosowanie zautomatyzowanego analizatora mikrobiologicznego Bact/Alert® 3D (Biomerieux) do wykrywania <i>Alicyclobacillus sp.</i> w zagęszczonych sokach jabłkowych .....	108
<i>Przemysław Dmowski, Maria Śmiechowska</i> : Wykorzystanie włókna surowego do wykrywania zafałszowań w herbacie .....	116
<i>Magdalena Mika, Barbara E. Borczak, Agnieszka Wikiera</i> : Wpływ temperatury przygotowania ekstraktów herbaty białej na skład flawan-3-oli i ich oddziaływanie na dostępność składników odżywczych z pasztetu mięsnego .....	123
<i>Marek Nowak, Tadeusz Trziszka, Julia Otto</i> : Pozycja jakości posiłków wśród czynników kształtujących preferencje nabywców usług gastronomicznych .....	132
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....	141
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Dagmara Mierzejewska</i> : Współczesny leksykon wiedzy o żywności .....	145
<i>Stanisław Poppek</i> : Nowe książki .....	147
<i>Edward Pospiech</i> : Z żalobnej karty: Prof. dr dr h.c. Wincenty Pezacki 1914 – 2008 .....	149
Technolog Żywności .....	153

## Nr 59

Od Redakcji .....	3
<i>Adriana Nowak, Zdzisława Libudzisz</i> : Karcynogeny w przewodzie pokarmowym człowieka .....	9
<i>Danuta Jaworska, Leszek Hejduk</i> : Instrumentalna metoda oceny gładkości jogurtu naturalnego .....	26
<i>Elwira Worobiej, Aneta Wujkowska, Beata Drużyńska, Rafał Wołosiak</i> : Aktywność przeciwutleniająca handlowych preparatów białek serwatkowych .....	35
<i>Wiesław Przybylski, Danuta Jaworska, Ewa Czarniecka-Skubina, Katarzyna Kajak-Siemaszko</i> : Ocena możliwości wyodrębniania mięsa kulinarnego o wysokiej jakości z uwzględnieniem mięsności tuczników, pomiaru barwy i pH z zastosowaniem analizy skupień .....	43
<i>Krzysztof Dasiewicz, Andrzej Pisula, Mirosław Słowiński, Adam Noga</i> : Zastosowanie komputerowej analizy obrazu do szacowania jakości peklowanego drobnego mięsa wieprzowego klasy II .....	52
<i>Mirosława Krzywdzińska-Bartkowiak, Włodzimierz Dolata, Michał Piątek, Krystian Michalski</i> : Wpływ wymiany tłuszczu zwierzęcego tłuszczem roślinnym i błonnikiem pokarmowym na jakość farszów i kiełbas drobno rozdrobnionych .....	61
<i>Dorota Derewiaka, Mieczysław Obiedziński, Katarzyna Robak</i> : Zawartość tłuszczu, cholesterolu oraz produktów utleniania cholesterolu w farszu pierogów mięsnych podczas przechowywania chłodniczego i zamrażalniczego .....	68

