



# ŻYWNOŚĆ

*Nauka Technologia Jakość*

---

# FOOD

*Science Technology Quality*

**Nr 1 (62)**

**Kraków 2009**

**Rok 16**

**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, prof. dr hab. Zdzisław Targoński,  
prof. dr hab. Tadeusz Trziszka, 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),  
dr Józef Korolczuk (Francja), prof. dr Marian Naczek (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 ŻYWNOCI  
WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2009

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 1 (62)

Kraków 2009

Rok 16

## SPIS TREŚCI

Od Redakcji .....	3
ANNA SIP, MARIA KRASOWSKA, MICHAŁ WIĘCKOWICZ, WŁODZIMIERZ GRAJEK: Metody skringu bakteriocynogennych bakterii fermentacji mlekowej .....	5
DOROTA NOWAK, AGNIESZKA NOWAK: Kinetyka wzrostu biomasy oraz biosyntezy enzymów amylolitycznych przez drożdże <i>Saccharomycopsis fibuligera</i> podczas hodowli w bioreaktorze ....	28
MARTA CIECIERSKA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI: Występowanie WWA w preparatach do początkowego i dalszego żywienia niemowląt oraz w żywności dla małych dzieci w odniesieniu do wymagań prawa żywnościowego Unii Europejskiej.....	37
KAROLINA SZULC, ANDRZEJ LENART: Właściwości reologiczne aglomerowanej żywności w proszku dla dzieci .....	46
ANNA KAMIŃSKA, VOLKER GAUKEL: Kontrola wzrostu kryształów w lodach spożywczych .....	57
KATARZYNA KOZŁOWICZ, FRANCISZEK KLUZA: Wpływ dodatków napojów alkoholowych na proces zamrażania sorbetów owocowych.....	65
HANNA KOWALSKA: Wpływ stężenia roztworu, temperatury i czasu procesu na odwadnianie osmotyczne jabłek .....	73
MONIKA JANOWICZ, KATARZYNA ŚREDZIŃSKA: Wybrane właściwości suszonych konwekcyjnie jabłek wstępnie odwadnianych osmotycznie w warunkach zmiennego ciśnienia.....	86
MAŁGORZATA RZAÇA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Zmiany aktywności przeciwdrobnikowej i zawartości polifenoli w suszu jabłkowym uzyskanym przy wykorzystaniu promieniowania podczerwonego .....	99
EWA JAKUBCZYK: Charakterystyka suszenia konwekcyjno-mikrofalowego spienionego przecieru jabłkowego.....	109
AGATA PĘKOSŁAWSKA, ANDRZEJ LENART: Wpływ rodzaju i stężenia substancji osmotycznej na przebieg odwadniania osmotycznego dyni .....	119
EWA OSTROWSKA-LIGĘZA, MAGDALENA WIRKOWSKA, BOLESŁAW KOWALSKI: Termokinetyczna analiza tłuszczu z kukurydzy z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej.....	128
AGNIESZKA LATOCH: Właściwości miofibryli sonifikowanego mięsa wieprzowego o obniżonej jakości .....	140
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	150
STANISŁAW POPEK: Nowe książki.....	152
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Współczesny leksykon wiedzy o żywności .....	154
Z żałobnej karty: Prof. dr hab. Henryk Gąsiorowski 1922 - 2009.....	156
<b>Technolog Żywności.....</b>	<b>159</b>

*Zamieszczone artykuły są recenzowane*

*Czasopismo jest referowane przez: AGRO-LIBREX, Chemical Abstracts Service, IFIS,  
Journal Citation Reports / Science Edition; Citation Index Expanded*

# FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 1 (62)

Kraków 2009

Vol. 16

## CONTENTS

From the Editor .....	3
ANNA SIP, MARIA KRASOWSKA, MICHAŁ WIĘCKOWICZ, WŁODZIMIERZ GRAJEK: Methods to screen bacteriocinogenic lactic acid bacteria .....	5
DOROTA NOWAK, AGNIESZKA NOWAK: Kinetics of growth and amylase biosynthesis of <i>Saccharomycopsis fibuligera</i> during cultivation in bioreactor.....	28
MARTA CIECIERSKA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI: 'Pahs' content in infant formulae, follow-on formulae, and in baby junior foodstuffs in relation to the EU food law requirements.....	37
KAROLINA SZULC, ANDRZEJ LENART: Rheological properties of agglomerated food powders for children .....	46
ANNA KAMIŃSKA, VOLKER GAUKEL: Monitoring the growth of crystals in ice cream.....	57
KATARZYNA KOZŁOWICZ, FRANCISZEK KLUZA: Effect of additions of alcoholic drinks on the process of freezing fruit sorbets.....	65
HANNA KOWALSKA: Effect of solution concentration, temperature, and process time on osmotic dehydration of apples .....	73
MONIKA JANOWICZ, KATARZYNA ŚREDZIŃSKA: Some selected properties of convectively dried apples with osmotic pre-treatment under varying pressure conditions.....	86
MAŁGORZATA RZAÇA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Changes in radical scavenging activity and in content of polyphenols in dried apples produced using infrared radiation .....	99
EWA JAKUBCZYK: Convection-microwave drying profile of foamed apple pulp .....	109
AGATA PEKOSŁAWSKA, ANDRZEJ LENART: Effect of kind and concentration of osmotic solution on the kinetics of osmotic dehydration of pumpkin .....	119
EWA OSTROWSKA-LIGEŻA, MAGDALENA WIRKOWSKA, BOLESŁAW KOWALSKI: Thermo-kinetic analysis of corn grain fat using differential scanning calorimetry.....	128
AGNIESZKA LATOCH: Properties of myofibrils in pork meat of a reduced quality subjected to sonification.....	140
GRAŻYNA MORKIS: Food Problems in Polish and EU Legislation.....	150
STANISŁAW POPEK: Book reviews .....	152
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Food Science Lexicon .....	154
Contemporary Terms: Prof. dr hab. Henryk Gąsiorowski 1922 - 2009.....	156
<b>The Food Technologist.....</b>	<b>159</b>

---

*Only reviewed papers are published*

*Covered by: AGRO-LIBREX and Chemical Abstracts Service and IFIS,  
Journal Citation Reports / Science Edition; Citation Index Expanded*

## OD REDAKCJI

Szanowni Państwo,

rozpoczynamy kolejny rok wydawania naszego czasopisma i przekazujemy Państwu nr 1(62). Zamieściliśmy w nim artykuły naukowe i materiały informacyjne, które, mamy nadzieję, spotkają się z Państwa oczekiwaniami.

Mamy też Państwu do przekazania dobre wiadomości, otóż otrzymaliśmy z **THOMSON REUTERS** informację o wpisaniu czasopisma **ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość** na listy:

- **Science Citation Index Expanded,**
- **Journal Citation Reports/Science Edition,**

na których czasopismo będzie indeksowane i zamieszczane będą streszczenia.

Jest to ważne wydarzenie dla czasopisma. Utrzymanie się na liście i otrzymanie Impact Factor (IF) zależy od Państwa! Stąd stały nasz apel o cytowanie artykułów publikowanych w **ŻYWNOSCI** w artykułach kierowanych do czasopism z tzw. „listy filadelfijskiej”. Uzyskanie odpowiedniego IF będzie podstawą utrzymania się na liście i otrzymania odpowiedniej punktacji MNiSzW.

Informujemy również Państwa, że od nr 1(62)/2009 zmieniamy okładkę czasopisma, dodając również tytuł w języku angielskim.

Kraków, marzec 2009 r.

Redaktor Naczelny



*Tadeusz Sikora*



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

ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław

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

---

zapraszają na

**IV Międzynarodową Konferencję z cyklu:  
"QUALITY AND SAFETY IN FOOD PRODUCTION CHAIN"  
„JAKOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO ZDROWOTNE W ŁAŃCUCHU  
PRODUKCJI ŻYWNOSCI”**

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

Tematyka Konferencji

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

Szczegółowe informacje publikujemy na stronie internetowej

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

Adres do korespondencji:

Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością

ul. C. K. Norwida 25;50-375 Wrocław

tel./fax 071 3205140; e-mail: [ktsz@wnoz.up.wroc.pl](mailto:ktsz@wnoz.up.wroc.pl)

[www.up.wroc.pl](http://www.up.wroc.pl)

Serdecznie zapraszamy

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

Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego  
Prof. dr hab. Tadeusz Trziszka

ANNA SIP, MARIA KRASOWSKA, MICHAŁ WIĘCKOWICZ,  
WŁODZIMIERZ GRAJEK

## METODY SKRININGU BAKTERIOCYNODENNYCH BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ

### Streszczenie

W pracy omówiono metody poszukiwania bakterii fermentacji mlekowej zdolnych do syntezy bakteriocyn. Przedstawiono trzy tradycyjne procedury skringowe. Opisano także sposoby identyfikacji LAB oraz detekcji wytwarzanych przez nie bakteriocyn. Zwrócono uwagę na złożony (wieloplasczyznowy) charakter tradycyjnych procedur skringowych i wyjaśniono przyczyny niskiej ich efektywności. Omówiono ponadto rolę analizy metagenomowej oraz fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* w pracach skringowych. Podkreślono, że techniki te mogą być stosowane we wstępnych etapach skringu do typowania środowisk bogatych w bakteriocynogenne LAB, zwiększając tym samym prawdopodobieństwo pozyskania ze środowiska naturalnego drobnoustrojów zdolnych do syntezy aktywnych bakteriocyn. W końcowej części pracy dokonano porównania tradycyjnych i nowoczesnych procedur skringowych.

**Słowa kluczowe:** bakteriocyny, skring, bakterie fermentacji mlekowej, metody oznaczania bakteriocyn

### Wprowadzenie

W ostatnich latach duże zainteresowanie wzbudza możliwość przedłużania trwałości żywności za pomocą związków wytwarzanych przez drobnoustroje [44]. Do ich grona należą m.in. bakteriocyny. Substancje te mają szereg atrakcyjnych, z praktycznego punktu widzenia, właściwości [21]. Są pozbawionymi smaku, zapachu i barwy związkami białkowymi o masie cząsteczkowej od kilku do kilkudziesięciu tysięcy Da, które łatwo dyfundują w struktury produktów żywnościowych. W odróżnieniu od wielu chemicznych konserwantów żywności są one całkowicie bezpieczne dla organizmu człowieka [9].

Najważniejszą cechą bakteriocyn jest ich aktywność biologiczna. Bakteriocyny są zdolne do selektywnego oddziaływania na stan mikrobiologiczny wielu środowisk. Za

---

*Dr inż. A. Sip, dr inż. M. Krasowska, mgr M. Więckowicz, prof. dr hab. W. Grajek, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań*

ich pośrednictwem bakteriocynogenne bakterie (tj. bakterie zdolne do syntezy bakteriocyn) oddziałują na inne mikroorganizmy zasiedlające wspólny ekosystem, osłabiając je (działanie bakteriostatyczne) lub niszcząc (działanie bakteriobójcze lub grzybobójcze). Bakteriocyny najczęściej tworzą pory w błonach komórkowych bakterii i w konsekwencji tego prowadzą do rozproszenia potencjału transmembranowego oraz indukują wypływ jonów  $K^+$ , ATP i aminokwasów. Większość bakteriocyn wykazuje wąski zakres aktywności i działa jedynie na drobnoustroje blisko spokrewnione ze swoimi producentami. Jednak zakres antagonistycznej aktywności niektórych bakteriocyn obejmuje również drobnoustroje niespokrewnione, w tym wiele grup mikroorganizmów patogennych oraz powodujących psucie się żywności. Większość bakteriocyn jest stabilna w szerokim zakresie pH oraz odznacza się wysoką termoopornością. Drobnoustroje bakteriocynogenne są odporne na toksyczne działanie wytwarzanych przez siebie bakteriocyn. Geny struktury bakteriocyn są zlokalizowane w plazmidach lub w chromosomach. Geny te mogą być przenoszone na drodze koniugacji lub za pośrednictwem bakteriofagów do innych bakterii [29]. Najważniejsze właściwości bakteriocyn przedstawiono w tab. 1.

Bakteriocyny mogą być wytwarzane przez wiele grup bakterii. W technologii żywności najważniejszymi ich producentami są jednak bakterie fermentacji mlekowej (LAB; ang. *lactic acid bacteria*) [30]. Bakterie te bowiem powszechnie występują w wielu produktach żywnościowych i większość z nich ma status GRAS (zaliczana jest do organizmów bezpiecznych). Wiele LAB jest ponadto wykorzystywanych przemysłowo do otrzymywania żywności fermentowanej. Jej bezpieczeństwo mikrobiologiczne mogą wyraźnie poprawić bakteriocynogenne LAB. Dlatego też m.in. w laboratoriach na całym świecie prowadzone są intensywne prace mające na celu pozyskanie tych wartościowych bakterii [40].

### Wykrywanie bakteriocynogennych drobnoustrojów

Szczegółowa identyfikacja mikroorganizmów zdolnych do syntezy bakteriocyn, które naturalnie występują w złożonych ekosystemach, takich jak np. żywność, jest niezwykle ważna z uwagi na możliwość poznania interakcji zachodzących pomiędzy różnymi grupami drobnoustrojów. Poznanie tych interakcji może przyczynić się do opracowania efektywnych, a zarazem naturalnych metod zabezpieczania żywności przed rozwojem niepożądanych mikroorganizmów i w konsekwencji korzystnie wpłynąć na zdrowie jej potencjalnych konsumentów. Zmiana składu mikrobiologicznego żywności, będąca skutkiem działania bakteriocyn, może wpływać także na jej skład chemiczny, właściwości sensoryczne i funkcjonalne. Dlatego też celowe jest prowadzenie szczegółowych badań nad sukcesją bakteriocynogennych drobnoustrojów w żywności. Powiązanie bowiem zmian cech jakościowych żywności ze zmianami jej składu mikrobiologicznego może pozwolić na kontrolowane oddziaływanie na szereg ważnych jej właściwości [21].



Tabela 1

Właściwości bakteriocyn.  
Properties of bacteriocins.

Struktura chemiczna Chemical structure	Proste białka / Simple proteins Kompleksy białkowo-węglowodanowe Protein-carbohydrate complexes Kompleksy białkowo-lipidowe Protein-lipid complexes Kompleksy białkowo-węglowodanowo-lipidowe Protein-carbohydrate-lipid complexes
Masa cząsteczkowa Molecular mass	Od kilku do kilkudziesięciu tysięcy Da, najczęściej poniżej $5 \cdot 10^3$ Da From a few to a dozen kDa, usually under $5 \cdot 10^3$ Da
Wrażliwość na działanie enzymów Sensitivity to enzymes	Wszystkie bakteriocyny są wrażliwe na działanie enzymów proteolitycznych (pepsyny, trypsyny i pronazy), a bakteriocyny o złożonej budowie również na działanie enzymów amylolytycznych lub/i lipolitycznych / All bacteriocins are sensitive to proteolytic enzymes (pepsin, trypsin, and pronase) and in the case of bacteriocins with a complex structure, also, to amylolytic and/or lipolytic enzymes
Wrażliwość na działanie temperatury Sensitivity to temperature	Bakteriocyny są związkami termostabilnymi; większość bakteriocyn wytrzymuje 15 – 30 min ogrzewanie w temp. 100 °C; wyjątek stanowią bakteriocyny LAB klasy III (bakteriocyny o masie cząsteczkowej $>30 \cdot 10^3$ Da), które ulegają inaktywacji już w temp. 60 – 80 °C Bacteriocins are heat-stable compounds; most of the bacteriocins endure the heating at 100 °C for 15 – 30 min; exception are class III LAB bacteriocins (bacteriocins with molecular mass $>30 \cdot 10^3$ Da), which are inactivated already at 60 – 80 °C
Wrażliwość na odczyn środowiska (pH) Sensitivity to pH	Większość bakteriocyn jest stabilna w środowisku o pH od 2,0 do 8,0 / Most of the bacteriocins are stable at a pH range from 2.0 to 8.0
Zakres aktywności Range of activity	Wąski do szerokiego / Narrow to wide
Działanie Action	Bakteriobójcze / Bactericidal Bakteriostatyczne / Bacteriostatic Grzybobójcze – niektóre bakteriocyny Fungicidal – some bacteriocins
Mechanizm działania Mechanism of action	Porcja membrany cytoplazmatycznej Cytoplasmatic membrane poration Liza komórek / Cell lysis Inhibicja biosyntezy DNA, RNA i białka Inhibition of DNA, RNA and protein biosynthesis

Źródło: opracowanie własne / Source: the authors' own study

W chwili obecnej istnieje wiele metod analizy składu ilościowego i jakościowego złożonych ekosystemów. Metody te można podzielić na tradycyjne (konwencjonalne) i nowoczesne. Metody tradycyjne wiążą się z koniecznością prowadzenia hodowli mikroorganizmów wyizolowanych ze środowiska i polegają na oznaczaniu ich cech fenotypowych oraz aktywności biologicznej produktów ich metabolizmu. Metody nowoczesne bazują natomiast na technikach biologii molekularnej i koncentrują się na oznaczaniu cech genotypowych mikroorganizmów, podczas których wstępna hodowla drobnoustrojów nie jest obligatoryjna [51].

### **Tradycyjne metody skringu bakteriocynogennych bakterii fermentacji mlekowej**

Efektywność skringu bakterii fermentacji mlekowej wytwarzających aktywne bakteriocyny zależy w dużej mierze od wyboru źródła ich izolacji [39] i waha się od około 1 % [22, 39] do 10 % [39].

Badacze zajmujący się poszukiwaniem bakterii syntetyzujących bakteriocyny podkreślają, że najbogatszym ich źródłem są produkty fermentowane wytwarzane metodami tradycyjnymi [3, 22, 52]. Produkty te często powstają w warunkach o niskim standardzie higienicznym, czemu w naturalny sposób towarzyszy obecność większej liczby bakterii współzawodniczących z niepożądaną mikroflorą poprzez m.in. biosyntezę bakteriocyn [22].

Pierwszym etapem każdej procedury skringowej prowadzonej w tradycyjny sposób jest pozyskanie pojedynczych kolonii na pożywkach agarowych. Etap ten jest poprzedzony wykonaniem rozcieńczeń badanego materiału. Do izolacji bakterii fermentacji mlekowej wykorzystuje się najczęściej agar M17 [22] i/lub agar MRS [3, 13, 17, 52]. Wymienione podłoża charakteryzują się jednak ograniczoną selektywnością względem LAB i dlatego umożliwiają one wzrost także przedstawicieli innych rodzajów bakterii. W celu pozyskania do dalszych etapów badań jedynie LAB niezbędne jest dokonanie wstępnej identyfikacji kultur mikroorganizmów otrzymanych na podłożach agarowych. Wstępna identyfikacja LAB sprowadza się zwykle do oznaczania ich właściwości fenotypowych. Przed przystąpieniem do takiej analizy z podłoża agarowych wybiera się losowo po kilka kolonii o zbliżonej lub dominującej morfologii i sprawdza się ich czystość poprzez posiew redukcyjny na podłożu zestalonym [3, 17, 20] i/lub inokulację pożywki płynnej, a następnie obserwacje mikroskopowe. Charakterystyki fenotypowej pozyskanych monokultur dokonuje się poprzez określenie m.in. morfologii ich komórek, ruchliwości, zdolności do wytwarzania katalazy, wzrostu w różnych wartościach temperatury oraz fermentacji węglowodanów [17]. Jedynie monokultury spełniające kryteria wstępnej identyfikacji rodzajowej zabezpiecza się i wykorzystuje do dalszych badań. Obecnie coraz częściej wstępnej selekcji mikroorganizmów (wyhodowanych na podłożach selektywnych) dokonuje się także za pomocą technik biologii molekularnej, które stają się rutynowym narzędziem pracy mikrobio-

logów. W przypadku prac mających na celu wytypowanie z populacji badanych mikroorganizmów jedynie LAB, po izolacji DNA przeprowadza się reakcje PCR ze starterami komplementarnymi dla sekwencji charakterystycznych dla poszczególnych grup (rodzajów i/lub gatunków) LAB.