<i>Jolanta Kowalska, Anna Bzducha, Dorota Derewiaka, Katarzyna Kopańska, Aneta Nitek</i> : Ocena autentyczności wybranych czekolad .....	74
<i>Małgorzata Wroniak, Małgorzata Łubian</i> : Ocena stabilności oksydacyjnej olejów rzepakowego i słonecznikowego tłoczonych na zimno z dodatkiem ekstraktu z oregano w cieście Rancimat i termostatowym .....	80
<i>Anna Żbikowska, Jarosława Rutkowska</i> : Skład kwasów tłuszczowych a jakość i przydatność technologiczna tłuszczów do pieczenia .....	90
<i>Katarzyna Ratusz, Magdalena Wirkowska</i> : Udział izomerów trans kwasów tłuszczowych w wybranych wyrobach ciastkarskich i chipsach ziemniaczanych .....	96
<i>Jacek Aniola, Elżbieta Piotrowska, Katarzyna Walczak, Danuta Górecka</i> : Zastosowanie mikronizowanych preparatów wysokobłonnikowych w wyrobach ciastkarskich .....	103
<i>Teresa Fortuna, Izabela Przetaczek</i> : Wpływ sacharozy i jej zamienników na wybrane reologiczne właściwości handlowych skrobi modyfikowanych .....	111
<i>Jolanta Krzyczkowska, Izabela Stolarzewicz, Ewa Bialecka-Florjańczyk</i> : Badanie katalitycznego działania drożdży piekarskich <i>Saccharomyces cerevisiae</i> w reakcji hydrolizy estrów z wykorzystaniem chromatografii gazowej .....	124
<i>Katarzyna Marciniak-Łukasiak, Marta Skrzypacz</i> : Koncentrat chleba bezglutenowego z dodatkiem mąki z szarłatku .....	131
<i>Przemysław Krawczyk, Alicja Ceglińska, Karolina Izdebska</i> : Porównanie właściwości reologicznych ciasta i jakości pieczywa otrzymanego z mąki orkiszowej i pszenicy zwyczajnej .....	141
<i>Ewa Gondek, Agata Marzec</i> : Zależności pomiędzy wybranymi wyróżnikami tekstury pieczywa chrupkiego wyznaczonymi instrumentalnie i sensorycznie .....	152
<i>Agata Marzec, Ewa Jakubczyk, Grażyna Cacak-Pietrzak</i> : Próba zastosowania metody emisji akustycznej do badania ziarna wybranych odmian pszenicy jarej i ozimej .....	161
<i>Hanna Mojska, Iwona Gielecińska, Lucjan Szponar</i> : Badania nad zawartością akryloamidu w przetworach zbożowych .....	168
<i>Ewa Gondek, Piotr P. Lewicki</i> : Ruch wilgoci w mieszankach typu muesli .....	173
<i>Hanna Kowalska</i> : Wpływ temperatury na wymianę masy w jabłkach odwadnianych osmotycznie w roztworze sacharozy .....	181
<i>Monika Janowicz, Ewa Domian, Andrzej Lenart, Wanda Pomarańska-Łazuka</i> : Charakterystyka suszenia konwekcyjnego jabłek odwadnianych osmotycznie w roztworze sacharozy .....	190
<i>Ewa Jakubczyk, Edyta Wnorowska</i> : Wpływ temperatury powietrza na przebieg suszenia spienionego zagęszczonego soku jabłkowego .....	199
<i>Karolina Lentas, Dorota Witrowa-Rajchert</i> : Wpływ warunków blanszowania tkanki selera na właściwości teksturalne suszu .....	207
<i>Dariusz Piotrowski, Joanna Biront, Andrzej Lenart</i> : Barwa i właściwości fizyczne odwadnianych osmotycznie i suszonych sublimacyjnie truskawek .....	216
<i>Dorota Nowak, Marcin Kidoń, Magdalena Syta</i> : Ocena zmian właściwości przeciwutleniających suszy buraka ćwikłowego i selera w zależności od zastosowanych operacji jednostkowych .....	227
<i>Dorota Nowak, Magdalena Syta</i> : Kinetyka sorpcji pary wodnej przez susze z buraka ćwikłowego jako narzędzie oceny ich jakości .....	236
<i>Sylwia Skąpska, Lubomiła Owczarek, Urszula Jasińska, Aurelia Halasińska, Joanna Danielczuk, Barbara Sokolowska</i> : Zmiany pojemności przeciwutleniającej grzybów jadalnych w procesie kisenia .....	243

<i>Róża Biegańska-Marecik, Dorota Walkowiak-Tomczak, Elżbieta Radziejewska-Kubzdela</i> : Zmiany zawartości azotanów(V) i (III) w szpinaku mało przetworzonym, pakowanym i przechowywanym w atmosferze modyfikowanej .....	251
<i>Elżbieta Radziejewska-Kubzdela, Dorota Walkowiak-Tomczak, Róża Biegańska-Marecik</i> : Wpływ pakowania i przechowywania w atmosferze modyfikowanej na zawartość azotanów(V) i (III) w sałatce warzywnej typu coleslaw oraz na jej cechy sensoryczne i fizykochemiczne .....	261
<i>Arkadiusz Szterk, Ewa Sosińska, Mieczysław W. Obiedziński, Piotr P. Lewicki</i> : Metoda otrzymywania preparatu naturalnego $\alpha$ - i $\beta$ -karotenu z marchwi .....	269
<i>Arkadiusz Szterk, Piotr Szterk, Piotr P. Lewicki</i> : Detekcja nadtlenku wodoru chemiluminometrem własnej konstrukcji .....	275
<i>Marta Ciecierska, Mieczysław Obiedziński, Marta Albin</i> : Zanieczyszczenie herbatek owocowych i ziołowych wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi .....	283
<i>Rafał Wołosiak, Marta Mazurkiewicz, Beata Drużyńska, Elwira Worobiej</i> : Aktywność przeciwutleniająca wybranych herbat zielonych .....	290
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....	298
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Anna Wociór</i> : Współczesny leksykon wiedzy o żywności .....	301
<i>Stanisław Poppek</i> : Nowe książki .....	303
Technolog Żywności .....	307

## Nr 60

Od Redakcji .....	3
<i>Paulina Krysińska, Dorota Galkowska, Teresa Fortuna</i> : Charakterystyka układów skrobi modyfikowanych uzyskanych z kukurydzy woskowej .....	9
<i>Agata Wojciechowicz, Zygmunt Gil, Małgorzata Kapelko, Tomasz Zięba</i> : Wpływ dodatku skrobi odpornej na właściwości ciasta i jakość pieczywa pszennego .....	24
<i>Anna Ostasiewicz, Alicja Ceglińska, Sylwia Skowronek</i> : Wpływ warunków prowadzenia zakwasu na jakość pieczywa żytniego .....	34
<i>Przemysław Krawczyk, Alicja Ceglińska, Julita Kardialik</i> : Porównanie wartości technologicznej ziarna orkisz z pszenicą zwyczajną .....	43
<i>Karolina Christa, Maria Soral-Śmietana</i> : Wpływ procesu prażenia na dostępność enzymatyczną białek ziarniaków gryki zwyczajnej ( <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench) .....	52
<i>Krzysztof Dziedzic, Danuta Górecka, Agnieszka Drożdżyńska, Katarzyna Czaczyk</i> : Wpływ procesu otrzymywania kaszy gryczanej prażonej na zawartość wybranych składników odżywczych .....	63
<i>Kinga Stuper, Juliusz Perkowski</i> : Zawartość ergosterolu w zbożowych produktach spożywczych .....	71
<i>Agnieszka Zembold-Gula, Józef Błażewicz, Katarzyna Wojewódzka</i> : Związki białkowe w brzeczkaach piwnych wytwarzanych z dodatkiem nieoplewionego ziarna jęczmienia .....	78
<i>Patrycja Kłos, Anna Łoza, Eleonora Lampart-Szczapa, Jacek Karczewski</i> : Ocena lektynopodobnych właściwości globulin z nasion łubinu wąskolistnego ( <i>Lupinus angustifolius</i> , odm. Baron) .....	86
<i>Magdalena Grudzińska, Kazimiera Zgórska</i> : Wpływ warunków meteorologicznych na zawartość azotanów(V) w bulwach ziemniaka .....	98



<i>Magdalena Grudzińska, Kazimiera Zgórska</i> : Wpływ zawartości cukrów w bulwach ziemniaka na barwę czipsów .....	107
<i>Agata Pękosławska, Andrzej Lenart</i> : Wpływ stężenia i temperatury syropu skrobiowego na przebieg odwadniania osmotycznego dyni .....	116
<i>Dorota Zielińska, Danuta Kolożyn - Krajewska, Antoni Goryl</i> : Modele przeżywalności bakterii potencjalnie probiotycznych <i>Lactobacillus casei</i> KN291 w fermentowanym napoju sojowym .....	126
<i>Joanna Kolniak</i> : Wpływ sposobu zamrażania, rozmrażania oraz dodatków kriochronnych na zawartość polifenoli ogółem, antocyjanów i pojemność przeciwutleniającą mrożonek truskawkowych .....	135
<i>Stanisław Kalisz</i> : Wpływ sposobu otrzymywania soków truskawkowych na zawartość antocyjanów i barwę .....	149
<i>Andrzej Gasik, Marta Mitek, Stanisław Kalisz</i> : Wpływ procesu maceracji oraz warunków przechowywania na aktywność przeciwutleniającą i zawartość wybranych składników w soku z owoców derenia ( <i>Cornus mas</i> ) .....	161
<i>Małgorzata Przybyt, Joanna Biernasiak</i> : Zastosowanie biosensorów do oznaczania mleczanów w owocowych sokach komercyjnych i koncentratkach .....	168
<i>Karolina Lentas, Dorota Witrowa-Rajchert</i> : Wpływ wstępnego nasycania jonami wapnia na wybrane właściwości suszu jabłkowego .....	178
<i>Dorota Zaręba</i> : Przeżywalność probiotycznego szczepu <i>Lactobacillus acidophilus</i> w mleku niefermentowanym i fermentowanym .....	189
<i>Dorota Zaręba, Małgorzata Ziarno, Beata Strzelczyk</i> : Przeżywalność bakterii fermentacji mlekowej w warunkach modelowych jelita cienkiego .....	197
<i>Emilia Janiszewska, Dariusz Cupiał, Dorota Witrowa-Rajchert</i> : Wpływ parametrów suszenia rozpyłowego na jakość hydrolizatu białkowego .....	206
<i>Maciej Nastaj, Waldemar Gustaw</i> : Wpływ wybranych prebiotyków na właściwości reologiczne jogurtu stałego .....	217
<i>Bartosz Solowiej, Waldemar Gustaw, Maciej Nastaj</i> : Wpływ dodatku koncentratów białek serwatkowych na właściwości reologiczne analogów serów topionych .....	226
<i>Justyna Gromadzka, Waldemar Wardencki</i> : Dobór optymalnych parametrów metody UV-HS-SPME/GC/FID do oceny stabilności oksydacyjnej olejów roślinnych .....	235
<i>Katarzyna Jędrzejkiewicz, Krzysztof Krygier</i> : Zastosowanie gazów inertnych do poprawy stabilności oksydacyjnej oleju rybiego, rzepakowego i ich mieszaniny .....	248
<i>Magdalena Kostecka</i> : Charakterystyka mieszaniny tłuszczu drobiowego z olejem rzepakowym przed i po przeestryfikowaniu enzymatycznym .....	257
<i>Magdalena Wirkowska, Joanna Bryś, Bolesław Kowalski</i> : Wpływ aktywności wody na stabilność hydrolityczną i oksydacyjną tłuszczu wyekstrahowanego z ziaren kukurydzy .....	273
<i>Małgorzata Karwowska</i> : Wpływ zastosowania ekstraktu lucerny w żywieniu świń na barwę mięsa .....	282
<i>Joanna Stadnik</i> : Wpływ sonikacji wieprzowego mięsa PSE na zmiany powierzchni hydrofobowej białek miofibrylarnych .....	289
<i>Jolanta Krzyczkowska, Izabela Stolarzewicz, Dominika Bellok, Małgorzata Bellok, Ewa Białecka-Florjańczyk</i> : Wpływ modyfikacji pożywki na biokatalityczne właściwości drożdży .....	299
<i>Alicja Kośmider, Kamila Myszka, Katarzyna Czaczyk</i> : Ograniczona dostępność składników odżywczych w środowisku jako induktor wzrostu oporności drobnoustrojów na czynniki antymikrobiologiczne .....	307