Szybszą i bardziej ekonomiczną procedurą skringową mającą na celu pozyskanie bakteriocynogennych drobnoustrojów jest procedura, według której najpierw bada się aktywność antagonistyczną pojedynczych izolatów względem wybranych drobnoustrojów i dopiero po niej dokonuje się wstępnej identyfikacji mikroorganizmów uznanych za aktywne [13, 22]. Niektórzy autorzy proponują jeszcze jedną alternatywną procedurę skringową. Zakłada ona możliwość badania aktywności antagonistycznej całej populacji mikroorganizmów wyhodowanej na płytkach Petriego i widocznej w postaci kolonii. Taki sposób postępowania jest najprostszy, gdyż eliminuje konieczność pozyskiwania monokultur wszystkich mikroorganizmów (niekoniecznie aktywnych) i pozwala na relatywnie szybkie uzyskanie informacji o zdolności badanych kultur (kolonii) do działania przeciwdrobnoustrojowego. Dalszym szczegółowym badaniom poddawane są więc jedynie mikroorganizmy o potwierdzonej aktywności antagonistycznej (tab. 2).

Do wstępnej oceny aktywności antagonistycznej pozyskanych monokultur lub bezpośrednio wszystkich kolonii mikroorganizmów otrzymanych na podłożach agarowych najczęściej wykorzystuje się tanie i nieskomplikowane metody dyfuzyjne [28, 39]. Polegają one na zjawisku równomiernej, koncentrycznej dyfuzji substancji przeciwdrobnoustrojowych w środowisku żelowym, czemu towarzyszy tworzenie stref ograniczenia lub zahamowania wzrostu wrażliwych szczepów testowych [28, 50]. Aktywność metodami dyfuzyjnymi może być oznaczana w dwojaki sposób, tj. z zastosowaniem testów bezpośrednich lub testów opóźnionych [8, 28].

W testach bezpośrednich kultury potencjalnych producentów substancji antagonistycznych hoduje się na miękkich podłożach agarowych (0,75 – 1,5 % agaru) jednocześnie ze szczepem testowym [8, 28]. Natomiast w testach opóźnionych badane kultury najpierw posiewa się na powierzchni podłoży agarowych i dopiero po uzyskaniu pojedynczych kolonii zalewa się podłożem agarowym z wprowadzonym do niego szczepem testowym [28]. Po inkubacji dokonuje się pomiaru wielkości stref inhibicji wzrostu szczepu testowego powstałych wokół kolonii badanych mikroorganizmów.

Precyzja i dokładność metod dyfuzyjnych zależy od szeregu różnych czynników [28, 56], m.in. od charakteru produkowanej substancji przeciwdrobnoustrojowej [14] i składu podłoży testowych [8, 27, 28].

Wstępne testy aktywności antagonistycznej rzadziej przeprowadza się z wykorzystaniem pożywek płynnych [28]. Uzasadnia się to m.in. tym, że bakterie fermentacji mlekowej wytwarzają większą ilość bakteriocyn i innych substancji przeciwdrobnoustrojowych na podłożach stałych [50]. Z drugiej jednak strony stosowanie pożywek

płynnych eliminuje problemy związane z zaburzeniami dyfuzji aktywnych metabolitów LAB w podłożu agarowym, pozwalając tym samym na uzyskiwanie bardziej obiektywnych wyników [7, 16, 41].

Tabela 2

Tradycyjne metody skringu bakteriocynogennych LAB.  
Conventional methods to screen bacteriocinogenic LAB.

Procedura I / Procedure I	Procedura II / Procedure II	Procedura III / Procedure III
Wybór źródła izolacji / Selecting the source of isolation		
Posiew rozcieńczonego materiału izolacyjnego na podłoże agarowe Plating the diluted material on agar media		
Otrzymanie pojedynczych kolonii / Obtaining single colonies		
Wyprowadzenie monokultur / Acquiring monocultures		Ocena aktywności antagoni- stycznej wszystkich kolonii wrosłych na płytkach Petriego Assay of antagonistic activity of all colonies obtained on Petri dishes
Wstępna identyfikacja wybranych monokultur Preliminary identification of the selected monocultures	Ocena antagonistycznych wła- ściwości wytypowanych mon- okultur w stosunku do wybra- nych wskaźników Assay of antagonistic properties of marked out monocultures in relation to the selected test strains	Wyprowadzenie monokultur aktywnych bakterii Acquiring monocultures of active bacteria
Ocena antagonistycznych właściwości bakterii zidentyfi- kowanych jako LAB w stosun- ku do wybranych wskaźników Assay of antagonistic properties of bacteria identified as LAB in relation to the selected test strains	Wstępna identyfikacja aktywnych monokultur Preliminary identification of active monocultures	Wstępna identyfikacja aktywnych monokultur Preliminary identification of active monocultures
Hodowla aktywnych LAB na podłożu płynnym / Culturing active LAB in the liquid medium		
Otrzymanie ekstraktów aktywnych bakteriocyn / Obtaining active extracts of bacteriocins		
Potwierdzenie obecności bakteriocyn w ekstraktach aktywnych Confirming the presence of bacteriocins in active extracts		
Oznaczanie aktywności bakteriocyn / Assay of bacteriocin activity		

Źródło: opracowanie własne / Source: the authors' own study

Drobnoustroje, które we wstępnych badaniach antagonizmu wykazały pozytywne wyniki, poddaje się dalszym szczegółowym testom. Testy te mają na celu ustalenie, jakie metabolity są odpowiedzialne za wykrytą aktywność. Niezależnie od metody analitycznej wybranej do dalszych badań, w celu dokonania identyfikacji aktywnych metabolitów LAB, zwykle pozakomórkowych, niezbędne jest założenie hodowli wgłębnych. Pobierane w trakcie nich próby odwirowuje się, a otrzymane supernatanty traktuje się jako surowe ekstrakty egzogennych substancji przeciwdrobnoustrojowych [28].

Bakterie fermentacji mlekowej mogą być zdolne do syntezy wielu substancji przeciwdrobnoustrojowych. Często wraz z bakteriocynami wytwarzają one duże ilości kwasów organicznych (np. mlekowego, octowego) oraz innych związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, np.  $H_2O_2$  [38]. Antagonistyczne działanie kwasów organicznych w pożywkach hodowlanych można ograniczyć już w momencie ich sporządzenia, poprzez 10-krotną redukcję ilości dodawanych do nich cukrów [31], co bezpośrednio ogranicza ilość syntezowanych kwasów lub też poprzez zwiększenie dodatku do nich składników buforujących [38]. Częściej jednak neutralizuje się surowe ekstrakty substancji przeciwdrobnoustrojowych, doprowadzając ich kwasowość do pH 6,0 – 7,0 [3, 17, 52]. Nadtlenek wodoru usuwa się natomiast z pozyskanych ekstraktów poprzez dodatek do nich katalazy [3]. Można też nie dopuścić do biosyntezy tego związku, prowadząc hodowlę potencjalnych producentów bakteriocyn w warunkach beztlenowych [13, 33, 47]. Supernatanty płynów hodowlanych bakterii fermentacji mlekowej poddane wyżej wymienionym zabiegom, oraz często również dodatkowo łagodnej obróbce termicznej w celu inaktywacji proteaz, w literaturze są nazywane ekstraktami aktywnymi bakteriocyn, preparatami nieoczyszczonych bakteriocyn bądź surowymi preparatami bakteriocyn.

Bakteriocyny, jako substancje białkowe, rozkładane są przez enzymy proteolityczne. Stąd też uznaną metodą potwierdzenia chemicznego charakteru tych związków jest inkubacja ekstraktów aktywnych bakteriocyn z takimi enzymami, jak: proteinaza K, trypsyna,  $\alpha$ -chymotrypsyna, [3, 20, 52], pepsyna, papaina [20, 52] czy też pronaza E [52]. W ramach potwierdzania bakteriocynowej natury substancji obecnych w tzw. ekstraktach aktywnych przeprowadza się także testy wrażliwości „bakteriocyn” na działanie temperatury, pH i detergentów.

Pomiary aktywności bakteriocyn obecnych w pozyskanych ekstraktach sprawiają wiele trudności. Często ich rezultaty są uzależnione od wybranej metody analitycznej. Nie istnieje bowiem żadna standardowa metoda, która pozwala na ocenę z taką samą dokładnością aktywności wszystkich zróżnicowanych pod względem struktury bakteriocyn [16].

Za odpowiednią metodę do wstępnych badań aktywności surowych częściowo scharakteryzowanych preparatów bakteriocyn uznaje się metodę krytycznych rozcień-

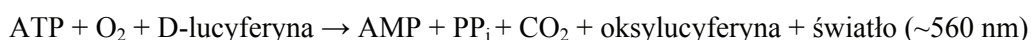
czeń [28]. Metoda ta polega na sporządzaniu szeregu 2- lub 10-krotnych rozcieńczeń badanych ekstraktów i oznaczaniu ich aktywności, najczęściej metodą dyfuzyjną [16, 28]. Wyniki oznaczeń podaje się w arbitralnych jednostkach aktywności (AU) na mililitr, definiowanych jako odwrotność największego rozcieńczenia badanego ekstraktu bakteriocydu, które w widoczny sposób ograniczyło lub zahamowało wzrost szczepu testowego [28, 34, 38]. Planując wykonanie oznaczeń aktywności bakteriocydu tą właśnie metodą należy pamiętać, że wartość AU jest uzależniona od warunków biosyntezy bakteriocydu, takich jak pH, temperatura czy skład pożywki hodowlanej [4, 29].

Metody dyfuzyjne wykazują także szereg wad, spośród których największą jest niska czułość. Drobnoustroje często są zdolne do syntezy bakteriocydu, ale z uwagi na niski próg detekcji metod dyfuzyjnych nie są kwalifikowane do dalszych badań. Wyniki oznaczeń aktywności bakteriocydu metodami dyfuzyjnymi są ponadto uzależnione od wyboru drobnoustroju wskaźnikowego. W związku z tym, że bakteriocydy odznaczają się dużą specyficznością działania, stosowanie różnych szczepów testowych w poszczególnych laboratoriach, a więc szczepów o potencjalnie zróżnicowanej wrażliwości na działanie bakteriocydu, utrudnia dokonywanie porównań międzylaboratoryjnych, a co tym samym uniemożliwia weryfikację otrzymywanych wyników [4, 29].

Do niedostatków oznaczeń aktywności bakteriocydu dokonywanych z wykorzystaniem metod dyfuzyjnych należy zaliczyć również możliwość braku korelacji pomiędzy wielkością stref hamowania wzrostu szczepów testowych a stężeniem oznaczanej bakteriocydu [16] oraz zależność uzyskiwanych wyników od subiektywnej oceny ich wykonawcy [16, 42]. Ostatnią z wymienionych niedogodności można jednak wyeliminować poprzez stosowanie do pomiaru średnic stref inhibicji zautomatyzowanych systemów analizy obrazu [41].

Pracochłonne i często mało dokładne procedury bezpośredniego określania aktywności bakteriocydu metodami dyfuzyjnymi można zastąpić szybkimi, pośrednimi metodami pomiaru aktywności bakteriocydu (tab. 3). Metody te uwzględniają zwykle mechanizm działania bakteriocydu. Mogą zatem wykorzystywać fakt, że większość bakteriocydu uszkadza błony komórkowe drobnoustrojów [12, 25, 34, 37]. W związku z tym poprzez pomiar np. stężenia enzymów wypływających z komórek szczepów testowych poddanych działaniu bakteriocydu [12], stężenia jonów potasu czy ATP [1, 37] możliwa jest detekcja bakteriocydu i oznaczenie ich aktywności.

W celu określenia aktywności bakteriocydu można oznaczać nie tylko ilość ATP uwalnianego z komórek, ale także stopień hydrolizy ATP w ich wnętrzu [1, 16]. Przyпуска się, że hydroliza ATP we wnętrzu komórek jest następstwem tworzenia przez bakteriocydy por w ich błonie komórkowej i wypływu przez nie jonów fosforanowych, co prowadzi do przesunięcia równowagi reakcji hydrolizy ATP [32]:



T a b e l a 3

Metody oznaczania aktywności bakteriocyn.  
Methods to assay the activity of bacteriocins.

Metody oznaczania aktywności bakteriocyn Methods to assay the activity of bacteriocins	Działanie bakteriocyn będące podstawą oznaczenia Bacteriocin action being the basis for assaying	Oznaczana wielkość Parameter assayed	Materiał i stosowane odczynniki Materials and chemicals applied	Potrzebny sprzęt Equipment required
<b>BEZPOŚREDNIE / DIRECT</b>				
Dyfuzyjne Diffusive	hamowanie lub ograniczanie wzrostu bakterii inhibiting or limiting the growth of bacteria	strefa inhibicji wzrostu szepców testowych na podłożu agarowym test strain growth inhibition zone on the medium	podłoża agarowe, bakterie wskaźnikowe agar media, test bacteria	plytki Petriego, inkubator Petri dishes; incubator
<b>POŚREDNIE / INDIRECT</b>				
Turbidymetryczne Turbidimetric	liza komórek bakterii lub ograniczanie szybkości ich wzrostu bacterial cell lysis or limiting the rate of their growth	gęstość optyczna hodowli poddanych działaniu bakteriocyn optical density of cultures exposed to bacteriocins	podłoża płynne, bakterie wskaźnikowe liquid media, test bacteria	spektrofotometr spectrophotometer
Konduktometryczne Conductometric	ograniczenie szybkości wzrostu bakterii inhibiting the growth rate of bacteria	przewodność hodowli drobnoustrojów poddanych działaniu bakteriocyn conductance of culture of microorganisms exposed to bacteriocins	podłoża płynne, bakterie wskaźnikowe liquid media test bacteria	konduktometr conductometer
Enzymatyczne Enzymatic	permeabilizacja błony komórkowej bakterii bacterial cell membrane permeabilization	absorbancja (aktywność enzymów wewnątrzkomórkowych) absorbance (activity of intracellular enzymes)	substrat reakcji enzymatycznej, bakterie wskaźnikowe substrate for enzymatic reaction, test bacteria	spektrofotometr spectrophotometer



cd. Tab. 3

Fluorescencyjne Fluorescent	przerwanie integralności błon komórkowych bakterii disrupting the integrity of bacterial cell membrane	fluorescencja fluorescence	fluorochromy wiążące się ze składnikami wewnątrzkomórkowo- wymi lub utrzymujące się jedynie w komórkach nie-uszkodzonych bakterii wskaźnikowych fluorochromes binding to intracellular components or remaining only in the intact cells of the test bacteria	fluorymetr lub cytometr przepływowy fluorometer or flow cytometer
Immunoenzymatyczne Immunoenzymatic	immunogenność immunogenicity	absorbancja (aktywność związku skoniugowanego z wtórnym przeciwciałem) absorbance (activity of a marker conjugated with the secondary antibody)	zestaw ELISA dla bakteriocyn ELISA kit for bacteriocins	spektrofotometr spectrophotometer
Bioluminescencyjne Bioluminescent	przerwanie integralności błon komórkowych bakterii disrupting the integrity of bacterial cell membrane	natężenie światła emitowanego przez bakterie wskaźnikowe intensity of light emitted by test bacteria	lucyferyna i lucyferaza, bakterie wskaźnikowe luciferin and luciferase, test bacteria	luminometr luminometer
Zmodyfikowane metody bioluminescencyjne Modified bioluminescent methods	przerwanie integralności błon komórkowych bakterii disrupting the integrity of bacterial cell membrane	natężenie światła emitowanego przez bakterie wskaźnikowe intensity of light emitted by the test bacteria	bakterie wskaźnikowe transformowane plazmidem - nośnikiem genu lucyferazy i lucyferyny lub promotora danej bakteriocyny test bacteria transformed with the plasmid: a carrier of genes of luciferase and luciferine or a promoter of the relevant bacteriocin	luminometr luminometer

Źródło: opracowanie własne / Source: the authors' own study



Pomiarów stopnia hydrolizy ATP dokonuje się za pomocą luminometru [1], w obecności kompleksu lucyferyny i lucyferazy pochodzącej z komórek eukariotycznych. Wyniki takich pomiarów w przypadku wielu bakteriocyn są jednak słabo skorelowane z wynikami bezpośrednich pomiarów aktywności tych związków [41].

W ostatnich latach do detekcji bakteriocyn zaadaptowano także metody bioluminescencyjne, wykorzystujące do monitorowania żywotności komórek lucyferazę bakteryjną, kodowaną przez geny *luxA* i *luxB*. W komórkach bakteryjnych enzym ten katalizuje reakcję utleniania długołańcuchowego aldehydu i FMNH<sub>2</sub> do kwasu tłuszczowego i mononukleotydu flawinowego [24, 48], czemu towarzyszy emisja niebieskozielonego światła [24]:



W związku z tym, że reakcja ta zachodzi dzięki redukcyjnym zdolnościom FMNH<sub>2</sub>, jej przebieg jest uzależniony od aktywności metabolicznej bakterii [53]. Ustalono, że w wyniku działania bakteriocyn następuje zmniejszenie intensywności emisji światła przez bakterie [48]. Na tej podstawie możliwe jest zatem dokonywanie oznaczeń aktywności bakteriocyn.

Najbardziej udoskonaloną formą metod bioluminescencyjnych, wykorzystywanych do oznaczeń bakteriocyn, jest metoda bazująca na stosowaniu szczepów testowych, z wklonowanymi plazmidami zawierającymi stabilną sekwencję genów *luxA::B* – kodujących lucyferazę [48, 53, 55], a nawet sekwencję *luxCDE* – genu odpowiedzialnego za regenerację długołańcuchowego aldehydu – substratu lucyferazy. Stosowanie takich konstruktów eliminuje konieczność wykorzystywania do detekcji bakteriocyn jakichkolwiek dodatkowych substratów [53]. Transdukcja sygnałna bakteriocyny sprzężona z wytwarzaniem lucyferazy pozwala bowiem na szybkie i proste wykrywanie w roztworze konkretnych bakteriocyn, których promotor zawarty jest obok genu kodującego lucyferazę w plazmidzie wprowadzonym do szczepu testowego [55].

Niektórzy autorzy proponują także wykorzystanie do oznaczania aktywności bakteriocyn metod powszechnie stosowanych do badania ciągłości błon komórkowych drobnoustrojów. W literaturze opisano próby wykorzystania do tego celu fluorochromów, np. berberyny fluoryzującej w momencie wiązania się z biomolekułami wewnątrzkomórkowymi, np. DNA [12] czy diocjanu karboksylfluoresceiny (cFDA), utrzymującego się jedynie wewnątrz komórek nieuszkodzonych [6]. Na podstawie zmian natężenia fluorescencji mierzonej za pomocą fluorymetru lub cytometru przepływowego dokonuje się oznaczeń aktywności lub ilości bakteriocyn [6].

Niektóre bakteriocyny powodują jednak lizę komórek. Fakt ten może być także wykorzystywany do detekcji tych związków. O lizie komórek bakterii wrażliwych na działanie bakteriocyn może świadczyć, np. postępujące w czasie zmniejszanie się gęstości optycznej płynu hodowlanego [34] lub ograniczenie szybkości wzrostu szczepu testowego inkubowanego z dodatkiem ekstraktów bakteriocyn lub wytwarzających je

bakterii [26]. Do pomiaru wyżej wspomnianych wielkości wykorzystuje się proste metody turbidymetryczne. Zmiany kinetyki wzrostu szczepów testowych rejestrować można również metodami konduktometrycznymi, czyli mierząc przewodność elektryczną pożywek hodowlanych drobnoustrojów poddanych działaniu bakteriocyn [19].

Do szybkiego wykrywania i/lub oznaczania aktywności bakteriocyn mogą być także wykorzystywane inne bardziej specyficzne metody. Wśród nich wymienić należy spektrometrię masową [46] i immunoenzymatyczną metodę ELISA [5, 10]. Poważną wadą ostatniej z wymienionych grup metod, poza wysokim kosztem, jest jednak kompleksowanie przez przeciwciała także zdegradowanych i przez to nieaktywnych bakteriocyn oraz związków o zbliżonej do nich strukturze. Prowadzi to często do znacznego przeszacowania aktywności bakteriocyn w badanych próbach [10].

### **Nowoczesne metody skringingu bakteriocynogennych bakterii fermentacji mlekowej**

W analizie mikrobiologicznej żywności i pracach skringingowych coraz częściej wykorzystuje się metody molekularne [43, 45]. Rozwój współczesnej biologii molekularnej i rozszerzająca się wiedza na temat genomów poszczególnych bakterii fermentacji mlekowej oraz innych drobnoustrojów występujących w żywności przyczyniły się do stworzenia badaczom nowych możliwości. Dzięki technikom biologii molekularnej możliwe stało się prowadzenie badań mikrobiologicznych bez konieczności izolacji drobnoustrojów oraz precyzyjne analizowanie ich potencjału genetycznego.

Stosując techniki biologii molekularnej już w chwili obecnej możliwe jest dokonanie szybkiej identyfikacji drobnoustrojów na poziomie rodzaju, a nawet gatunku oraz określanie ich zasobów genetycznych (oznaczanie obecności genów kodujących daną cechę) [43]. W celu określenia potencjału genetycznego LAB w aspekcie ich zdolności do syntezy bakteriocyn niezbędne jest przeprowadzenie badań nad obecnością sekwencji genów wybranych bakteriocyn, tj. prowadzenie analizy egzonów genów kodujących badane bakteriocyny. Badania takie mogą być wykonywane bezpośrednio *in situ* z zastosowaniem technik hybrydacyjnych lub po izolacji kwasów nukleinowych z komórek z użyciem technik PCR (tab. 4).

### **Fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH)**

Metoda fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ*, czyli tzw. metoda FISH, pozwala na szybkie wykrywanie nawet pojedynczych komórek badanych drobnoustrojów w ich naturalnym środowisku, dzięki hybrydyzacji sondy oligonukleotydowej z fragmentem ich genomu bądź transkryptomu [36]. W metodzie FISH wykorzystuje się sondy molekularne, zwykle o długości od 15 do 30 nukleotydów, znakowane bezpośrednio cząsteczką fluorochromu na jednym bądź z obu końców. Do najczęściej stosowanych znaczników fluorescencyjnych należą pochodne fluoresceiny (np. FITC), pochodne rodaminy (np. TRITC), Texas Red oraz barwniki karbocyjaninowe (np. Cy3 i Cy5).

Sondy można także znakować pośrednio poprzez wiązanie cząsteczki reporterowej (np. digoksygenina) ze znakowanymi fluorescencyjne specyficznymi przeciwciałami [36].

Tabela 4

Nowoczesne metody skriningu bakteriocynogennych LAB.  
Novel methods to screen bacteriocinogenic LAB.

Procedura I / Procedure I	Procedura II / Procedure II
Fluorescencyjna hybrydyzacja <i>in situ</i> (FISH) Fluorescent hybridisation <i>in situ</i> (FISH)	Analiza metagenomowa na podstawie reakcji PCR Metagenomic analysis based on PCR reactions
Wybór przedmiotu badań / Selecting the research material	
Pobranie prób i wymycie znajdujących się w nich drobnoustrojów Collecting samples and washing away microorganisms present in them	
Permeabilizacja komórek mikroorganizmów występujących w badanym środowisku Permeabilization of microbial cells present in the studied habitat	Izolacja meta-DNA całej populacji mikroorganizmów występujących w badanym środowisku Isolation of meta-DNA from the whole population of microorganisms present in the studied habitat
Hybrydyzacja ze znakowanymi fluorescencyjnie sondami specyficznymi dla wybranych grup LAB oraz z sondami specyficznymi dla genów badanych (różnych) bakteriocyn Hybridization with fluorescent probes specific for the selected LAB groups and with probes specific for genes of the studied (different) bacteriocins	PCR z pojedynczymi starterami lub zestawami uniwersalnych starterów dla wybranych grup LAB oraz ze starterami zaprojektowanymi dla genów badanych (różnych) bakteriocyn PCR with single starters or with kits of universal starters for the selected LAB groups as well as with starters designed for genes of the studied (different) bacteriocins
Detekcja sygnału fluorescencyjnego Detecting fluorescent signal	Rozdział elektroforetyczny produktów PCR Electroforetic separation of PCR products
Stwierdzenie obecności określonych grup bakteriocynogennych LAB w obrębie badanej populacji Verifying the presence of the definite groups of bacteriocinogenic LAB within the studied population	
Wytypowanie do dalszych badań środowisk bogatych w LAB będących potencjalnymi producentami bakteriocyn / Marking out habitats rich in LAB that are potential bacteriocin producers, for further studies	
Wyprowadzenie monokultur LAB, w genomie których wykryto geny badanych bakteriocyn czyli LAB będących potencjalnymi producentami bakteriocyn / Obtaining LAB monocultures with genes of the relevant bacteriocins detected within their genome, i. e. LAB that are potential bacteriocin producers	
Badanie ekspresji genów bakteriocyn metodami hodowlanymi Studying the of expression of bacteriocin genes with the use of culturing methods	
Potwierdzenie zdolności pozyskanych kultur LAB do biosyntezy bakteriocyn Confirming the ability of LAB cultures acquired to biosynthesize bacteriocins	

Źródło: opracowanie własne / Source: the authors' own study

Dzięki wykorzystywaniu odpowiednio dobranych i wyznakowanych fluorescencyjnie sond możliwa jest bezpośrednia detekcja badanych mikroorganizmów i/lub określonych ich genów przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego bądź cytometru przepływowego. W toku jednej analizy możliwe jest ponadto stosowanie kilku różnobarwnych fluorochromów, co pozwala na dokonanie równoczesnej detekcji wybranej cechy genetycznej u kilku grup (rodzajów lub gatunków) mikroorganizmów.

Specyficzność hybrydyzacji jest uzależniona od sekwencji stosowanej sondy [11]. Sekwencją docelową hybrydyzacji w badaniach nad potencjałem bakteriocynogennym LAB jest sekwencja kodująca propeptyd bakteriocyny. Standardowe postępowanie w tego typu analizach obejmuje wstępne przygotowanie i permeabilizację badanych komórek, hybrydyzację, wymywanie nadmiaru niezwiązanej sondy oraz detekcję sygnału.

Molekularna identyfikacja techniką FISH mikroorganizmów bakteriocynogennych może być prowadzona równocześnie z analizą filogenetyczną sekwencji rDNA, głównie genu kodującego 16S rRNA, czyli cząsteczki, która wchodzi w skład małej podjednostki rybosomu prokariotycznego. Gen ten występuje u wszystkich organizmów prokariotycznych, a stopień zróżnicowania jego sekwencji jest wprost proporcjonalny do dystansu filogenetycznego między badanymi mikroorganizmami. Obecnie w bazach danych zgromadzono kilkadziesiąt tysięcy wpisów sekwencji tego genu, co umożliwia precyzyjne zidentyfikowanie wielu gatunków mikroorganizmów. W toku jednej analizy można stosować wiele różnokolorowych sond molekularnych, co pozwala na uwidocznienie i identyfikację kilku grup mikroorganizmów równocześnie [2].

Technika FISH może z być z powodzeniem stosowana do wstępnych prac skryningowych i wykrywania w obrębie mikroflory produktów spożywczych bakterii zdolnych do syntezy bakteriocyn. W analizach takich można wykorzystywać jednocześnie znakowane fluorescencyjnie sondy molekularne specyficzne dla wybranych grup lub rodzajów bakterii fermentacji mlekowej oraz sondy specyficzne dla genów bakteriocyn. Zaprojektowanie sondy specyficznej dla genów kodujących bakteriocyny wiąże się z koniecznością wykonania analizy komputerowej sekwencji wszystkich znanych bakteriocyn o konkretnej aktywności. Przykładowo, listeriobójcze bakteriocyny klasy IIa zawierają w swej strukturze charakterystyczny motyw aminokwasowy Tyr-Gly-Asn-Gly-Val, który przekłada się na podobieństwo w sekwencji genów tych bakteriocyn [18]. W celu zaprojektowania i przygotowania sondy do wykrywania bakteriocyn listeriobójczych niezbędne jest wyszukanie sekwencji genów poszczególnych bakteriocyn klasy IIa w internetowych bazach danych, takich jak GenBank, wyodrębnienie sekwencji kodujących w obrębie badanych genów, porównanie ich pod względem długości i przygotowanie tzw. „*alignment*” – sekwencji kodujących genów w celu uzyskania informacji o charakterze motywów zachowawczych. Po tak przeprowadzonych analizach możliwe jest zaprojektowanie sond molekularnych i dokonanie optymalizacji warunków hybrydyzacji *in situ*. Ważne jest jednak, aby zarówno sondy dla

genów bakteriocyn, jak i uniwersalne sondy dla wybranych grup bakterii fermentacji mlekowej miały zbliżoną temperaturę topnienia ( $T_m$ ). Jedynie wtedy możliwe jest prowadzenie jednoczesnej hybrydyzacji wykrywającej sekwencje genów bakteriocyn i hybrydyzacji wskazującej na obecność poszukiwanych grup LAB. W rezultacie metoda FISH pozwala na wykrycie w obrębie badanej populacji mikroorganizmów bakterii fermentacji mlekowej będących potencjalnymi producentami bakteriocyn. Może być ona również przydatna do typowania środowisk bogatych w bakteriocynogenne LAB, które będą przedmiotem dalszego skringu.

Metoda FISH nie jest wolna od wad. Po pierwsze, w przypadku stosowania sond zdegenerowanych, tj. sond o częściowo losowej sekwencji, a tym samym o niższym stopniu podobieństwa w stosunku do sekwencji docelowych (szukanych) istnieje potrzeba obniżenia temperatury hybrydyzacji sondy, co może skutkować obniżeniem specyficzności hybrydyzacji. Nie wszystkie komórki bakteryjne ulegają ponadto permeabilizacji przeprowadzanej według powszechnie stosowanych protokołów. Co więcej, wykorzystanie sondy w przypadku cząsteczki 16S rRNA, znakowanej na jednym końcu, ogranicza wykorzystanie techniki FISH wyłącznie do identyfikacji bakterii o małej liczbie rybosomów. Dodatkowe trudności może wywoływać także konieczność dostosowywania warunków hybrydyzacji dla szczepów nowoodkrytych. Czynnikiem wpływającym na efektywność hybrydyzacji jest również struktura rybosomu. W przypadku rybosomów o zwartej strukturze, zdarza się, że zdolność sondy molekularnej do hybrydyzacji obniża się, a to w efekcie powoduje wyniki fałszywie negatywne [54].

### **Analiza metagenomowa wykorzystująca techniki PCR**

Do szybkiej oceny zasobów genetycznych mikroflory żywności może być także stosowana analiza metagenomowa. Polega ona na izolacji meta-DNA z całej populacji mikroorganizmów zasiedlających dane środowisko, a następnie na jego ocenie pod względem obecności wybranych genów, bez konieczności prowadzenia wcześniejszych hodowli [15, 49]. Analiza metagenomowa pozwala na szybkie wytypowanie środowisk, w których badany gen występuje w dużej liczbie kopii, co z kolei zwiększa szansę na wyizolowanie z nich mikroorganizmów będących nośnikami tego genu.

Poszukiwanie bakteriocynogennych LAB na podstawie analizy meta-DNA umożliwia wskazanie najlepszych źródeł bakterii zawierających geny poszukiwanych bakteriocyn. Dzięki analizie metagenomowej możliwe jest ponadto wykrycie w danym środowisku bakteriocynogennych LAB, dla których jak dotąd nie opracowano podłoży i metod hodowli (ang. *unculturable microorganisms*).

Do wykrywania w meta-DNA genów bakteriocyn wykorzystuje się zwykle techniki PCR i startery znanych, opisanych w literaturze sekwencji bakteriocyn lub startery zdegenerowane, zaprojektowane na podstawie analizy podobieństw sekwencji genów mających ulec amplifikacji. Startery takie zawierają w swej strukturze nukleotydy losowo

wprowadzone podczas syntezy [45]. Najczęściej w reakcjach PCR wykorzystuje się jedną parę starterów. Amplifikacji ulega wtedy pojedynczy fragment nici DNA (gen jednej bakteriocyny). W celu wykrycia w następstwie pojedynczej reakcji PCR genów wielu bakteriocyn można wykorzystywać także zestawy starterów zaprojektowanych dla genów kodujących różne bakteriocyny [35]. W przypadku analizy PCR – Multiplex, startery do reakcji PCR mogą być zaprojektowane w taki sposób, by umożliwić amplifikację genów wszystkich dotychczas poznanych bakteriocyn. Dzięki temu na podstawie analizy obrazu elektroforetycznego produktów PCR można następnie wnioskować o obecności genów różnych bakteriocyn w obrębie badanej populacji drobnoustrojów.

Z uwagi na to, że analiza metagenomowa obejmuje DNA wyizolowane z całej populacji mikroorganizmów danego środowiska, a więc podlegają jej zarówno bakterie hodowlalne w warunkach laboratoryjnych, drobnoustroje, dla których nie opracowano jeszcze metod hodowlanych, jak również bakterie martwe, w jej wyniku można uzyskać kompleksowe informacje na temat występowania potencjalnych producentów bakteriocyn w żywności. Informacje te mogą być pomocne w pracach skringingowych, a także powinny ułatwić badania nad rolą jaką w żywności spełniają drobnoustroje, dla których jak dotąd nie opracowano podłoży hodowlanych, czyli drobnoustroje, których nie udało się jeszcze wyizolować metodami tradycyjnymi.

### **Podsumowanie**

Metody molekularne są podstawą nowoczesnych procedur skringingowych. Pozwalają na szybkie i precyzyjne typowanie środowisk będących źródłem potencjalnych producentów bakteriocyn bez potrzeby przeprowadzania ich hodowli. Stosowanie ich zwiększa zatem szansę na wyizolowanie z danego środowiska drobnoustrojów zdolnych do syntezy aktywnych bakteriocyn. Dzięki technikom molekularnym możliwe jest również ograniczenie nakładów pracy związanych z tradycyjnymi procedurami izolacyjnymi. Procedury te zakładają bowiem intuicyjny wybór źródła izolacji. Popełnianie błędów na tym etapie badań jest najczęściej przyczyną niskiej efektywności prac skringingowych prowadzonych w tradycyjny sposób.

Stosowanie technik molekularnych podczas początkowych etapów skringingu pozwala także na jakościową ocenę struktury populacji mikroorganizmów danego środowiska. Metody molekularne mogą zatem służyć do szybkiej wstępnej detekcji określonych grup drobnoustrojów oraz typowania tych, które zawierają poszukiwane geny. Uzupełnienie tradycyjnych procedur poszukiwania bakteriocynogennych LAB o metody molekularne może dostarczyć też wielu informacji o charakterze poznawczym. Dzięki nim możliwa jest detekcja nowych drobnoustrojów oraz badanie roli jaką spełniają one w ekosystemach. Wielu drobnoustrojów nie można bowiem nadal pozyskać ze środowiska naturalnego z uwagi na brak odpowiednich metod hodowlanych. Metody molekularne mogą być więc dobrym uzupełnieniem tradycyjnych procedur skringingowych. Nie są one



jednak pozbawione wad. Do najważniejszych należy zaliczyć błędy generowane przez technikę PCR oraz niską detekcję mikroorganizmów słabo reprezentowanych w danej populacji. Istnieje również prawdopodobieństwo uzyskiwania wyników błędnie dodatnich w rezultacie uwzględnienia obecności mikroorganizmów martwych, których fragmenty DNA uległy amplifikacji techniką PCR [23]. Najważniejsze informacje dotyczące tradycyjnych i nowoczesnych metod skriningu bakteriocynogennych LAB w syntetyczny sposób przedstawiono w tab. 5.

Tabela 5

Porównanie tradycyjnych i nowoczesnych metod skriningu bakteriocynogennych LAB.  
Comparing the conventional and novel methods to screen bacteriocinogenic LAB.