<i>Iwona Namysław, Ewa Czarniecka-Skubina, Ingrid Wachowicz</i> : Ocena prawidłowości przygotowania potraw z warzyw i ziemniaków w warunkach domowych.....	319
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....	335
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Anna Wociór</i> : Współczesny leksykon wiedzy o żywności .....	336
<i>Stanisław Popek</i> : Nowe książki .....	338
Technolog Żywności .....	341

## Nr 61

Od Redakcji .....	3
<i>Ewa Bialecka-Florjańczyk</i> : Rola fazy ciekłokrystalicznej w procesach przetwarzania żywności.....	5
<i>Anna Wociór, Henryk Kostyra, Małgorzata Kuśmierczyk</i> : Lektyny żywności .....	16
<i>Adriana Nowak, Zdzisława Libudysz</i> : Karcynogenna aktywność mikroorganizmów jelitowych .....	25
<i>Joanna Tomczyk, Anna Olejnik, Katarzyna Kowalska, Wojciech Białas, Włodzimierz Grajek</i> : Ocena aktywności cytotoksycznej ekstraktów fasolowo-kukurydzianych względem nowotworowych komórek nabłonka jelitowego.....	40
<i>Joanna Klepacka, Lucja Fornal</i> : Określenie zależności między zawartością wybranych związków fenolowych a wartością przemiałową ziarna pszenicy .....	55
<i>Marek Gibiński</i> : Charakterystyka chemiczna i żywieniowa hydrolizatów owsianych o niskim stopniu scukrzenia .....	65
<i>Beata Drużyńska, Izabela Strzecha, Rafał Wołosiak, Elwira Worobiej</i> : Zawartość wybranych związków biologicznie aktywnych w ekstraktach z suszonych moreli oraz ich właściwości przeciwutleniające.....	77
<i>Magdalena Mika, Agnieszka Wikiera, Krzysztof Żyła</i> : Wpływ czasu i temperatury ekstrakcji na zawartość katechin w wodnych ekstraktach herbaty białej .....	88
<i>Edward Kołakowski, Marek Wianecki, Iwona Milewska</i> : Temperatura cieplnej koagulacji białek mięśniowych ryb i zwierząt rzeźnych wybranych gatunków .....	95
<i>Marek Adamczak, Włodzimierz Bednarski</i> : Enzymatyczna synteza galaktooligosacharydów i laktulozy w permeacie po ultrafiltracji serwatki .....	105
<i>Jacek Domagała, Monika Wszolek</i> : Wpływ sposobu zagęszczania oraz rodzaju szczepionki na teksturę i podatność na synerezę jogurtu i biojogurtów z mleka koziego.....	118
<i>Ewa Czarniecka-Skubina, Iwona Namysław</i> : Wybrane elementy zachowań żywieniowych uczniów szkół średnich .....	129
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....	144
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra, Anna Wociór</i> : Współczesny leksykon wiedzy o żywności .....	147
<i>Stanisław Popek</i> : Nowe książki .....	149
Technolog Żywności .....	152
Spis treści czasopisma „Żywność” Nr 56–61 .....	154
Wykaz nazwisk Autorów w 2008 roku.....	161
Wykaz nazwisk Recenzentów w 2008 roku .....	165