Wyszczególnienie Specification	Metody tradycyjne Conventional methods	Metody nowoczesne Novel methods
Wybór źródła izolacji Selecting the source of isolation	losowy random	potwierdzony wynikami badań molekularnych verified by the results of molecular research
Rozcieńczenie badanego materiału Diluting the investigated material	niezbędne indispensable	niekonieczne unnecessary
Najważniejszy etap skriningu The most important stage of the screening	pozyskanie czystych kultur LAB i ich hodowla acquiring pure cultures of LAB and culturing them	przeprowadzenie reakcji PCR i/lub badań metodą FISH conducting PCR reaction and/or FISH assay
Podstawa skriningu (główne metody stosowane podczas skriningu) Screening Basis (major methods used while screening)	metody hodowlane culturing methods	metody molekularne molecular methods
Stosowane narzędzia Tools applied	zwykle jedynie pożywki płynne i agarowe oraz drobnoustroje wskaźnikowe / usually only liquid and agar media as well as test microorganisms	sondy molekularne i/lub startery do reakcji PCR molecular probes and/or PCR starters
Podstawowe metody detekcji bakteriocyn / Basic methods of detecting bacteriocins	testy aktywności tests of activity	analiza sekwencji genów bakteriocyn bacteriocin gen sequence analysis
Rodzaj badanych drobnoustrojów Type of studied microorganisms	drobnoustroje hodowlalne culturable microorganisms	drobnoustroje zarówno hodowlalne jak i niehodowlalne both the culturable and non-culturable microorganisms
Pozyskanie monokultur we wstępnym etapie badań Acquiring monocultures at the preliminary stage of research	konieczne necessary	nieobligatoryjne non-obligatory

c.d. Tab. 5

Cel pierwszych etapów skriningu Aim of the first screening stages	pozyskanie monokultur acquiring monocultures	wytypowanie środowisk bogatych w LAB będące potencjalnymi producentami bakteriocyn marking out habitats rich in LAB that are potential bacteriocin producers
Możliwość jednoczesnej identyfikacji LAB i określenia ich potencjału bakteriocynowego Possibility of simultaneously identifying LAB and determining their bacteriocinogenic potential	nie istnieje does not exist	istnieje exists
Czułość i specyficzność metody Sensitivity and specificity of the method	niska low	wysoka high
Pracochłonność i czasochłonność metody Labour and time consumption of the method	duża high	mała low
Koszty Costs	relatywnie niskie relatively low	wysokie high
Efekt skriningu Effect of screening	pozyskanie LAB zdolnych do syntezy aktywnych bakteriocyn acquiring LAB able to synthesize active bacteriocins	pozyskanie LAB zdolnych do syntezy aktywnych bakteriocyn, wykazanie obecności w danym środowisku niehodowalnych bakteriocynogennych LAB, pozyskanie bakteriocynogennych LAB niezdolnych do syntezy aktywnych bakteriocyn czyli takich, w których genomie występują nie ulegające ekspresji geny bakteriocyn acquiring LAB able to synthesize active bacteriocins, verifying the presence of non-culturable bacteriocinogenic LAB in the relevant habitat, acquiring bacteriocinogenic LAB not capable of active bacteriocin synthesis, i.e. bacteria with genomes containing bacteriocin genes that do not undergo expression

Źródło: opracowanie własne / Source: the authors' own study



Reasumując, należy stwierdzić, że techniki biologii molekularnej pozwalają na skrócenie procedur skринingowych oraz gwarantują szybkie uzyskanie informacji o składzie jakościowym badanej populacji mikroorganizmów i jej potencjale genetycznym bez konieczności prowadzenia wstępnych izolacji i związanych z nimi hodowli. Hodowle przeprowadza się w dalszych etapach skринingu w celu ustalenia korelacji pomiędzy występowaniem wykrytych genów a cechami fenotypowymi (aktywnością) bakterii, które te geny mają.

*Praca wykonana w ramach projektu badawczego własnego nr 2044/B/P01/2008/35 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.*

### Literatura

- [1] Abee T., Klaenhammer T.R., Letellier L.: Kinetic studies of the action of lactacin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus johnsonii* that forms poration complexes in the cytoplasmic membrane. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, **60**, 1006-1013.
- [2] Amann R., Fuchs, B.M., Behrens S.: The identification of microorganisms by fluorescence *in situ* hybridization. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2001, **12**, 231-236.
- [3] Ben Belgacem Z., Ferchichi M., Prévost H., Dousset X., Manai M.: Screening for anti-listerial bacteriocin-producing lactic acid bacteria from "Gueddid" a traditionally Tunisian fermented meat. *Meat Sci.*, 2008, **78**, 513-521.
- [4] Bouksaim M., Fliss I., Meghrou J., Simard R. E., Lacroix C.: Immunodot detection of nisin Z in milk and whey using enhanced chemiluminescence. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **84**, 176-184.
- [5] Bouksaim M., Lacroix C., Audet P., Simard R.E.: Effects of mixed starter composition on nisin Z production by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* UL 719 during production and ripening of Gouda cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **59**, 141-156.
- [6] Budde B.B., Rasch M.: A comparative study on the use of flow cytometry and colony forming units for assesment of the antibacterial effect of bacteriocins. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **63**, 65-72.
- [7] Cabo M.L., Murado M.A., González M.P., Pastoriza L.: A method for bacteriocin quantification. *J. Appl. Microbiol.*, 1999, **87**, 907-914.
- [8] Chen H., Hoover D.G.: Bacteriocins and their food applications. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety*, 2003, **2**, 82-100.
- [9] Cleveland J., Montville T.J., Nes I.F., Chkindas M.L.: Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **71**, 1-20.
- [10] Daoudi L., Turcotte C., Lacroix C., Fliss I.: Production and characterization of anti-nisin Z monoclonal antibodies: suitability for distinguishing active from inactive forms trough a competitive enzyme immunoassay. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, **56**, 114-119.
- [11] De Boer E., Beumer R.R.: Methodology for detection and typing of foodborne microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **50**, 119-130.
- [12] De la Fuente-Salcido N., Salcedo-Hernández R., Alanís-Guzmán Ma. G., Bideshi D.K., Barboza-Corona J.E.: A new rapid fluorogenic method for measuring bacteriocin activity. *J. Microbiol. Methods*, 2007, **70**, 196-199.

- [13] De Martinis E.C.P., Públio M.R.P., Santarosa P.R., Freitas F.Z.: Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged Brazilian meat and meat products. *Brazilian J. Microbiol.*, 2001, **32**, 32-37.
- [14] De Vos W.M., Mulders J.W.M., Siezen R.J., Hugenholtz J., Kuipers O.P.: Properties of nisin Z and distribution of its gene, *nisZ*, in *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, **59**, 213-218.
- [15] Deja-Sikora E., Sikora M., Golebiewski M., Tretyn A.: Metagenomic libraries as sources of genes useful for biotechnology. *Biotechnol.*, 2007, **4**, 125-139.
- [16] Delgado A., Brito D., Fevereiro P., Tenreiro R., Peres C.: Bioactivity quantification of crude bacteriocin solutions. *J. Microbiol. Methods*, 2005, **62**, 121-124.
- [17] Dewan S., Tamang J.P.: Dominant lactic acid bacteria and their technological properties isolated from the Himalayan ethnic fermented milk products. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2007, **92**, 343-352.
- [18] Eijsink V. G. H., Skeie M., Middelhoven P. H., Brurberg M. B., Nes I. F.: Comparative studies of class IIa bacteriocins of lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, **64**, 3275-3281.
- [19] Font de Valdez G., Lorca G., Taranto M.P.: Conductimetric method for evaluating inhibition of *Listeria monocytogenes*. In: *Food Microbiology Protocols* - ed. by Spencer J. F. T. i Ragout de Spencer A.L., Humana Press, 2001, 55-59.
- [20] Franz C.M.A., Du Toit M., von Holy A., Schillinger U., Holzapfel W.H.: Production of nisin-like bacteriocins by *Lactococcus lactis* strains isolated from vegetables. *J. Basic Microbiol.*, 1997, **37**, 187-196.
- [21] Galvez A., Abriouel H., Lopez R.L., Omar N.B.: Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **12**, 51-70.
- [22] Ghrairi T., Manai M., Berjeaud J.M., Frère J.: Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from rigouta, a traditional Tunisian cheese. *J. Appl. Microbiol.*, 2004, **97**, 621-628.
- [23] Giraffa G., Neviani E.: DNA-based, culture-independent strategies for evaluating microbial communities in food-associated ecosystems. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **67**, 19-34.
- [24] Hastings J., Baldwin T., Nicoli M.: Bacterial luciferase: assay, purification and properties. *Methods Enzymol.*, 1978, **57**, 135-152.
- [25] Hécharde Y., Sahl H.G.: Mode of action of modified and unmodified bacteriocins from gram-positive bacteria. *Biochimie*, 2002, **84**, 545-557.
- [26] Holck A., Axelsson L., Schillinger U.: Divergicin 750, a novel bacteriocin produced by *Carnobacterium divergens* 750. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1996, **136**, 163-168.
- [27] Hoover D.G., Dishert K.J., Hermes M.A.: Antagonistic effect of *Pediococcus* spp. against *Listeria monocytogenes*. *Food Biotechnol.*, 1989, **3**, 183 - 196.
- [28] Hoover D.G., Harlander S.K.: Screening methods for detecting bacteriocin activity. In: *Bacteriocins of lactic acid bacteria* - ed. by Hoover D.G., Steenson L.R., Food Science and Technology, Academic Press, 1993, pp. 23-39.
- [29] Jack R.W., Tagg J.R., Ray B.: Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Microbiol. Rev.*, 1995, **59**, 171-200.
- [30] Klaenhammer T.R.: Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1993, **12**, 39-86.
- [31] Kraszewska J., Wzorek W., Sztando E., Raczyńska-Cabaj A.: Aktywność antagonistyczna bakterii fermentacji mlekowej z gatunku *Lactobacillus plantarum*. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2005, **4**, 39-52.
- [32] McElroy W., DeLuca M.: Firefly luminescence. In: *Chemi- and bioluminescence* - ed. by Burr J., Marcell Dekker, New York, 1985, pp. 387-399.
- [33] Messi P., Bondi M., Sabia C., Battini R., Manicardi G.: Detection and preliminary characterization of a bacteriocin (plantaricin 35d) produced by a *Lactobacillus plantarum* strain. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **64**, 193-198.


- [34] Morgan S., Ross R.P., Hill C.: Bacteriolytic activity caused by the presence of a novel lactococcal plasmid encoding lactococcins A, B and M. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, **61**, 2995-3001.
- [35] Moschetti G., Blaiotta G., Villani F., Copolla S.: Nisin-producing organisms during traditional "Fior di latte" cheese-making monitored by multiplex-PCR and PFGE analyses. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **63**, 109-116.
- [36] Moter A., Goebel U.B.: Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms. *J. Microbiol. Methods*, 2000, **41**, 85-112.
- [37] Mugochoi T., Nandakumar M.P., Zvauya R., Mattiasson B.: Bioassay for the rapid detection of bacteriocins in fermentation broth. *Biotech. Lett.*, 2001, **23**, 1243-1247.
- [38] Muriana P.M., Luchansky J.B.: Biochemical methods for purification of bacteriocins. In: *Bacteriocins of lactic acid bacteria* - ed. by Hoover D.G., Steenson L.R., Food Science and Technology, Academic Press, 1993, pp. 41-61.
- [39] Ohmomo S., Nitisingprasart S., Hiranpradit S.: How to screen favorable lactic acid bacteria strain, from the case of bacteriocin producing strain and silage fermentation starter strain. The world of indigenous fermented foods for technology development and food safety. 1-6. Kasetsart University, Bangkok, August, 2003. Proceeding CD-ROM
- [40] O'Sullivan R., Ross R.P., Hill C.: Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, 2002, **84**, 593-604.
- [41] Papagianni M., Avramidis N., Filioussis G., Dasiou D., Ambrosiadis I.: Determination of bacteriocin activity with bioassays carried out on solid and liquid substrates: assessing the factor "indicator microorganism". *Microb. Cell Factories*, 2006, **5**, 30-44.
- [42] Parente E., Hill C.: Characterisation of enterocin 1146, a bacteriocin from *Enterococcus faecium* inhibitory to *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.*, 1992, **55**, 497-502.
- [43] Poeta P., Costa D., Rojo-Bezares B., Zarazaga M., Klibi N., Rodrigues J., Torres C.: Detection of antimicrobial activities and bacteriocin structural genes in faecal *enterococci* of wild animals. *Microbiol Res.*, 2007, **162**, 257-263.
- [44] Robertson A., Tirado C., Lobstein T., Jeremini M., Knai C., Jensen H.J., Ferro-Luzzi A., James W.P.T.: *Food and health in Europe: a new basis for action*. WHO Regional Publications, European Series, 2004, vol. **96**, Geneva.
- [45] Rodriguez J.M., Cintas L.M., Casaus P., Suarez A., Hernandez P.E.: PCR detection of the lactocin S structural gene in bacteriocin-producing *Lactobacilli* from meat. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, **61**, 2802-2805.
- [46] Rose N.L., Sporns P., McMullen L.M.: Detection of bacteriocins by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, **65**, 2238-2242.
- [47] Sabia C., Messi P., de Niederhäusern S., Manicardi G., Bondi M.: Study of two bacteriocins produced by *Enterococcus casseliflavus* and *Ent. faecalis*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2004, **38**, 99-105.
- [48] Simon L., Fremaux C., Cenatiempo Y., Berjeaud J.-M.: Luminescent method for the detection of antibacterial activities. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, **57**, 757-763.
- [49] Streit W.R., Schmitz R.A.: Metagenomics – the key to the uncultured microbes. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2004, **7**, 492-498.
- [50] Strus M.: Nowa metoda oceny antagonistycznego działania bakterii kwasu mlekowego (LAB) na wybrane, chorobotwórcze bakterie wskaźnikowe. *Med. Dośw. Microbiol.*, 1998, **50**, 123-130.
- [51] Temmerman R., Huys G., Swings J.: Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods. *Trends Food Sci. Technol.*, 2004, **15**, 348-359.
- [52] Todorov S.D., Dicks L.M.T.: Screening for bacteriocin-producing lactic acid bacteria from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria. Comparison of the bacteriocins. *Process Biochem.*, 2006, **41**, 11-19.

- [53] Vesterlund S., Palta J., Lauková A., Karp M., Ouwehand A.C.: Rapid screening method for the detection of antimicrobial substances. *J. Microbiol. Methods*, 2004, **57**, 23-31.
- [54] Wagner M., Horn M., Daims H.: Fluorescence *in situ* hybridization for the identification and characterization of prokaryotes. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2003, **6**, 302-309.
- [55] Wahlström G., Saris P.E.J.: A nisin bioassay based on bioluminescence. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, **65**, 3742-3745.
- [56] Wolf C.E., Gibbons W.R.: Improved method for quantification of the bacteriocin nisin. *J. Appl. Bacteriol.*, 1996, **80**, 453-457.

## METHODS TO SCREEN BACTERIOCIINOGENIC LACTIC ACID BACTERIA

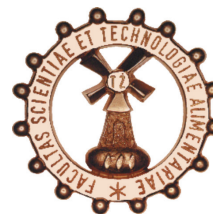
### S u m m a r y

In this paper, some screening methods to detect LAB able to synthesize bacteriocins were discussed. Three conventional screening procedures were presented. Furthermore, the methods to identify LAB and to detect bacteriocins produce by LAB were described. The complex (multipronged) character of conventional screening procedures was emphasized and the reasons for their low effectiveness were explained. In addition, the role of both the metagenomic analysis and the fluorescent hybridization *in situ* in screening procedures was detailed. It was emphasized that those techniques might be applied at initial screening stages to determine habitats rich in bacteriocinogenic LAB, thereby increasing the probability of isolating the bacteriocin-producing microorganisms from natural systems. In the final part of the paper, the conventional and novel screening procedures were compared.

**Key words:** bacteriocins, screening, lactic acid bacteria, methods to assay bacteriocins 



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)

DOROTA NOWAK, AGNIESZKA NOWAK

**KINETYKA WZROSTU BIOMASY ORAZ BIOSYNTETY ENZYMÓW  
AMYLOLITYCZNYCH PRZEZ DROŹDŹE *SACCHAROMYCOPSIS  
FIBULIGERA* PODCZAS HODOWLI W BIOREAKTORZE**

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu zastosowania różnych źródeł węgla w podłożu indukcyjnym na przebieg biosyntezy enzymów amyloリティcznych podczas hodowli drożdży *Saccharomyces fibuligera*, prowadzonej w bioreaktorze. Podłoża indukcyjne zawierały 2 % skrobi: ziemniaczanej natywnej, ziemniaczanej zmodyfikowanej lub tapiokowej. W trakcie hodowli w próbkach mierzono gęstość optyczną (OD), plon biomasy oraz aktywność amylaz metodą biochemiczną Bernfelda. Największy przyrost biomasy ( $14 \text{ g}_{\text{s.s.}}/\text{dm}^3$ ) oraz najwyższą aktywność enzymów amyloリティcznych w podłożu hodowlanym ( $35 \mu\text{mol}$  maltozy/ $\text{cm}^3 \cdot \text{min}$ ) uzyskano, gdy źródłem węgla w medium hodowlanym była natywna skrobia ziemniaczana.

**Słowa kluczowe:** skrobia ziemniaczana, skrobia tapiokowa, skrobia modyfikowana, podłoże indukcyjne, produkcja amylaz

**Wprowadzenie**

Atrakcyjność preparatów enzymatycznych związana jest z ich szerokim zastosowaniem niemal w każdej gałęzi przemysłu spożywczego [3]. Ułatwiają one otrzymanie pożądanych zmian surowca, poprawę jakości produktu gotowego oraz zmniejszenie kosztów produkcji [16].

W skali przemysłowej otrzymuje się enzymy, wykorzystując do tego celu mikroorganizmy. Procesy biosyntezy ulegają stałemu rozwojowi spowodowanemu głównie nowymi możliwościami wykorzystania inżynierii genetycznej do modyfikacji organizmów oraz nowych rozwiązań konstrukcyjnych bioreaktorów [5, 6]. Dzięki inżynierii genetycznej otrzymuje się obecnie preparaty o wybranej ściśle określonej specyficzności, a dzięki temu o nowych właściwościach i zastosowaniach w przemyśle. Mimo to, organizmy genetycznie zmodyfikowane cechuje duża zmienność i niska stabilność

w procesach technologicznych. Dlatego też w dalszym ciągu prowadzone są doświadczenia na szczepach pochodzących ze środowiska naturalnego, których genom w nie został wcześniej zmodyfikowany na drodze inżynierii genetycznej [1].

Jedną z najstarszych i najbardziej rozpowszechnionych grup enzymów są enzymy amylolityczne [3, 13]. Znalazły one zastosowanie w przemyśle gorzelnicznym, piekarskim i skrobiowym. Ich udział w procesie scukrzania skrobi jest podstawą produkcji skrobi zmodyfikowanej, która w technologii żywności ma ogromne znaczenie ze względu na możliwości modyfikacji i projektowania różnorodnych właściwości produktów czy funkcje nośnika innych substancji. Stąd amylazy, zarówno bezpośrednio, jak i pośrednio, wpływają na kształtowanie jakości wyrobu gotowego. Tak więc ich popularność i zapotrzebowanie na nie wykazuje tendencję wzrostową, dlatego też w dalszym ciągu prowadzone są badania nad szczepami drobnoustrojów o potencjalnym znaczeniu dla przemysłu [10].

Wydajność biosyntezy zależy od cech użytego mikroorganizmu, jak i od warunków czy parametrów hodowli [11]. Jednym z kierunków działań zmierzających do wzrostu wydajności pożądanego produktu są prace nad dokładną charakterystyką przebiegu procesu biosyntezy, których wyniki pozwolą na poznanie optymalnych parametrów tego procesu [11, 12]. Poznanie przemian zachodzących w bioreaktorze w skali laboratoryjnej umożliwi wykorzystanie tej wiedzy przy powiększaniu skali procesu.

Gatunek *Saccharomycopsis fibuligera* to drożdże stanowiące mikroflorę miejsc, których jednym ze składników jest skrobia, stąd *Saccharomycopsis fibuligera* jest jednym z ważniejszych gatunków drożdży mającym zdolność syntezy enzymów amylolitycznych. Ma zdolność asymilacji węglowodanów takich, jak: glukoza, sacharoza, maltoza, celobioza, trehaloza, rafinoza, melecytoza, skrobia rozpuszczalna [4].

Celem pracy była ocena wpływu różnych źródeł węgla w podłożu produkcyjnym na przebieg biosyntezy enzymów amylolitycznych podczas hodowli drożdży *Saccharomycopsis fibuligera* prowadzonej w bioreaktorze.

### **Material i metody badań**

W pracy wykorzystano drożdże *Saccharomycopsis fibuligera* z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Mikrobiologii i Biotechnologii Żywności SGGW w Warszawie.

Do hodowli inokulacyjnej zastosowano podłoża płynne YPS (po 100 cm<sup>3</sup> podłoża w 4 kolbach o pojemności 500 cm<sup>3</sup>), które szczepiono kulturą drożdży *Saccharomycopsis fibuligera* ze skosu agarowego (YPG). Hodowlę prowadzono w warunkach dynamicznych w temperaturze 30 °C przez 20 h, na wytrząsarce (Julaba – SW 22, Niemcy) przy 200 obr./min. Skład podłoży namnażającego i produkcyjnych przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Skład podłoży użytych do hodowli.

Chemical composition of media used for cultivation.

Wyszczególnienie Specification	Składniki podłoża inokulacyjnego [g/dm <sup>3</sup> ] Components of <i>inoculum</i> [g/dm <sup>3</sup> ]	Składniki podłoża produkcyjnego [g/dm <sup>3</sup> ] Components of cultivation medium [g/dm <sup>3</sup> ]			
	YPS	PSZ [2]	PST	Sz	PSzM
Ekstrakt drożdżowy Yeast extract	10	-	-	-	-
Pepton / Pepton	10	10	10		10
Skrobia ziemniaczana Native potato starch	10	20	-	10	-
Modyfikowana skrobia ziemniaczana [g/dm <sup>3</sup> ] Modified potato starch [g/dm <sup>3</sup> ]	-	-	-	-	20
Skrobia tapiokowa Tapioca starch	-	-	20	-	-
MgCl <sub>2</sub>	-	0,6	0,6	0,6	0,6
CaCl <sub>2</sub>	-	0,1	0,1	0,1	0,1
Woda destylowana Distilled water	Do 1 l	Do 1 l	Do 1 l	Do 1 l	Do 1 l

Objaśnienia: Explanatory notes:

PSZ – natywna skrobia ziemniaczana / native potato starch; PST – natywna skrobia tapiokowa / native tapioca starch; SZ – podłoże ograniczające (skrobia ziemniaczana, bez źródła azotu) / limiting medium (potato starch without a source of nitrogen; PSzM – skrobia ziemniaczana zmodyfikowana / modified potato starch.

Do hodowli właściwej przygotowano 3600 cm<sup>3</sup> podłoża indukcyjnego według składu zamieszczonego w tab. 1., używając jako rozpuszczalnika wody destylowanej. Następnie korygowano pH do wartości 5,0 za pomocą 30 % kwasu solnego.

Hodowle prowadzono w bioreaktorze BioFlo 3000 (f-my New Brunswick Scientific, USA). Podłoże hodowlane wraz ze zbiornikiem roboczym sterylizowano w temp. 121 °C przez 25 min, a następnie chłodzono do temp. 30 °C (temperatura prowadzenia hodowli produkcyjnej). Przed zaszczepieniem podłoże intensywnie mieszano (400 obr./min) i dodatkowo natleniano za pomocą sprężonego powietrza podawanego przez barboter (natężenie przepływu powietrza 100 l/h) aż do uzyskania 100 % nasycenia rozpuszczonym tlenem. Objętość *inoculum* wynosiła 400 ml, co stanowiło 10 % (v/v) w stosunku do podłoża właściwego. W trakcie hodowli produkcyjnej utrzymywane



były następujące parametry pracy bioreaktora: temp. 30 °C, intensywność mieszania 400 obr./min i intensywność natleniania 100 l powietrza/h.

W trakcie hodowli monitorowano natlenienie względne. W pobieranych w trakcie hodowli próbkach mierzono gęstość optyczną (OD), określano plon biomasy oraz aktywność enzymów amyloリティcznych, której miarą przyjęto zdolność rozkładu skrobi do cukrów redukujących. Pomiaru gęstości optycznej (tzw. OD<sub>600</sub>), jako absorbancję, dokonano przy użyciu spektrofotometru (Thermo Electron Corporation - Helios Gamma) przy długości fali  $\lambda = 600$  nm. Plon biomasy oznaczano w przeliczeniu na suchą masę – komórki drożdży zawieszono w 30 cm<sup>3</sup> podłoża hodowlanego odwirowywano przy 6000 obr./min przez 10 min w wirówce (Sigma Laboratory Centrifuges, Szwajcaria), zlewano supernatant z osadu i osad wraz z wytarowaną gilzą suszono w suszarce komorowej (KBC-65G Wamed, Polska) w temp. 60 °C przez 6 h, po czym studzono w eksykatorze i ponownie ważono. Aktywność enzymów oznaczano metodą biochemiczną Bernfelda [15]. W metodzie tej wykorzystuje się właściwości redukujące cukrów, które w środowisku zasadowym redukują grupy nitrowe kwasu 3,5-dinitrosalicylowego (DNS) do grup aminowych. Powstałe pochodne aminowe mają barwę pomarańczową, której intensywność zależy od zawartości cukrów redukujących w próbce, uwalnianych podczas działania enzymów amyloリティcznych.

Przeprowadzono cztery hodowle na podłożu PSZ, trzy na podłożu PST oraz po dwie na PSzM i Sz.

## Wyniki i dyskusja

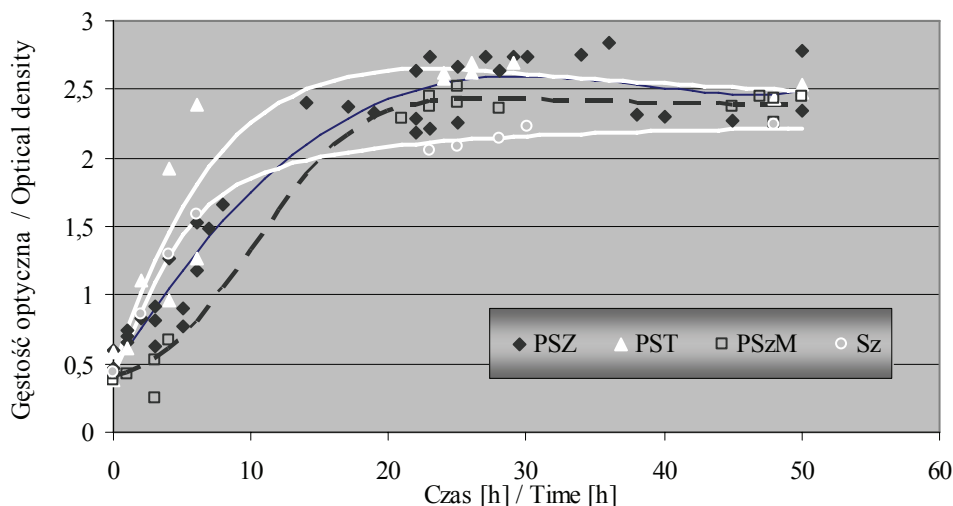
Przebieg zmian gęstości optycznej (OD) płynu hodowlanego podczas hodowli *Saccharomyces fibuligera*, w zależności od składu podłoża indukcyjnego, przedstawiono na rys. 1.

Przebieg krzywych wskazuje na wpływ składu podłoża na kinetykę zmian gęstości optycznej medium hodowlanego [9], mimo że czułość tego wskaźnika jest ograniczona. W przypadku podłoży pełnowartościowych wartość gęstości optycznej określonej w stanie stacjonarnym hodowli wynosiła powyżej 2,5 i osiągnięta była ok. 15. do 20. h hodowli. Niższe o ok. 20 % wartości OD stwierdzono w przypadku hodowli na podłożu Sz, które nie zawierało źródła azotu.

W celu uzyskania bardziej dokładnych informacji dotyczących wzrostu drożdży w warunkach doświadczeń i wskazania podłoża zapewniającego największy przyrost biomasy, wyznaczono krzywe przyrostu plonu biomasy drożdży *Saccharomyces fibuligera*. Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 2.

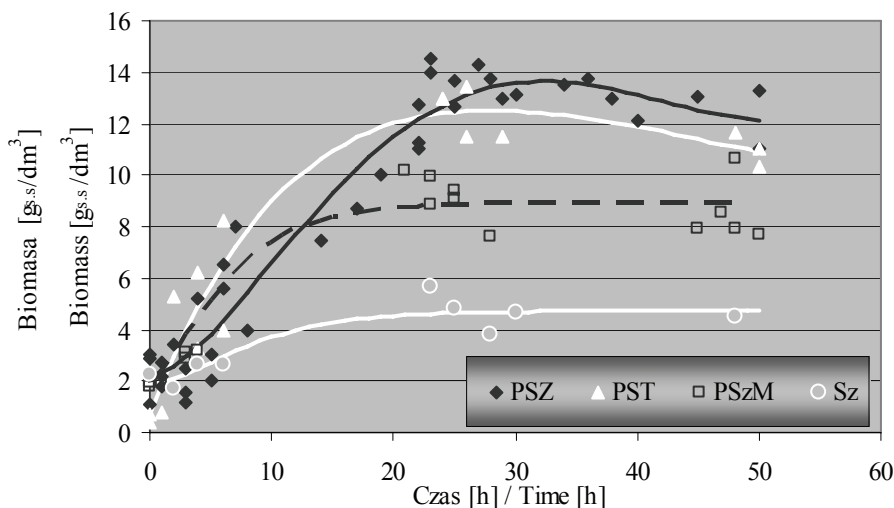
Największy przyrost biomasy stwierdzono w przypadku, gdy źródło węgla stanowiła natywna skrobia ziemniaczana (PSZ). Wynosił on ok. 14 g<sub>s.s.</sub>/dm<sup>3</sup> i wartość maksymalna została osiągnięta po ok. 25 h hodowli. Mniejszy o około 10 - 15 % przyrost biomasy uzyskano na podłożu ze skrobią tapiokową natywną (PST). W przypadku zastosowania

wania skrobi ziemniaczanej zmodyfikowanej (PSzM) plon biomasy był o ok. 40 % mniejszy. Uzyskanie niższych plonów, w porównaniu z hodowlą na podłożu PSz, związane jest z budową cząsteczkową zastosowanych skrobi i dostępnością atomów węgla [14]. Świadczy o tym również trwająca ok. 5 h faza przyspieszania wzrostu, poprzedzająca fazę logarytmicznego wzrostu, widoczna tylko przy skrobi ziemniaczanej.



Rys. 1. Wpływ składu podłoża hodowlanego na przyrost biomasy drożdży *Saccharomycopsis fibuligera*.

Fig. 1. Effect of the composition of culture medium on the biomass gain of *Saccharomycopsis fibuligera* yeast.

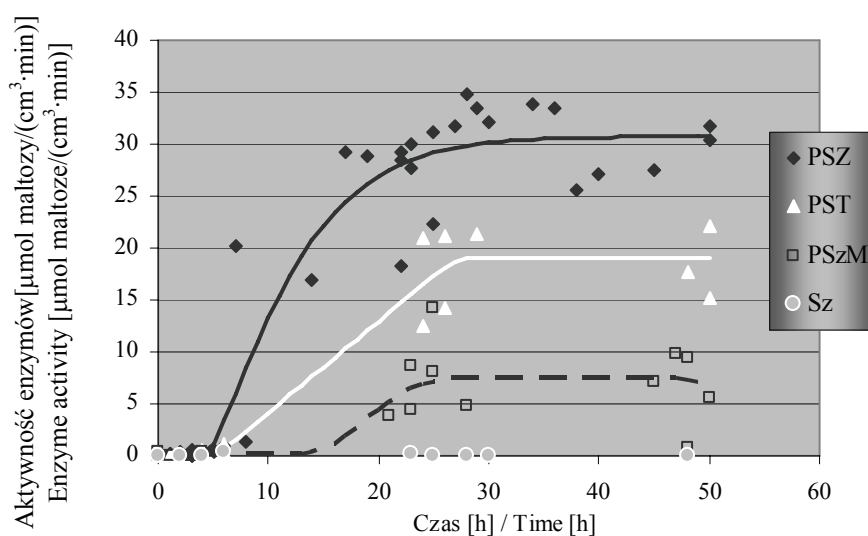


Rys. 2. Wpływ rodzaju skrobi w podłożu na przyrost biomasy drożdży *Saccharomycopsis fibuligera*.

Fig. 2. Effect of the kind of starch in culture medium on the biomass gain of *Saccharomycopsis fibuligera* yeast.

W przypadku podłoża Sz, w którym źródłem węgla była skrobia ziemniaczana, ale źródło azotu zostało usunięte, a wzrost drożdży następował tylko dzięki obecności tego pierwiastka wynikającej z wprowadzenia go do podłoża wraz z *inoculum*, uzyskano najmniejszą ilość biomasy, tj. ok. 5 g<sub>s.s.</sub>/dm<sup>3</sup>. Azot jest jednym z makroelementów wchodzących w skład komórki. Uczestniczy w tworzeniu biomasy komórkowej, dlatego jego brak spowodował zahamowanie rozmnażanie drożdży.

Wpływ różnego pochodzenia skrobi na aktywność enzymów amylolitycznych wydzielanych przez drożdże do podłoża jest bardzo wyraźny (rys. 3).



Rys. 3. Wpływ rodzaju skrobi w podłożu na biosyntezę enzymów amylolitycznych przez drożdże *Saccharomycopsis fibuligera*.

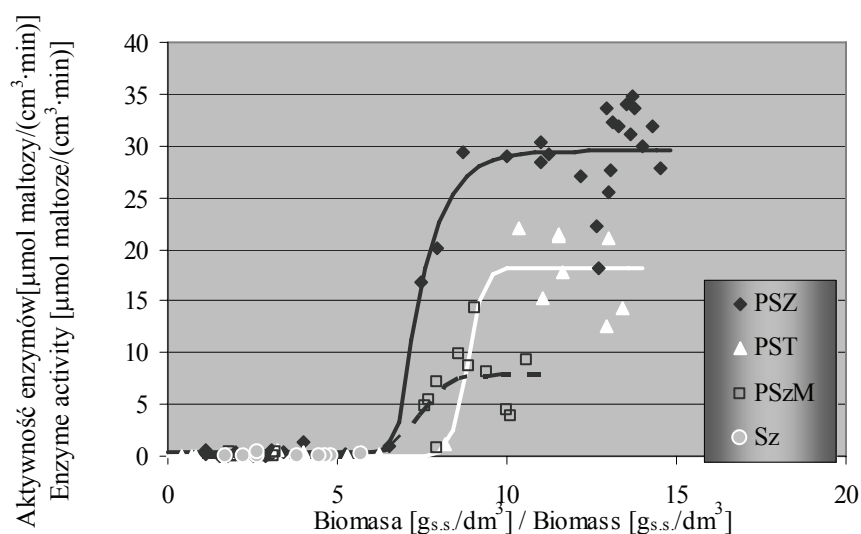
Fig. 3. Effect of the kind of starch in culture medium on the biosynthesis of amylase enzymes by *Saccharomycopsis fibuligera* yeast.

W przypadku wariantów podłoży PSZ i PST wzrost aktywności enzymów w podłożu – w sposób możliwy do stwierdzenia przy zastosowanej metodyce – zaczął następować po około 5 h hodowli. W przypadku skrobi zmodyfikowanej (PSzM) wzrost aktywności enzymów amylolitycznych obserwowano dopiero po 15 h od zaszczepienia. W podłożu zawierającym skrobię ziemniaczan, pomiędzy 5. a 15. godziną hodowli stwierdzono gwałtowny wzrost aktywności enzymatycznej do wartości ok. 30 μmol maltozy/(cm<sup>3</sup>·min), po czym wartość ta stabilizowała się. Podobny charakter zmian występował podczas hodowli z wykorzystaniem skrobi tapiokowej (PST), z tym że osiągnięta maksymalna aktywność enzymatyczna było o ok. 50 % niższa. W hodowli, w której źródło węgla stanowiła skrobia zmodyfikowana (PSzM) istotny wzrost aktywności enzymatycznej następował po 20 h hodowli, a jej wartość była ponad

4-krotnie niższa w stosunku do hodowli PSZ. W przypadku podłoża ograniczającego (Sz) nie obserwowano wzrostu aktywności enzymów amylolitycznych – niedobór azotu w środowisku hodowlanym uniemożliwił drożdżom syntezę enzymów.

Największą aktywność enzymów amylolitycznych uzyskano w hodowli na podłożu ze skrobią ziemniaczaną PSZ. Podobną aktywność termostabilnej amylazy uzyskali Mamo i Gessesse [7] podczas hodowli *Bacillus* sp. Na rynku dostępne są preparaty enzymatyczne o aktywności 1000 razy większej, jednak po procesie biosyntezy poddawane są one szeregowi operacji *streaming down*, takich jak: zagęszczanie oczyszczanie.

Analizując korelację pomiędzy ilością biomasy drożdży w podłożu hodowlanym na danym etapie hodowli oraz aktywnością wytworzonych enzymów amylolitycznych (rys. 4) nasuwa się spostrzeżenie, że niezależnie od rodzaju skrobi zawartej w podłożu indukcyjnym, obecność enzymów stwierdza się dopiero wtedy, gdy ilość biomasy jest w granicach 7-8 g<sub>s.s.</sub>/dm<sup>3</sup>. Następuje wówczas skokowy wzrost aktywności enzymów oznaczanych w medium. Wartość ta jest zbliżona do ilości biomasy powstałej w podłożu ograniczającym Sz, co sugeruje, że do wytworzenia tej ilości biomasy wystarczają składniki pochodzące z podłoża hodowlanego użytego do sporządzenia *inoculum* i drobnoustroje nie są zmuszone do rozkładu skrobi, aby pozyskać węgiel.



Rys. 4. Zależność pomiędzy przyrostem biomasy drożdży *Saccharomycopsis fibuligera* a aktywnością enzymów amylolitycznych.

Fig. 4. Correlation between the biomass gain of *Saccharomycopsis fibuligera* yeast and the amylase enzyme activity

## Wnioski

1. Rodzaj źródła węgla w podłożu produkcyjnym determinuje biosyntezę enzymów. Spośród substancji stanowiących źródło węgla, użytych w przeprowadzonych doświadczeniach, natywna skrobia ziemniaczana okazała się najbardziej korzystnym substratem do biosyntezy enzymów. W warunkach tej hodowli uzyskano największy plon biomasy ( $14 \text{ g}_{\text{s.s.}}/\text{dm}^3$ ) oraz najwyższą aktywność enzymów amylolitycznych w podłożu hodowlanym ( $35 \mu\text{mola maltozy}/(\text{cm}^3 \cdot \text{min})$ ).
2. Nie zaobserwowano bezpośredniej korelacji pomiędzy aktywnością wytworzonych enzymów a wielkością uzyskanego plonu biomasy. Wzrost aktywności enzymów miał charakter skokowy.