## WYKAZ NAZWISK AUTORÓW W 2008 ROKU

- Adamczak M.* 61/105  
*Albin M.* 59/283  
*Ambroziak W.* 57/40  
*Anioła J.* 58/89, 59/103  
*Balejko E.* 57/128  
*Bednarek M.* 56/65  
*Bednarski W.* 61/105  
*Bellok D.* 60/299  
*Bellok M.* 60/299  
*Białas W.* 61/40  
*Bialecka-Florjańczyk E.* 59/124, 60/299, 61/5  
*Białobrzewska M.* 56/126  
*Biegańska-Marecik R.* 59/251, 59/261  
*Bielecki S.* 58/67  
*Biernasiak J.* 60/168  
*Biesiada A.* 56/65  
*Bieżanowska-Kopeć R.* 57/140  
*Biront J.* 59/216  
*Błażewicz J.* 60/78  
*Bogacka A.* 57/128  
*Bońkowski M.* 56/103  
*Borczak B.E.* 58/123  
*Bryś J.* 60/273  
*Bzducha A.* 57/60, 59/74  
*Cacak-Pietrzak G.* 59/161  
*Ceglińska A.* 59/141, 60/34, 60/43  
*Christa K.* 60/52  
*Ciecierska M.* 59/283  
*Cieślik E.* 56/138, 57/5  
*Ciołek A.* 58/80  
*Cupiał D.* 60/206  
*Czaczyk K.* 60/307, 60/63  
*Czarniecka-Skubina E.* 59/43, 60/319, 61/129  
*Czernyszewicz E.* 56/114, 57/119  
*Danielczuk J.* 59/243  
*Dasiewicz K.* 59/52  
*Derewiaka D.* 59/68, 59/74  
*Diowksza A.* 57/40  
*Dmowski P.* 58/116  
*Dolata W.* 59/61  
*Domagała J.* 61/118  
*Domian E.* 59/190  
*Drożdżyńska A.* 60/63  
*Drużyńska B.* 59/35, 59/290, 61/77  
*Dziedzic K.* 58/89, 60/63  
*Fornal L.* 61/55  
*Fortuna T.* 56/41, 59/111, 60/9  
*Galkowska D.* 56/41, 60/9  
*Gasik A.* 60/161  
*Gibiński M.* 57/15, 57/30, 61/65  
*Gielecińska I.* 59/168  
*Gil Z.* 60/24  
*Gondek E.* 59/152, 59/173  
*Goryl A.* 60/126  
*Górecka D.* 58/89, 59/103, 60/63  
*Grajek W.* 61/40  
*Gromadzka J.* 60/235  
*Grudzińska M.* 60/98, 60/107  
*Gryza M.* 57/128  
*Gustaw W.* 60/217, 60/226  
*Halasińska A.* 59/243  
*Hejduk L.* 59/26  
*Horoszewicz E.* 57/86  
*Izdebska K.* 59/141  
*Jakubczyk E.* 59/161, 59/199  
*Janiszewska E.* 60/206  
*Janowicz M.* 59/190  
*Jasińska U.* 59/243  
*Jaworska D.* 59/26, 59/43  
*Jeżewska M.* 56/83  
*Jędrzejkiewicz K.* 60/248  
*Kajak-Siemaszko K.* 59/43  
*Kalisz S.* 60/149, 60/161