*Wyniki zamieszczone w niniejszej publikacji uzyskane zostały w ramach badań własnych SGGW. Praca była prezentowana podczas I Sympozjum Żywności z okazji 30-lecia powołania specjalizacji Inżynieria Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW, Warszawa, 5 - 6 czerwca 2008 r.*

## Literatura

- [1] Czapski J.: Wybrane kierunki rozwoju dodatków do żywności, Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2001, **2**, 7-9.
- [2] Gonzalez C.F., Farina J.I., Figueroa L.I.C.: A critical assessment of a viscometric assay for measuring *Saccharomycopsis fibuligera*  $\alpha$ -amylase activity on gelatinised cassava starch. Enzyme and Microbial Technol. 2002, **30**, 169-175.
- [3] Kołakowski E., Bednarski W., Bielecki S.: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności, Wyd. Akademii Rolniczej, Szczecin 2005.
- [4] Kurtzman C.P., Fell J.W.: The Yeasts, A Taxonomic Study. Elsevier, Amsterdam 1998.
- [5] Larsson G., Jørgensen S.B., Pons M.N., Sonnleitner B., A Tijsterman, Titchener-Hooker N.: Biochemical engineering science, J. Biotechnol. 1997, **59**, 3-9.
- [6] Ledakowicz S.: Inżynieria bioreaktorowa. Inżynieria i Aparatura Chemiczna, 2002, **3**, 4-5.
- [7] Mamo G., Gessesse A.: Thermostable amylase production by immobilized thermophilic *Bacillus* sp. Biotechnology Techniques, 1997, **11**, **6**, 447-450.
- [8] Nigam P., Singh D.: Enzyme and microbial systems involved in starch processing. Enzyme and Microbial Technol., 1995, **17**, 770-778.
- [9] Nowak D., Kasiak T., Lewicki P.P., Duszkiwicz-Reinhard W.: Pilot-plant cultivation of brewery's yeast *Saccharomyces cerevisiae* enriched with magnesium. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2005, **14/55**, **2**, 177-182.
- [10] Rutkowski A., Sawicka-Żurkowska R.: Preparaty enzymatyczne a substancje dodatkowe do żywności. Przem. Spoż., 2002, **8**, 50-54.
- [11] Lemmel S.A., Heimsch R.C., Edwards L.L.: Optimizing the continuous production of *Candida utilis* and *Saccharomycopsis fibuliger* on potato processing wastewater Appl. Environ. Microbiol., 1979, **37** (**2**), 227-232.

- [12] Lemmel S.A, Heimsch R.C., Korus R.A.: Kinetics of growth and amylase production of *Saccharomycopsis fibuligera* on potato processing wastewater. Appl. Environ. Microbiol., 1980, **39** (2), 387-393.
- [13] Sangeetha P.T., Ramesh M.N., Prapulla S.G.: Recent trends in the microbial production, analysis and application of fructooligosaccharides, Trends Food Sci. Technol., 2005, **16**, 442-457.
- [14] Sawicka-Żurkowska R., Zielińska K., Jędrychowska B.: Enzymatyczna degradacja różnych rodzajów skrobi surowej. Przem. Spoż., 1999, **5**, 33-36.
- [15] Toczko M., Grzebińska A.: Materiały do ćwiczeń z biochemii, Wyd. SGGW, Warszawa 2001.
- [16] Warchalewski R.: Zastosowanie enzymów w produkcji żywności na przełomie wieków. Przem. Spoż. 2001, **8**, 40-44.

#### KINETICS OF GROWTH AND AMYLASE BIOSYNTHESIS OF *SACCHAROMYCOPSIS FIBULIGERA* DURING CULTIVATION IN BIOREACTOR

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

The objective of this paper was to estimate the effect caused by the application of various sources of carbon in culture medium on the biosynthesis of amylase enzymes during cultivation of *Saccharomycopsis fibuligera* yeast in a bioreactor. In the inductive media, starch content constituted 2 % and consisted of native potato starch, modified potato starch, or native tapioca starch. During cultivation, optical density (OD), biomass yield, and amylase activity were measured in the samples collected. The Bernfeld method was used to determine the amylase activity. The highest biomass gain ( $14 \text{ g}_{\text{d.m.}}/\text{dm}^3$ ) and the highest amylase activity ( $35 \text{ } \mu\text{mol maltose}/(\text{cm}^3 \text{ min})$ ) in the culture medium were obtained when the native potato starch was a source of carbon in the culture medium.

**Key words:** potato starch, tapioca starch, modified starch, inductive medium, production of amylases ☒

MARTA CIECIERSKA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI

## WYSTĘPOWANIE WWA W PREPARATACH DO POCZĄTKOWEGO I DALSZEGO ŻYWIENIA NIEMOWLĄT ORAZ W ŻYWNOŚCI DLA MAŁYCH DZIECI W ODNIESIENIU DO WYMAGAŃ PRAWA ŻYWNOŚCIOWEGO UNII EUROPEJSKIEJ

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zanieczyszczenia przez WWA – w tym 4 związki z grupy tzw. lekkich WWA wg EPA oraz 15 związków wytypowanych do badań przez Komitet Naukowy UE – wybranych preparatów do początkowego i dalszego żywienia niemowląt oraz żywności dla małych dzieci.

Materiał badawczy stanowiły dostępne na rynku preparaty: początkowe mleko dla niemowląt i mleko następne oraz żywność dla małych dzieci, w tym obiady i zupki. Metodyka badań obejmowała ekstrakcję tłuszczu, wyizolowanie WWA z matrycy tłuszczowej przy zastosowaniu chromatografii żelowej (GPC) oraz jakościowe i ilościowe oznaczenie WWA przy użyciu chromatografii cieczowej z selektywnymi detektorami (HPLC–FLD/DAD).

W grupie preparatów do początkowego i dalszego żywienia niemowląt, jak i żywności dla małych dzieci, zaobserwowano bardzo podobne profile jakościowe zawartości poliarenow. W większości analizowanych produktów 4 lekkie węglowodory stanowiły 100 % sumarycznej zawartości WWA. Wyniki badań WWA wskazały na bardzo niski poziom zawartości badanych związków. Obecność benzo[a]pirenu wykryto jedynie w przypadku dwóch rodzajów zupek. Uwzględniając dopuszczalny maksymalny poziom benzo[a]pirenu w badanej grupie produktów (1 µg/kg) jednoznacznie stwierdzono, że analizowane produkty w pełni spełniają wymogi prawa żywnościowego Unii Europejskiej.

**Słowa kluczowe:** preparaty do początkowego i dalszego żywienia niemowląt, żywność dla małych dzieci, WWA, benzo[a]piren, zanieczyszczenia żywności

### Wprowadzenie

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) powszechnie występujące w środowisku przyrodniczym pochodzą ze źródeł naturalnych, jak i antropogennych [1, 3, 6, 12]. W literaturze przedmiotu powszechnie wskazuje się, że głównym źródłem

WWA dla człowieka jest żywność, a pobór poprzez układ oddechowy i skórę ma charakter marginalny. Produkty żywnościowe mogą ulegać zanieczyszczeniu WWA nie tylko poprzez depozycję środowiskową, ale również w czasie zabiegów technologicznych, stosowanych w celu przygotowania żywności do spożycia oraz jej termicznego utrwalenia. Podczas tych procesów produkty termicznego rozkładu wchodzą w bezpośredni kontakt z produktem żywnościowym [2, 10, 11, 13, 14]. Spośród procesów, które mogą szczególnie niekorzystnie wpływać na poziom zanieczyszczenia produktów żywnościowych przez WWA, wymienia się wędzenie, pieczenie na rożnie czy też grillowanie, prażenie, jak również suszenie zwłaszcza konwekcyjne. Poziom zanieczyszczenia preparatów do żywienia niemowląt, a więc mleka początkowego i następnego w proszku przez WWA może być uzależniony zarówno od stopnia skażenia środowiska – obszaru, z którego pozyskiwany jest surowiec, jak również od zastosowanych warunków suszenia. W przypadku żywności dla małych dzieci, powstałej zgodnie z deklaracją producenta ze świeżych surowców najwyższej jakości, gotowanych na parze i pasteryzowanych, zanieczyszczenie WWA może być również konsekwencją środowiskowego zanieczyszczenia surowców, w szczególności warzyw oraz poziomu zanieczyszczenia wody pitnej, użytej do sporządzenia tej żywności.

Dotychczas w badaniach żywności podejmowano się oznaczania 16 WWA wg EPA (United States Environmental Protection Agency; EPA/540/1 – 86/013,1984). Według obecnego stanu wiedzy, udowodnione jest genotoksyczne, mutagenne i kancerogenne działanie WWA [6] co powoduje, że zgodnie z zaleceniem Komisji Europejskiej 2005/108/EC z 4 lutego 2005 r. [4] istnieje potrzeba badań nad poziomami benzo[a]pirenu oraz pozostałych związków należących do 15 WWA wytypowanych przez Komitet Naukowy ds. Żywności UE w produktach spożywczych. W rozporządzeniu Komisji (WE) Nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. [5] określono najwyższe dopuszczalne poziomy benzo[a]pirenu w wybranych środkach spożywczych. Wśród zalecanych do badań grup produktów znajdują się preparaty do żywienia niemowląt oraz żywność dla małych dzieci. Wiadomym jest ponadto, że WWA występują w produktach żywnościowych zawsze jako złożone mieszaniny różnorodnych związków, w tym tzw. lekkich oraz ciężkich WWA.

Celem pracy było zatem określenie zanieczyszczenia wybranych preparatów, do żywienia niemowląt oraz żywności dla małych dzieci dostępnych na rynku, przez WWA, w tym 4 związki z grupy tzw. lekkich WWA (należących do listy 16 WWA rekomendowanych do badań przez EPA) oraz 15 WWA wytypowanych przez Komitet Naukowy ds. Żywności UE zgodnie z zaleceniem Komisji Europejskiej [4].

### **Material i metody badań**

Material badawczy stanowiły dostępne na rynku preparaty do początkowego i dalszego żywienia niemowląt, a więc początkowe mleko dla niemowląt i mleko na-



stępne oraz żywność dla małych dzieci, w tym obiady i zupki. Do badań pobrano mleko dwóch producentów, które zostało oznaczone symbolami jako mleko A oraz B, przy czym cyfra 1 oznacza mleko początkowe, natomiast 2 i 3 – mleko następne. Z grupy żywności dla małych dzieci analizowano 3 rodzaje obiadków i 3 rodzaje zupek dwóch znanych producentów. Badaniom poddano po 3 próbki każdego rodzaju produktu. Każdą z 3 próbek tego samego rodzaju analizowano w 3 powtórzeniach.

Zastosowana metodyka badań obejmowała ekstrakcję tłuszczu z badanej próbki, następnie oczyszczenie ekstraktu ze związków interferujących przy wykorzystaniu chromatografii preparatywnej (GPC) oraz jakościowe i ilościowe oznaczenie związków techniką chromatografii cieczowej z selektywnymi detektorami (HPLC-FLD/DAD).

Naważkę produktu zalewano 100 ml mieszaniny heksan/aceton (60 : 40, v/v), po czym umieszczano w łaźni ultradźwiękowej (30 min). Uzyskany ekstrakt, po przefiltrowaniu, zagęszczano do kropli rozpuszczalnika, a następnie rozpuszczano w mieszaninie cykloheksan : octan etylu. W celu oddzielenia frakcji WWA od związków interferujących zastosowano kolumnę do chromatografii żelowej TSK Gel G1000HXL, 300 × 7,8 mm, 5 μm. Do rozdzielania wprowadzano 1 ml uprzednio przygotowanej mieszaniny. Rozdział prowadzono metodą izokratyczną przy przepływie 0,8 ml/min, a fazę ruchomą stanowiła mieszanina cykloheksan : octan etylu (50 : 50, v/v). Zebraną frakcję WWA, po zagęszczeniu oraz rozpuszczeniu w 1 ml acetonitrylu, poddawano analizie metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej przy użyciu aparatu HPLC Shimadzu 2010, składającego się z pompy LC-10ATVP, detektora diodowego SPD-M10AVP, detektora fluorescencyjnego RF-10AXL, degazera DGU-14A, autosample-ra SIL-10ADVP oraz kontrolera SCL-10AVP, współpracującego z systemem do zbierania i przetwarzania danych LabSolution 2.1. Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny chromatograficznej BAKERBOND PAH-16Plus 250 x 3mm, 5 μm firmy WITKO-Baker. Temp. termostatowania kolumny wynosiła 30 °C. Analizy wykonywano metodą gradientową, przy przepływie 0,5 ml/min, stosując mieszaninę acetonitryl : woda, 50 : 50 (A) oraz acetonitryl (B). Zastosowano następujący program elucji gradientowej: 0 - 25 min 30 % B, 25 - 50 min 30 % B do 100 % B, 50 - 68,5 min 100 % B.

Warunki detekcji: detektor diodowy – 254 nm; detektor fluorescencyjny – zmienne nastawienia wzbudzenia i emisji (Ex/Em): 256/370, 270/420, 270/500, 270/470 nm. Analizę jakościowo-ilościową wykonywano metodą standardów zewnętrznych, które stanowiły mieszaninę 15 WWA wg KNŻ UE oraz 4 lekkich WWA z listy EPA.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu komputerowego Statistica 7.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi sumarycznej zawartości WWA w grupie mleka początkowego i następnego oraz żywności

dla małych dzieci wykonano metodą porównań wielokrotnych wykorzystującą test Tukey'a, przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

### Wyniki i dyskusja

Średnią zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych oraz sumaryczną zawartość WWA w badanych preparatach do początkowego i dalszego żywienia niemowląt (w mleku początkowym i następnym) oraz w żywności dla małych dzieci (w obiadkach i zupkach) wraz z odchyleniem standardowym przedstawiono odpowiednio w tab. 1. i 2.

Zarówno w grupie preparatów do początkowego i dalszego żywienia niemowląt, jak i w żywności dla małych dzieci stwierdzono bardzo podobne profile jakościowe zawartości poliarenów. Odnotowano, że w mleku początkowym i następnym 4 lekkie węglowodory stanowiły aż 100 % sumarycznej zawartości poliarenów. Nie wykryto w nich zatem obecności żadnego związku z grupy 15 WWA wg KNŻ UE, a więc cyklopenta[c,d]pirenu, benzo[a]antracenu, chryzenu, 5-metylochryzenu, benzo[j]-, benzo[b]- i benzo[k]fluorantenu, benzo[a]pirenu, dibenzo[a,h]antracenu, benzo[g,h,i]perylenu, indeno[c,d]pirenu, dibenz[a,l]-, dibenzo[a,e]-, dibenzo[a,i]- oraz dibenzo[a,h]pirenu. W grupie żywności dla małych dzieci lekkie poliareny stanowiły natomiast od 68 do 100 % w puli oznaczonych policyklicznych węglowodorów. W jednym z analizowanych obiadków oraz w dwóch zupkach, z listy ciężkich węglowodorów, odnotowano niewielkie ilości chryzenu, 5-metylochryzenu oraz benzo[b]fluorantenu, benzo[k]fluorantenu, benzo[a]pirenu oraz śladowe ilości benzo[a]antracenu. Jedynie w przypadku dwóch zupek, z sześciu analizowanych rodzajów żywności dla małych dzieci, wykryto obecność benzo[a]pirenu. Jednakże poziom jego zawartości w tych zupkach był względnie niski, bowiem osiągnął wartość  $0,25 \pm 0,06 \mu\text{g/kg}$  i  $0,21 \pm 0,05 \mu\text{g/kg}$  produktu (tab. 1 i 2). W żadnej z analizowanych próbek żywności dla małych dzieci nie wykryto pozostałych ciężkich węglowodorów, a więc cyklopenta[c,d]pirenu, benzo[j]fluorantenu, dibenzo[a,h]antracenu, benzo[g,h,i]perylenu, indeno[1,2,3-c,d]pirenu czy też związków należących do grupy dibenzopirenów.

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej potwierdzono istotne zróżnicowanie poziomów sumarycznej zawartości poliarenów w analizowanym mleku początkowym i następnym. Statystycznie najwyższym poziomem zanieczyszczenia WWA charakteryzowało się mleko następne B2, w przypadku którego średnia sumaryczna zawartość WWA wynosiła  $2,60 \pm 0,07 \mu\text{g/kg}$ . Statystycznie istotnie najmniejszą zawartość sumy 19 WWA stwierdzono natomiast w mleku początkowym A1 ( $0,37 \pm 0,01 \mu\text{g/kg}$ ) (tab. 1).

Tabela 1

Średnia zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w preparatach do początkowego i dalszego żywienia niemowląt [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ].

Mean content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in infant formulae and follow-on formulae under investigation [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ].

WWA PAH	Mleko początkowe i następne/ Infant milk and follow-on milk					
	Mleko A1 Milk A1	Mleko A2 Milk A2	Mleko A3 Milk A3	Mleko B1 Milk B1	Mleko B2 Milk B2	Mleko B3 Milk B3
Fen	0,37 ± 0,01	0,88 ± 0,02	0,28 ± 0,02	0,50 ± 0,02	1,00 ± 0,03	0,36 ± 0,01
Antr	n.w./ n.d.	0,04 ± 0,00	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	0,03 ± 0,01	n.w./ n.d.
Flu	n.w./ n.d.	0,16 ± 0,01	0,20 ± 0,02	0,12 ± 0,02	1,26 ± 0,03	0,38 ± 0,01
Pir	n.w./ n.d.	0,29 ± 0,01	0,10 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,30 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Σ WWA Σ PAHs	0,37 ± 0,01 <sup>A1</sup>	1,37 ± 0,04 <sup>E1</sup>	0,58 ± 0,04 <sup>B1</sup>	0,75 ± 0,05 <sup>C1</sup>	2,60 ± 0,07 <sup>F1</sup>	0,89 ± 0,03 <sup>D1</sup>

Pomiędzy analizowanymi obiadekami oraz zupkami w grupie żywności dla małych dzieci również stwierdzono statystycznie istotne zróżnicowanie poziomów sumarycznej zawartości poliarenow. Statystycznie najniższy poziom zanieczyszczenia WWA odnotowano w zupce 1., w przypadku której zawartość sumy 19 poliarenow wynosiła  $0,28 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{kg}$ .

Statystycznie nieistotnie wyższe poziomy zanieczyszczenia stwierdzono w obiadku 2 i 3, w przypadku których sumaryczna zawartość WWA osiągnęła wartość  $0,37 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{kg}$  i  $0,39 \pm 0,07 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Istotnie najwyższym poziomem skażenia poliarenowi charakteryzował się natomiast obiadek 1. Zawartość sumy 19 WWA wynosiła bowiem  $7,39 \pm 0,82 \mu\text{g}/\text{kg}$  (tab. 2).

Według rozporządzenia Komisji (WE) Nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. [5] maksymalna dopuszczalna zawartość benzo[a]pirenu w preparatach do początkowego i dalszego żywienia niemowląt, w tym w początkowym mleku dla niemowląt i mleku następnym oraz w żywności dla niemowląt i małych dzieci może wynosić  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Żadna z analizowanych próbek zarówno spośród mleka początkowego i następnego, jak i z grupy obiadków i zupek, a więc żywności dla małych dzieci, nie przekroczyła ustalonego najwyższego dopuszczalnego poziomu benzo[a]pirenu.