- Kapelko M. 60/24  
Karczewski J. 60/86  
Kardialik J. 60/43  
Karwowska M. 60/282  
Kidoń M. 59/227  
Klepacka J. 61/55  
Kłos P. 60/86  
Kłódka D. 56/103  
Kmieciak W. 57/51  
Kolniak J. 60/135  
Kołąkowski E. 61/95  
Kołczak T. 56/5  
Kolożyn-Krajewska D. 60/126  
Kopańska K. 59/74  
Korbas E. 56/83  
Korus A. 57/51  
Kostecka M. 60/257  
Kostyra E. 56/156, 57/158, 58/145, 59/301, 60/336, 61/147  
Kostyra H. 56/156, 57/158, 58/145, 59/301, 60/336, 61/147, 61/16  
Kościelny A. 57/30  
Kośmider A. 60/307  
Kowalska H. 59/181  
Kowalska J. 59/74  
Kowalska K. 61/40  
Kowalski B. 60/273  
Krasnowska G. 57/95, 58/33  
Krawczyk P. 59/141, 60/43  
Krygier K. 60/248  
Krysińska P. 60/9  
Krystyjan M. 56/23  
Krzyczkowska J. 59/124, 60/299  
Krzywdzińska-Bartkowiak M. 59/61  
Kucharska A.Z. 56/65  
Kucharska E. 57/128  
Kuleczak M. 56/83  
Kuśmierczyk M. 61/16  
Kwiatkowska A. 56/126  
Kycia K. 58/5  
Lampart-Szczapa E. 60/86  
Lenart A. 59/190, 59/216, 60/116  
Lentas K. 59/207, 60/178  
Leszczyńska T. 57/140  
Lewicki P.P. 59/173, 59/269, 59/275  
Libudzisz Z. 59/9, 61/25  
Lisiewska Z. 57/51  
Łaniewska-Trokenheim L. 58/108  
Ławniczak P. 58/89  
Łoza A. 60/86  
Lubian M. 59/80  
Lukasinski W. 56/146  
Macura R. 58/96  
Majewska E. 57/106  
Makarska E. 58/80  
Makarski B. 58/80  
Malecka M. 56/92  
Marciniak-Łukasiak K. 59/131  
Marzec A. 59/152, 59/161  
Mazurkiewicz M. 59/290  
Michalczyk M. 58/96  
Michalski K. 59/61  
Mickowska B. 57/5  
Mierzejewska D. 56/156, 57/158, 58/145  
Mika M. 58/123, 61/88  
Milewska I. 61/95  
Miszkievicz H. 58/67  
Mitek M. 60/161  
Mojska H. 59/168  
Morkis G. 56/154, 57/155, 58/141, 59/298, 60/335, 61/144  
Myszka K. 60/307  
Namysław I. 60/319, 61/129  
Nastaj M. 60/217, 60/226  
Nawirska A. 56/65  
Nawrot B. 57/128  
Niedośpiał A. 57/5  
Niedziółka R. 57/86  
Nitek A. 59/74

- Noga A. 59/52  
Nogala-Katucka M. 58/47  
Nowacka E. 57/140  
Nowak A. 59/9, 61/25  
Nowak D. 59/227, 59/236  
Nowak M. 58/132  
Obiedziński M. 57/60, 58/18, 59/283, 59/68, 59/269  
Okrajni J. 58/67  
Olejnik A. 61/40  
Ostasiewicz A. 60/34  
Otto J. 58/132  
Owczarek L. 59/243  
Perkowski J. 60/71  
Pękośławska A. 60/116  
Piątek M. 59/61  
Pieniak-Lendzion K. 57/86  
Pikul J. 58/47  
Piotrowska E. 59/103  
Piotrowski D. 59/216  
Pisula A. 59/52  
Pokrzywa P. 56/138  
Pomarańska-Łazuka W. 59/190  
Poppek S. 56/157, 57/160, 58/147, 59/303, 60/338, 61/149  
Pospiech E. 58/149  
Przetaczek I. 59/111  
Przybylski W. 59/43  
Przybyłowski P. 57/74  
Przybył M. 60/168  
Przygoński K. 56/83  
Pysz K. 57/140  
Radziejewska-Kubzdela E. 59/251, 59/261  
Ratusz K. 59/96  
Remiszewska G. 57/86  
Remiszewski M. 56/83  
Robak K. 59/68  
Rutkowska J. 59/90  
Rzedzicki Z. 56/52  
Salejda A. 57/95, 58/33  
Siger A. 58/47  
Sikora E. 57/140  
Sikora M. 56/23  
Skąpska S. 59/243  
Skowronek S. 60/34  
Skrzypacz M. 59/131  
Słowiński M. 59/52  
Sokołowska B. 58/108, 59/243  
Sokół-Łętowska A. 56/65  
Sołowiej B. 60/226  
Soral-Śmietana M. 60/52  
Sosińska E. 59/269  
Stadnik J. 60/289  
Stasiak A., Ulanowska A. 56/74  
Stasiuk E. 57/74  
Stolarzewicz I. 59/124, 60/299  
Strzecha I. 61/77  
Strzelczyk B. 60/197  
Stuper K. 60/71  
Sucharzewska D. 57/40  
Syta M. 59/227, 59/236  
Szlachta M. 56/92  
Szpendowski J. 56/126  
Szponar L. 59/168  
Szterk A. 59/269, 59/275  
Szterk P. 59/275  
Szymański E. 56/126  
Śmiechowska M. 58/116  
Śmiecińska K. 58/57  
Telesiński A. 56/103  
Tomczyk J. 61/40  
Trziszka T. 58/132  
Wachowicz I. 60/319  
Wajda S. 58/57  
Walczak K. 59/103  
Walkowiak-Tomczak D. 59/251, 59/261  
Wardencki W. 60/235  
Wianecki M. 61/95  
Wikiera A. 58/123, 61/88  
Wirkijowska A. 56/52