Podsumowując, można stwierdzić, że wyniki badań wskazują jednoznacznie na bardzo niski poziom występowania poliarenow w żywności dla niemowląt i małych dzieci. Mając ponadto na względzie najwyższy dopuszczalny limit benzo[a]pirenu, badane produkty spełniają ustalone wymogi prawa żywnościowego UE. Wyrazić można zatem jedynie nadzieję, że produkty te nie są wtórnie zanieczyszczone podczas ich przygotowania do spożycia.

Tabela 2

Średnia zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w żywności dla małych dzieci [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ].

Mean content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in baby junior foodstuffs under investigation [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ].

WWA PAH	Żywność dla małych dzieci/ Baby junior foodstuff					
	Obiadek 1 Lunch 1	Obiadek 2 Lunch 2	Obiadek 3 Lunch 3	Zupka 1 Soup 1	Zupka 2 Soup 2	Zupka 3 Soup 3
Fen	2,00 ± 0,13	0,10 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,12 ± 0,00	0,79 ± 0,01	0,61 ± 0,01
Antr	0,62 ± 0,02	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	0,06 ± 0,00	0,05 ± 0,00
Flu	0,84 ± 0,03	0,27 ± 0,03	0,23 ± 0,08	0,16 ± 0,04	0,60 ± 0,04	0,32 ± 0,01
Pir	3,22 ± 0,17	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	1,01 ± 0,02	0,93 ± 0,04
B[a]a	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Chr	0,20 ± 0,00	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	0,15 ± 0,00	0,14 ± 0,01
5-MChr	0,45 ± 0,05	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.
B[b]f	0,06 ± 0,00	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	0,39 ± 0,05	0,35 ± 0,03
B[k]f	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	0,20 ± 0,04	0,14 ± 0,03
B[a]p	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	n.w./ n.d.	0,25 ± 0,06	0,21 ± 0,05
Σ WWA Σ PAHs	7,39 ± 0,82 <sup>D2</sup>	0,37 ± 0,04 <sup>A2</sup>	0,39 ± 0,07 <sup>A2</sup>	0,28 ± 0,04 <sup>A2</sup>	3,52 ± 0,18 <sup>C2</sup>	2,80 ± 0,12 <sup>B2</sup>

Objaśnienia:/ Explanatory notes:

n w./ n.d. – nie wykryto/ not detected; A1, B1, C1, D1, E1, F1; A2, B2, C2, D2, E2, F2 – wartości średnie oznaczone innymi literami przy tej samej cyfrze (czyli w ramach jednego z 2 porównań sumarycznej zawartości WWA) oznaczają statystycznie istotną różnicę między średnimi na poziomie  $\alpha = 0,05$ / the mean values marked by different letters at the same number (within one from two comparisons of the summary content of PAHs) point out a statistically significant difference between the means at  $\alpha = 0.05$  level.

Fen - Fenantren / Phenantrene; Antr - Antracen / Anthracene; Flu - Fluoranten / Fluoranthene; Pir - Pirene / Pyrene; B[a]a - Benzo[a]antracen / Benzo[a]anthracene; Chr - Chryzen / Chrysene; 5-MChr - 5-Metylochryzen / 5-Metylochrysene; B[b]f - Benzo[b]fluoranten / Benzo[b]fluoranthene; B[k]f - Benzo[k]fluoranten / Benzo[k]fluoranthene; B[a]p - Benzo[a]piren / Benzo[a]pyrene.

W badaniach przeprowadzonych w Wielkiej Brytanii na temat zawartości policyklicznych węglowodorów w żywności dla małych dzieci oraz niemowląt stwierdzono, że w żadnym z analizowanych produktów zawartość benzo[a]pirenu nie przekroczyła maksymalnego dopuszczalnego poziomu 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , a w większości próbek była od niego znacznie mniejsza [9]. Oznaczona bowiem zawartość benzo[a]pirenu kształtowała się w zakresie od poniżej 0,01 do 0,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  w przypadku żywności dla niemowląt oraz od poniżej 0,01 do 1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  w żywności dla małych dzieci. Należy jednak zaznaczyć, że tylko jedna próbka (z wielu badanych) zawierała benzo[a]piren na granicznym poziomie 1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Występowanie benzo[a]pirenu poniżej limitu detekcji stwierdzono

w 74 % próbek żywności dla małych dzieci oraz w 59 % próbek żywności dla niemowląt. W przypadku 3 obiadków stwierdzono względnie wysoki poziom zanieczyszczenia. Sumaryczna zawartość 15 WWA (wg listy Komitetu Naukowego ds. Żywności UE) w owych próbkach wynosiła bowiem 3,3, 5,0 i 5,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , natomiast zawartość benzo[a]pirenu była równa odpowiednio 0,63, 1,0 i 0,54  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Ze względu na nietypowo wysoki poziom zanieczyszczenia, przeprowadzono badania większej liczby próbek tych samych produktów. W efekcie wykazano, że średnia sumaryczna zawartość 15 ciężkich węglowodorów w 3 obiadkach kształtowała się odpowiednio na poziomie 0,01, 0,01 i 0,13  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , podczas gdy w żadnym z nich nie stwierdzono obecności benzo[a]pirenu powyżej limitu detekcji. Badania te zatem potwierdziły, że ze względu na bardzo niskie poziomy zanieczyszczenia, żywność dla niemowląt oraz małych dzieci nie stwarza powodów do obaw odnośnie pobrania WWA przez najmłodszych konsumentów [9].

W badaniach policyklicznych węglowodorów, w wybranych grupach produktów żywnościowych, przeprowadzonych na rynku irlandzkim wykazano, że najniższy poziom zanieczyszczenia charakteryzował grupę żywności dla niemowląt i małych dzieci. Stwierdzona sumaryczna zawartość 15 WWA (wg listy Komitetu Naukowego ds. Żywności UE) w tych produktach kształtowała się bowiem w zakresie 0,51 - 1,12  $\mu\text{g}/\text{kg}$  [8].

Według raportu EFSA (European Food Safety Authority) z 29 czerwca 2007 r. [7], sporządzonego na podstawie badań przeprowadzonych w 16 krajach Unii Europejskiej odnośnie poziomów WWA, ze szczególnym uwzględnieniem benzo[a]pirenu w żywności dla niemowląt i małych dzieci, żadna z analizowanych próbek nie przekroczyła limitu 1  $\mu\text{g}$  benzo[a]pirenu/kg.

Uzyskane wyniki badań, jak najbardziej zbliżone do opisanych powyżej, jednoznacznie potwierdziły bardzo niski poziom zanieczyszczenia żywności dla niemowląt i małych dzieci.

### **Wnioski**

1. W grupie analizowanych preparatów do początkowego i dalszego żywienia niemowląt oraz żywności dla małych dzieci uzyskano zbliżone profile jakościowe zawartości poliarenow. W większości produktów lekkie węglowodory stanowiły 100 % sumarycznej zawartości WWA.
2. Stwierdzono istotne zróżnicowanie poziomów sumarycznej zawartości WWA pomiędzy poszczególnymi produktami zarówno w grupie preparatów do początkowego i dalszego żywienia niemowląt, jak i żywności dla małych dzieci.
3. Zaobserwowano bardzo niski poziom zanieczyszczenia badanych produktów przez WWA.

4. Obecność benzo[a]pirenu wykryto jedynie w przypadku dwóch rodzajów zupek, a poziom jego występowania był około 4 - 5-krotnie niższy od dopuszczalnego maksymalnego poziomu benzo[a]pirenu w badanej grupie produktów (1 µg/kg), ustalonego w rozporządzeniu Komisji (WE) Nr 1881/2006.

*Praca realizowana w ramach grantu KBN nr 501 0928 00 29; była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.*

### Literatura

- [1] Chang K.F., Fang G.C., Chen J.C., Wu Y.S.: Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Asia: A review from 1999 to 2004. *Environm. Poll.*, 2006, **142**, 388-396.
- [2] Chen B.H., Lin Y.S.: Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons during processing of duck meat. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45** (4), 1394-1403.
- [3] Codex Committee on Food Additives and Contaminants (CCFAC). Discussion paper on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) contamination. Thirty-seventh Session. The Hague, the Netherlands, 25-29 April 2005.
- [4] Commission Recommendation 2005/108/EC of 4 February 2005 on the further investigation into the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in certain foods. *OJ EU*, L 34/3.
- [5] Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *OJ EU*, L 364/5.
- [6] European Commission: Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of polycyclic aromatic hydrocarbons in food (expressed on 4 December 2002), [http://ec.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index\\_en.html](http://ec.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html)
- [7] European Food Safety Authority, 29 June 2007. Findings of the EFSA data collection on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. A report from the Unit of Data Collection and Exposure on Request from the European Commission. EFSA/DATEX/002, [http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific\\_Document/datex\\_report\\_pah](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Document/datex_report_pah).
- [8] Food Safety Authority of Ireland, October 2006. Investigation into levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food on the Irish market. FSAI Surveillance: Food Safety – Chemical, [http://www.fsai.ie/surveillance/food\\_safety/chemical/PAH\\_levels](http://www.fsai.ie/surveillance/food_safety/chemical/PAH_levels).
- [9] Food Standards Agency, 2006. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in baby foods and infant formulae. Food Surveillance Information Sheet, 09/06. Food Standards Agency, <http://www.food.gov.uk/science/surveillance/fsis-2006/09pah>.
- [10] Guillen M.D., Sopolana P.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in diverse foods. Food Safety: Contaminants and Toxins. D'Mello J.P. (ed.). Cabi Publishing, Wallingford 2003, pp. 175-198.
- [11] Ibanez R., Agudo A., Berenguer A., Jakszyn P., Tormo M.J.: Dietary intake of polycyclic aromatic hydrocarbons in a Spanish population. *J. Food Prot.*, 2005, **68** (10), 2190-2195.
- [12] Moon H.B., Kannan K., Lee S.J., Ok G.: Atmospheric deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons in an urban and a suburban area of Korea from 2002 to 2004. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2006, **51**, 494-502.
- [13] Philips D.H.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation Research*, 1999, **443**, 139-147.

- [14] Tamakawa K.: Pesticide, veterinary and other residues in food: polycyclic aromatic hydrocarbons. Watson D.H. (ed.). Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge 2004, pp. 473-518.

#### **'PAHS' CONTENT IN INFANT FORMULAE, FOLLOW-ON FORMULAE, AND IN BABY JUNIOR FOODSTUFFS IN RELATION TO THE EU FOOD LAW REQUIREMENTS**

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

The objective of this research was to determine the contamination of infant formulae, follow-on formulae and baby junior foodstuffs by PAHs: 4 compounds from the group of light PAHs listed by EPA and 15 compounds listed by The Scientific Committee on Food UE.

The research material constituted commercially available infant formulae and follow-on formulae including infant milk and follow-on milk, and baby junior foodstuffs such as lunches and soups. The methodology applied consisted in extracting fat, isolating PAHs' from the fatty matrix using a GPC gel permeation chromatography, and determining PAHs', qualitatively and quantitatively, by a liquid chromatography with selective detectors (HPLC-FLD/DAD).

In the group from infant formulae and follow-on formulae to the baby junior foodstuffs, similar quality profiles of PAHs were found. In the majority of the products analysed, 4 light PAHs constituted 100 % of the overall content of PAHs. The results obtained pointed out a very low content level of the compounds studied. Benzo[a]pyrene were detected only in two kinds of soups. With regard to the maximum allowable content limit of benzo[a]pyrene in the tested group of products (1 µg/kg), it was explicitly proved that the products analysed fully met the EU food law requirements.

**Key words:** infant formulae and follow-on formulae, baby foods, PAHs, benzo[a]pyrene, food contaminants ☒



KAROLINA SZULC, ANDRZEJ LENART

## WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE AGLOMEROWANEJ ŻYWNOSCI W PROSZKU DLA DZIECI

### Streszczenie

W niniejszej pracy badano wpływ składu surowcowego, sposobu aglomeracji i rodzaju cieczy nawilżającej na właściwości reologiczne sproszkowanych odżywek dla dzieci. Aglomerację przeprowadzono dwoma metodami: w pneumatycznie i mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym. Modelową żywność w proszku stanowiły mieszaniny tworzone na bazie takich proszków, jak: mleko w proszku, kaszka ryżowa, cukier puder i proszek truskawkowy. Pomiary wykonywano w teście bezpośredniego ścinania, według procedury pomiarowej zgodnej z teorią Jenike, przy czterech poziomach naprężenia konsolidującego z zakresu 4,6 - 17,2 kPa. Wyznaczono parametry plastycznego płynięcia badanych aglomeratów odżywek dla dzieci, takie jak: kohezijność, kąt tarcia wewnętrznego, wytrzymałość na jednoosiowe ściskanie, największe naprężenie konsolidujące, indeks płynięcia. Test jednoosiowego ścinania umożliwił scharakteryzowanie właściwości reologicznych badanych aglomeratów sproszkowanych odżywek dla dzieci oraz wykazanie różnych właściwości kohezyjnych tych materiałów. Funkcja płynięcia określa utworzone aglomeraty sproszkowanych odżywek dla dzieci jako materiały słabo kohezyjne, łatwo płynące oraz jako materiały kohezyjne, trudno płynące w zależności od naprężenia konsolidującego.

**Słowa kluczowe:** funkcja płynięcia, test ścinania, aglomeracja, żywność w proszku

### Wprowadzenie

Systematyczny wzrost udziału materiałów sypkich w grupie produktów spożywczych zarówno końcowych, jak i półproduktów, wymusza konieczność sprecyzowania cech, które pozwolą jednoznacznie zdefiniować właściwości reologiczne materiału. Znajomość tych cech jest niezbędna do poprawnego projektowania urządzeń magazynowo-transportowych, przetwórczych i pakujących [13].

Produkty w proszku mają strukturę systemów zdyspergowanych o dużym znaczeniu praktycznym. Charakterystyka jakościowa proszków obejmuje najczęściej aspekty związane z ich obrotem, jak też aspekty związane z odtwarzaniem w cieczy [7, 10]. Celem powiększania rozmiarów cząstek przez aglomerację jest polepszenie wybranych

---

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

właściwości fizycznych systemu zdyspergowanego. Takie właściwości cząstek ciał stałych, jak: wielkość i kształt, porowatość, gęstość nasypowa, sypkość, zapobieganie segregacji składników czy tworzenia pyłu mają podstawowe znaczenie [3, 12].

W technologii materiałów sypkich w większości operacji jednostkowych takich, jak: przesiewanie, mieszanie, aglomeracja, określenie ruchu ośrodka sypkiego ma podstawowe znaczenie. Właściwości mechaniczne, w tym właściwości reologiczne, żywności w proszku odgrywają istotną rolę w wyjaśnieniu i rozwiązywaniu problemów związanych z jej magazynowaniem, transportem i obrotem [1]. Konsolidacja, zawieszanie i zasklepienie się materiału sypkiego w zbiorniku oraz przepływ tunelowy są przykładami problemów występujących podczas obrotu materiałów w proszku [2, 4, 6].

Do określenia zdolności płynięcia proszków niezbędna staje się symulacja warunków, jakie panują w zbiorniku. Metodą najbardziej przydatną są badania bezpośredniego ścinania. Wartości uzyskane z testów bezpośredniego ścinania, według teorii płynięcia proszków Jenike [9], pozwalają określić parametry plastycznego płynięcia materiałów sypkich z wystarczającą dokładnością do praktycznego zastosowania i przewidzieć charakter płynięcia badanego materiału sypkiego. Parametry te określają warunki, w jakich materiał sypki przestaje zachowywać się jak ciało stałe i staje się podobny do cieczy. Do parametrów plastycznego płynięcia należą: kąt tarcia wewnętrznego w materiale, efektywny kąt tarcia (miara tarcia wewnętrznego uwzględniająca kohezynność), wytrzymałość proszku na odkształcenia, kohezynność, kąt tarcia o ściany zbiornika i gęstość nasypowa. Wyżej wymienione wielkości zależne są od poziomu naprężenia konsolidującego [2, 5].

Celem pracy była analiza wpływu składu surowcowego, sposobu aglomeracji i rodzaju cieczy nawilżającej na właściwości reologiczne odżywek w proszku dla dzieci, przy czterech poziomach naprężenia konsolidującego z zakresu 4,62 - 17,24 kPa.

### **Material i metody badań**

Material badawczy stanowiły dostępne na rynku produkty w proszku: mleko pełne w proszku (MP), cukier puder (CP), kaszka ryżowa (KR) i proszek truskawkowy (PT), z których w wyniku zmieszania w odpowiednich proporcjach utworzono modelowe odżywki w proszku dla dzieci (udział w % masowych): A (CP 25 %, KR 73 %, PT 2 %), B (MP 40 %, CP 25 %, KR 33 %, PT 2 %), C (MP 73 %, CP 25 %, PT 2 %).

Proces aglomeracji nawilżeniowej prowadzono w pneumatycznie i mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym przy zastosowaniu jako cieczy nawilżających: wody, 2 % wodnego roztworu lecytyny i 50 % wodnego roztworu cukru. Proces aglomeracji w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym prowadzono z zastosowaniem urządzenia STREA 1/Niro-Areomantic AG. Aglomerację metodą mieszania mechanicznego (mechanicznie wytwarzane złożo fluidalne) prowadzono w laboratoryjnym mieszalniku lemieszowo-płującym firmy Lödige, typ L5.

Badania właściwości reologicznych prowadzono metodą bezpośredniego ścinania w aparacie przystosowanym do procedury pomiarowej zgodnej z teorią Jenike [8]. Do konsolidacji badanego materiału zastosowano naprężenie konsolidujące z zakresu 4,62 - 17,24 kPa.

Wyznaczono następujące parametry plastycznego płynięcia otrzymanych aglomeratów sproszkowanych odżywek dla dzieci [2, 9]:  $\varphi$  – kinetyczny kąt tarcia wewnętrznego,  $\delta$  – efektywny kąt tarcia wewnętrznego,  $C$  – kohezynność,  $\sigma_E$  – naprężenie konsolidujące,  $\sigma_1$  – główne naprężenie konsolidujące,  $\sigma_c$  – wytrzymałość na jednoosiowe ściskanie,  $ff_c$  – indeks płynięcia. Badane modelowe odżywki w formie aglomeratów scharakteryzowano funkcją płynięcia FF oraz gęstością nasypową materiału skonsolidowanego  $\rho_k$ .