*Wirkowska M.* 59/96, 60/273

*Witrowa-Rajchert D.* 59/207, 60/178, 60/206

*Wnorowska E.* 59/199

*Wociór A.* 59/301, 60/336, 61/147, 61/16

*Wojciechowicz A.* 60/24

*Wojewódzka K.* 60/78

*Wołosiak R.* 59/35, 59/290, 61/77

*Worobiej E.* 59/35, 59/290, 61/77

*Wroniak M.* 59/80

*Wszolek M.* 61/118

*Wujkowska A.* 59/35

*Zaręba D.* 57/60, 58/18, 60/189, 60/197

*Zembold-Guła A.* 60/78

*Zgórska K.* 60/98, 60/107

*Ziarno M.* 57/60, 58/18, 60/197

*Zielińska D.* 60/126

*Zięba T.* 60/24

*Żbikowska A.* 59/90

*Żyła K.* 61/88

## WYKAZ NAZWISK RECENZENTÓW W 2008 ROKU

Redakcja czasopisma „Żywność” przekazuje wyrazy wdzięczności P.T. Recenzentom za opiniotwórczą i społeczną pracę na rzecz naszego czasopisma. Dziękujemy Państwu za wspieranie naszych wysiłków nad doskonaleniem poziomu naukowego publikowanych prac.

1. *Prof. dr hab. Ewa Babicz-Zielińska*
2. *Prof. dr hab. Barbara Baraniak*
3. *Prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna*
4. *Prof. dr hab. Józef Błażewicz*
5. *Prof. dr hab. Eulalia J. Borowska*
6. *Doc. dr hab. Andrzej Borys*
7. *Prof. dr hab. Karol Borzuta*
8. *Prof. dr hab. Alicja Ceglińska*
9. *Prof. dr hab. Grażyna Cichosz*
10. *prof. dr hab. Marek Cierach*
11. *prof. dr hab. Danuta Czajkowska*
12. *Prof. dr hab. Janusz Czapski*
13. *Prof. dr hab. Zbigniew Czarnecki*
14. *Dr inż. Anna Diowks*
15. *Prof. dr hab. Zbigniew Duda*
16. *Prof. dr hab. Mirosław Fik*
17. *Prof. dr hab. Mariola Friedrich*
18. *Prof. dr hab. Halina Gambuś*
19. *Dr hab. Danuta Górecka*
20. *Prof. dr hab. Włodzimierz Grajek*
21. *Prof. dr hab. Roman. Grzybowski*
22. *Dr inż. Waldemar Gustaw*
23. *Prof. dr hab. Tadeusz Haber*
24. *Prof. dr hab. Piotr Heczko*
25. *Prof. dr hab. Jan Iciek*
26. *Prof. dr hab. Małgorzata Jasińska*
27. *Prof. dr hab. Grażyna Jaworska*
28. *Doc. dr hab. Renata Jędrzejczak*
29. *Prof. dr hab. Lucjan Jędrychowski*
30. *Dr hab. Alicja Kawka*
31. *Dr hab. Zenon Kędzior*
32. *Prof. dr hab. Jan Kiryluk*
33. *Dr hab. inż. Agnieszka Kita*
34. *Prof. dr hab. Waldemar Kmiecik*
35. *Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska*
36. *Prof. dr hab. Józef Korczak*
37. *Dr inż. Jarosław Korus*
38. *Prof. dr hab. Henryk Kostyra*
39. *Prof. dr hab. Bogusław Król*
40. *Prof. dr hab. Krzysztof Krygier*
41. *Prof. dr hab. Edward Kołakowski*
42. *Prof. dr hab. Eleonora Ledóchowska*
43. *Prof. dr hab. Andrzej Lenart*
44. *Prof. dr hab. Teresa Leszczyńska*
45. *Prof. dr hab. Waclaw Leszczyński*
46. *Prof. dr hab. Grażyna Lewandowicz*
47. *Prof. dr hab. Zdzisława Libudziś*
48. *Prof. dr hab. Zofia Lisiewska*
49. *Prof. dr hab. Lucja Łaniewska-Trokenheim*
50. *Prof. dr hab. Jan Michniewicz*
51. *Prof. dr hab. Jacek Namieśnik*
52. *Prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kalucka*
53. *Prof. dr hab. Mieczysław Obiedziński*
54. *Prof. dr hab. Wiktor Obuchowski*
55. *Prof. dr hab. Jan Oszmiański*
56. *Prof. dr hab. Irena Ozimek*
57. *Dr Władysław Pieczonka*
58. *Doc. dr hab. Mariusz Piskula*
59. *Prof. dr hab. Andrzej Pisula*
60. *Dr inż. Antoni Pluta*
61. *Prof. dr hab. Edward Pospiech*
62. *Prof. dr hab. Danuta Rosołowska-Huszcz*
63. *Prof. dr hab. Daniela Rotkiewicz*
64. *Prof. dr hab. Zbigniew Rzedzicki*
65. *Dr hab. Małgorzata Schlegel-Zawadzka*
66. *Prof. dr hab. Marek Sikora*
67. *Prof. dr hab. Tadeusz Sikora*
68. *Prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski*

69. *Dr inż. Anna Síp*
70. *Prof. dr hab. Maria Soral-Śmietana*
71. *Prof. dr hab. Andrzej Stołyhwo*
72. *Prof. dr hab. Krzysztof Surówka*
73. *Prof. dr hab. Jerzy Szpendowski*
74. *Prof. dr hab. Maria Śmiechowska*
75. *Prof. dr hab. Zdzisław Targoński*
76. *Prof. dr hab. Krystyna Trojanowska*
77. *Prof. dr hab. Tadeusz Trziszka*
78. *Prof. dr hab. Tomasz Twardowski*
79. *Dr hab. Andrzej Tyburcy*
80. *Prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz*
81. *Prof. dr hab. Marzena Ucherek*
82. *Prof. dr hab. Irena Usajewicz*
83. *Prof. dr hab. Danuta Witkowska*
84. *Prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert*
85. *Prof. dr hab. Maria Wojtatowicz*
86. *Prof. dr hab. Wanda Woźniak*
87. *Doc dr hab. Barbara Wróblewska*
88. *Prof. dr hab. Zofia Zachwieja*
89. *Prof. dr hab. Ryszard Zadernowski*
90. *Prof. dr hab. Lidia Zander*
91. *Prof. dr hab. Zygmunt Zander*
92. *Dr hab. Renata Zawirska-Wojtasiak*
93. *Prof. dr hab. Stefan Ziajka*
94. *Prof. dr hab. Stanisław Zmarlicki*
95. *Prof. dr hab. Zofia Żakowska*



**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji  
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

<b>PREZES / ODDZIAŁ</b>	<b>ADRES</b>
Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska Prezes PTTŻ	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel./fax: 022 843 87 11 e-mail: danuta_kolozyn_krajewska@sggw.pl
Dr inż. Stanisław Kalisz Sekretarz PTTŻ	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA e-mail: stanislaw_kalisz@sggw.pl
Prof. dr hab. Piotr Przybyłowski Oddział Gdański	AM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: 058 621 70 41; Fax.: 058 62 02 831
Prof. dr hab. Stanisław Mleko Oddział Lubelski	AR, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN Tel.: 081 444 63 10
Prof. PŁ, dr hab. Lucjan Krala Oddział Łódzki	PŁ, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ Tel.: 042 613 34 68; Fax. 042 636 74 88
Dr hab. Grażyna Jaworska Oddział Małopolski	AR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW Tel. 012 661 47 50; e-mail: rrgjawor@cyf-kr.edu.pl
Dr hab. inż. Katarzyna Majewska Oddział Olsztyński	UWM, ul. Słoneczna 44A, 10-718 OLSZTYN Tel.: 089 523 32 70; e-mail: kasia@uwm.edu.pl
Prof. dr hab. Kazimierz Lachowicz Oddział Szczeciński	AR, ul. Kazimierza Królewicza 3, 71-550 SZCZECIN Tel.: 091 423 10 61
Prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert Oddział Warszawski	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel./fax: 022 593 75 68 e-mail: dorota_witrowa_rajchert@sggw.pl
Dr hab. Grażyna Lewandowicz Oddział Wielkopolski	AR, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 061 848 72 60, Fax.: 061 848 71 46
Prof. dr hab. Zygmunt Gil Oddział Wrocławski	AR, ul. Norwida 25/27, 50-375 WROCŁAW Tel.: 071 320 52 04; Fax: 071 320 54 77
<b>SEKCJE</b>	
Doc. dr hab. Renata Jędrzejczak Analizy i Oceny Żywności	IBPRS, ul. Rakowiecka 36, 02-532 WARSZAWA Tel. 022 849 02 24; 0606 38 76; Fax: 022 849 04 26
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	WSliZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 022 646 20 60; e-mail: krajewski@wsiiiz.pl
Prof. dr hab. Edward Pospiech Technologii Mięsa	AR, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 061 848 72 60; e-mail: pospiech@au.poznan.pl
Prof. dr hab. Krzysztof Krygier Chemii i Technologii Tłuszczów	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 022 847 58 17
Prof. dr hab. Waław Leszczyński Technologii Węglowodanów	AR, ul. Norwida 25/27, 50-375 WROCŁAW Tel.: 071 320 52 21; Fax: 071 320 52 73
Dr inż. Katarzyna Marciniak-Łukasiak Młodej Kadry Naukowej	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA e-mail: katarzyna_marciniak_lukasiak@sggw.pl