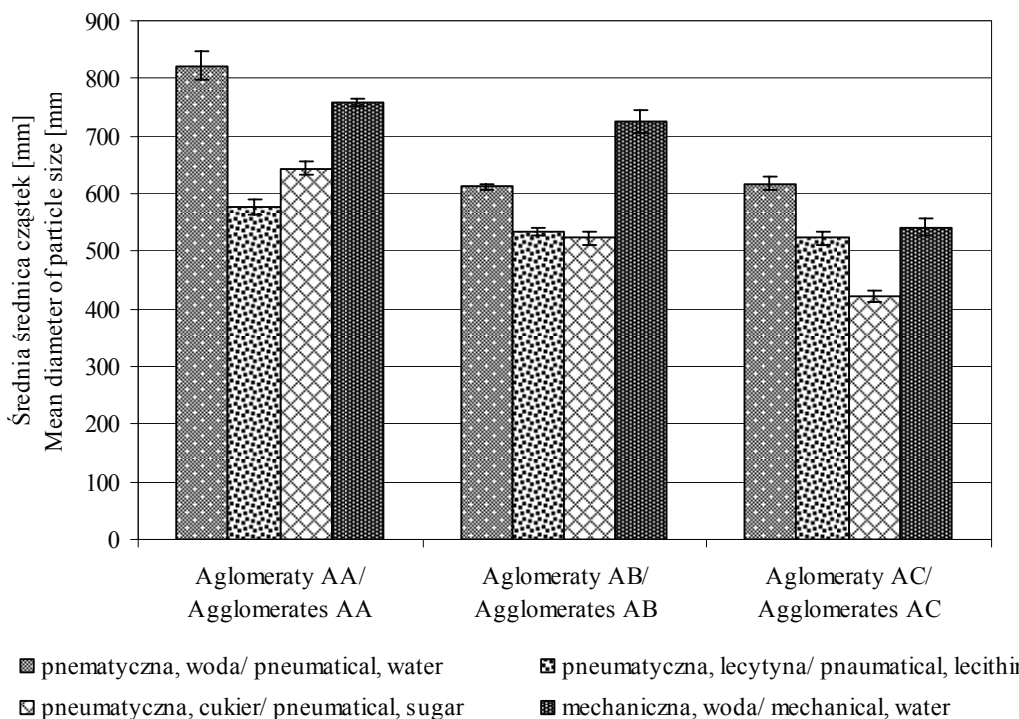
Średni wymiar cząstek aglomeratów (średnią średnicą objętościową) oznaczano przy zastosowaniu analizatora wielkości cząstek ciał stałych w powietrzu AWK-V97/Kamika [10].

Wszystkie badania wykonano w co najmniej trzech powtórzeniach.

## Wyniki i dyskusja

Wielkość cząstek odgrywa ważną rolę, gdyż wykazuje ona związek nie tylko z cechami użytkowymi materiału w proszku, lecz także decyduje o jego zachowaniu podczas dalszych procesów. Rozmiar cząstek jest jednym z najistotniejszych właściwości definiujących sypkłość proszku [3]. Aglomeracja materiałów w proszku wiąże się z powiększeniem rozmiarów cząstek stałych poprzez łączenie drobnych cząstek w większe skupiska, w których te cząstki są nadal rozpoznawalne. Wymiar cząstek (średnia średnica) otrzymanych aglomeratów niezależnie od sposobu aglomeracji i rodzaju cieczy nawilżającej (woda, 2 % wodny roztwór lecytyny, 50 % wodny roztwór cukru) wynosił 422 - 822  $\mu\text{m}$  (rys. 1). Aglomeracja badanych odżywek wodą, niezależnie od rodzaju mieszaniny, w pneumatycznie i mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym powodowała, że utworzone aglomeraty charakteryzowały się największym rozmiarem cząstek 541 - 822  $\mu\text{m}$ . Zastosowanie roztworów lecytyny i cukru zamiast wody, jako cieczy nawilżającej, podczas aglomeracji odżywek w aparacie STREA 1 spowodowało zmniejszenie wymiaru aglomeratów sproszkowanych odżywek dla dzieci (rys. 1).

Badane modelowe odżywki dla dzieci w proszku charakteryzowały się różną zdolnością materiału do płynięcia. Ogólnie, wartości parametrów plastycznego płynięcia zależały od składu surowcowego i sposobu aglomeracji oraz przyjętego poziomu naprężeń konsolidujących (tab. 1 i 2). Wraz ze wzrostem naprężenia konsolidującego wzrastała gęstość materiału skonsolidowanego, kohezynność, wytrzymałość na jednoosiowe ściskanie oraz największe naprężenie konsolidujące, a malał zarówno kinetyczny, jak i efektywny kąt tarcia wewnętrznego.



Rys. 1. Średnia średnica cząstek aglomeratów otrzymanych w pneumatycznie i mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym.

Fig. 1. Mean diameter of particle size of agglomerates obtained in a pneumatically and mechanically generated fluidized bed.

Największą gęstość materiału skonsolidowanego ( $\rho_k$ ) wykazywał aglomerat AC aglomerowany wodą w mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym (ACM, w którego skład wchodziło głównie mleko w proszku MP (73 %) (tab. 2). Najmniejszą gęstością ( $\rho_k$ ) charakteryzowały się aglomeraty AA utworzone w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym przy zastosowaniu jako cieczy nawilżającej wody (AA) i 50 % wodnego roztworu cukru (AAC) (tab. 1).

Kinetyczny ( $\varphi$ ), jak i efektywny ( $\delta$ ) kąt tarcia wewnętrzny jest charakterystyczny dla danego materiału sypkiego i zależy od wielkości naprężenia konsolidującego. Uzyskane wyniki efektywnego kąta tarcia wewnętrznego ( $\delta$ ) badanych odżywek charakteryzowały się wyższymi wartościami w stosunku do wartości kinetycznego kąta tarcia wewnętrznego ( $\varphi$ ), niezależnie od rodzaju otrzymanego aglomeratu (tab. 1 i 2). Największe wartości kąta tarcia wewnętrznego ( $\varphi$ ) i ( $\delta$ ) wykazywały odżywki aglomerowane wodą w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym (AA, AB, AC), najmniejsze zaś wartości kinetycznego, jak i efektywnego kąta tarcia wewnętrznego wy-

kazywały aglomeraty utworzone przy zastosowaniu jako cieczy nawilżającej 2 % wodnego roztworu lecytyny (AAL, ABL, ACL) (tab. 1 i 2).

Kohezijność (C) badanej żywności w proszku ulega zwiększeniu wraz ze wzrostem naprężenia konsolidującego. Największą spójność cząsteczkową (kohezijność) wykazywały odżywki – aglomeraty AA i AAC, najmniejszą zaś kohezijność aglomeraty AAL i ABM (tab. 1 i 2). Zastosowanie wody jako cieczy nawilżającej w procesie aglomeracji w pneumatycznie generowanym (wytwarzaniu) złożu fluidalnym, niezależnie od składu surowcowego odżywki (AA, AB, AC), powodowało wzrost kohezijności (C) w stosunku do odżywek aglomerowanych 2 % roztworem lecytyny i roztworem 50 % cukru (tab. 1). Jednocześnie wraz ze wzrostem sił kohezji wzrastała wytrzymałość na jednoosiowe ściskanie badanych odżywek – aglomeratów (tab. 1 i 2).

Tabela 1

Parametry plastycznego płynięcia odżywek dla dzieci w proszku aglomerowanych w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym.

Parameters of plastic flow of baby food powders that were agglomerated in a pneumatically fluidized bed.

Odżywka Baby food	$\sigma_E$ [kPa]	$\rho_k$ [kg/m <sup>3</sup> ]	$\varphi$ [°]	$\delta$ [°]	C [kPa]	$\sigma_c$ [kPa]	$\sigma_1$ [kPa]	$ff_c$ [-]
AA*	17,24	218 ± 1	21	31	4,40	10,2	31,9	3,1
	13,03	217 ± 1	21	31	3,71	8,9	25,0	2,8
	8,83	216 ± 1	24	35	2,76	6,8	18,4	2,7
	4,62	209 ± 0	28	39	1,67	4,4	11,1	2,5
AB*	17,24	388 ± 1	22	31	4,23	10,3	32,8	3,2
	13,03	388 ± 1	24	32	3,26	8,2	25,6	3,1
	8,83	387 ± 1	26	34	2,22	5,6	18,5	3,3
	4,62	383 ± 1	26	37	1,41	3,4	10,1	3,0
AC*	17,24	366 ± 1	22	31	3,75	9,1	32,7	3,6
	13,03	355 ± 1	21	32	3,79	8,9	24,7	2,8
	8,83	333 ± 1	21	32	2,53	5,8	16,8	2,9
	4,62	320 ± 1	24	36	1,57	4,0	9,6	2,4
AAL*	17,24	229 ± 0	16	18	1,97	4,0	24,2	6,1
	13,03	222 ± 2	15	19	1,39	2,9	18,9	6,5
	8,83	215 ± 1	16	21	1,11	2,4	13,1	5,5
	4,62	214 ± 1	19	25	0,83	1,9	7,5	3,9
ABL*	17,24	304 ± 0	12	18	2,49	5,0	24,3	4,9
	13,03	299 ± 2	12	19	2,21	4,2	18,8	4,5
	8,83	295 ± 3	13	22	1,72	3,3	13,2	4,0
	4,62	285 ± 5	16	25	1,06	2,2	7,5	3,4
ACL*	17,24	401 ± 5	17	24	3,14	6,3	27,4	4,3
	13,03	390 ± 4	16	24	2,58	5,3	20,8	3,9
	8,83	381 ± 3	17	20	1,66	4,1	14,2	3,5
	4,62	375 ± 1	20	29	1,17	2,2	8,2	3,7

cd. Tab. 1

AAC*	17,24	207 ± 1	15	20	2,06	4,3	25,5	5,9
	13,03	205 ± 0	16	22	2,01	4,2	20,2	4,8
	8,83	205 ± 1	17	25	1,66	3,7	14,5	3,9
	4,62	202 ± 1	17	29	1,27	2,7	8,2	3,0
ABC*	17,24	291 ± 3	15	21	2,55	5,2	25,2	4,8
	13,03	278 ± 4	13	22	2,29	4,6	19,0	4,1
	8,83	277 ± 1	13	23	1,88	3,8	13,2	3,5
	4,62	267 ± 0	17	29	1,24	2,8	7,8	2,8
ACC*	17,24	401 ± 1	22	32	4,83	11,2	32,8	2,9
	13,03	388 ± 1	24	33	3,86	9,6	26,1	2,7
	8,83	380 ± 1	24	34	2,57	6,4	18,2	2,8
	4,62	366 ± 0	28	37	1,33	3,5	10,4	3,0

Objaśnienia: Explanatory notes:

\* - Aglomeracja odżywek cieczą nawilżającą: wodą (AA, AB, AC), 2 % wodnym roztworem lecytyny (AAL, ABL, ACL), 50 % wodnym roztworem cukru (AAC, ABC, ACC) / Agglomerating baby food using the following moistening liquid: water (AA, AB, AC), 2% lecithin solution (AAL, ABL, ACL), and 50% water solution of sugar (AAC, ABC, ACC);

$\sigma_E$  – naprężenie konsolidujące / consolidating stress;  $\rho_k$  – gęstość nasypowa materiału skonsolidowanego / bulk density of consolidated material;  $\varphi$  – kinetyczny kąt tarcia wewnętrznego / kinetic angle of internal friction;  $\delta$  – efektywny kąt tarcia wewnętrznego / effective angle of internal friction; C – kohezynność / cohesion;  $\sigma_c$  – wytrzymałość na jednoosiowe ściskanie / unconfined yield strength;  $\sigma_1$  – główne naprężenie konsolidujące / major consolidating stress;  $ff_c$  – indeks płynięcia / flow index

Tabela 2

Parametry plastycznego płynięcia odżywek dla dzieci w proszku aglomerowanych w mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym.

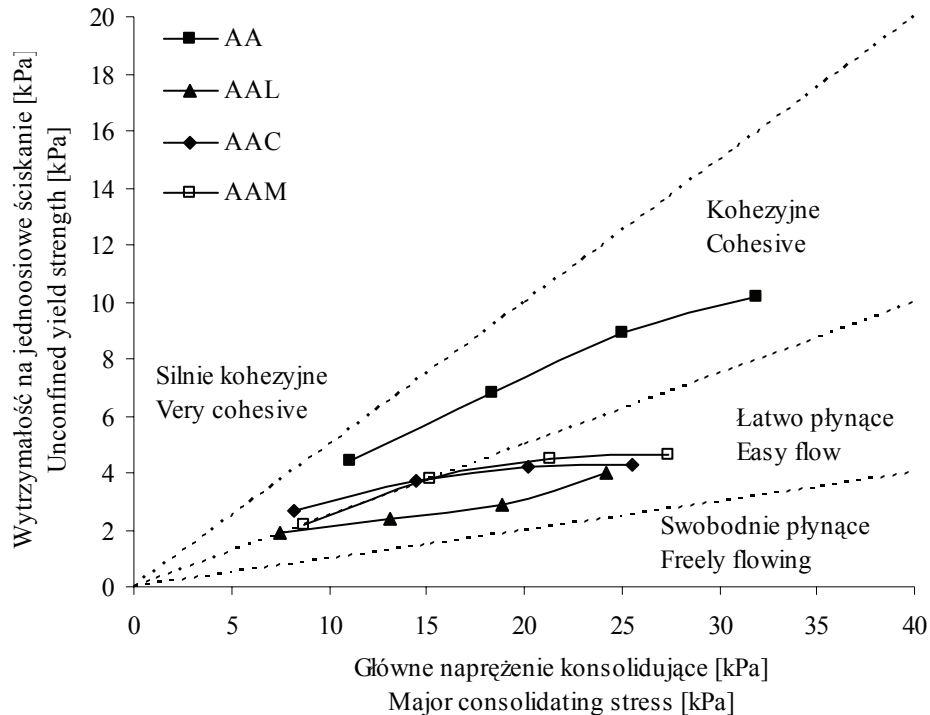
Parameters of plastic flow of baby food powders agglomerated in a mechanically fluidized bed.

Odżywka Baby food	$\sigma_E$ [kPa]	$\rho_k$ [kg/m <sup>3</sup> ]	$\varphi$ [°]	$\delta$ [°]	C [kPa]	$\sigma_c$ [kPa]	$\sigma_1$ [kPa]	$ff_c$ [-]
AAM*	17,24	262 ± 2	18	23	2,04	4,6	27,4	6,0
	13,03	262 ± 0	19	24	2,11	4,5	21,3	4,7
	8,83	258 ± 0	20	27	1,64	3,8	15,2	4,0
	4,62	257 ± 1	23	30	0,91	2,2	8,7	4,0
ABM*	17,24	395 ± 2	21	25	1,78	4,2	29,1	6,9
	13,03	393 ± 1	21	26	1,69	3,9	22,5	5,8
	8,83	388 ± 2	22	28	1,24	2,9	15,8	5,4
	4,62	385 ± 1	27	30	0,46	1,0	8,8	8,8
ACM*	17,24	547 ± 1	23	28	2,18	5,1	30,6	6,0
	13,03	544 ± 1	23	27	1,18	2,9	23,1	8,0
	8,83	533 ± 1	23	28	1,12	2,7	15,8	5,9
	4,62	531 ± 2	28	34	0,54	2,3	9,7	4,2

Objaśnienia: Explanatory notes:

\* Aglomeracja odżywek wodą jako cieczą nawilżającą / Agglomerating baby food using water as a moistening liquid

$\sigma_E$  – naprężenie konsolidujące / consolidating stress;  $\rho_k$  – gęstość nasypowa materiału skonsolidowanego / bulk density of consolidated material;  $\varphi$  – kinetyczny kąt tarcia wewnętrznego / kinetic angle of internal friction;  $\delta$  – efektywny kąt tarcia wewnętrznego / effective angle of internal friction; C – kohezynność / cohesion;  $\sigma_c$  – wytrzymałość na jednoosiowe ściskanie / unconfined yield strength;  $\sigma_1$  – główne naprężenie konsolidujące / major consolidating stress;  $ff_c$  – indeks płynięcia / flow index



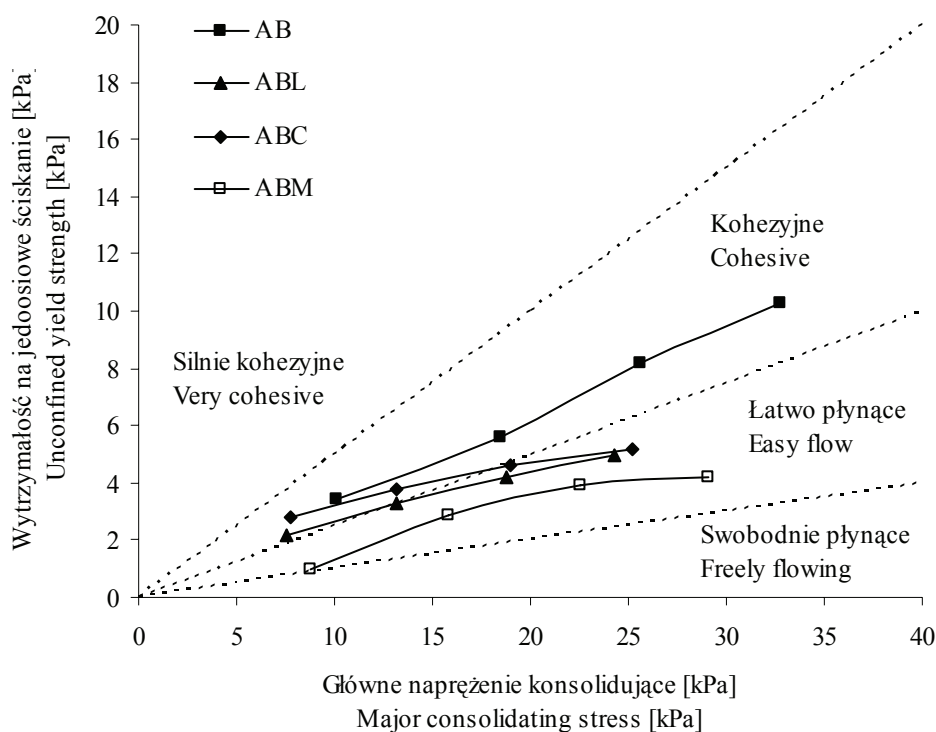
Rys. 2. Funkcja płynięcia odżywki w proszku dla dzieci AA aglomerowanej: wodą (AA), 2 % wodnym roztworem lecytyny (AAL), 50 % wodnym roztworem cukru (AAC) w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym i aglomerowanej wodą (AAM) w mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym.

Fig. 2. Flow function of 'AA' baby good powder agglomerated using: water (AA), 2 % lecithin solution (AAL), 50 % water solution of sugar (AAC) in a pneumatically generated fluidized bed, as well as agglomerated using water (AAM) in a mechanically generated fluidized bed.

Na rys. 2., 3. i 4. przedstawiono funkcje płynięcia badanych aglomeratów sproszkowanych odżywek dla dzieci oraz zobrazowano rozkład zdolności do płynięcia badanych odżywek, dzieląc obszar wykresu na części odpowiadające granicznym wartościom indeksu płynięcia ( $ff_c$ ), zgodnie z kryterium podanym przez Jenike i Carson [8]. Średni indeks płynięcia ( $ff_c$ ) badanych aglomeratów otrzymanych w stosowanym przedziale naprężenia konsolidującego wynosił odpowiednio 2,8 - 3,2 w stosunku do odżywek aglomerowanych wodą w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym (AA, AB, AC); 3,9 - 5,5 w odniesieniu do odżywek aglomerowanych 2 % wodnym roztworem lecytyny w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym (AAL, ABL, ACL); 2,4 - 4,4 w odżywkach aglomerowanych 50 % wodnym roztworem cukru w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym (AAC, ABC, ACC) oraz 4,7 - 6,7 w odżywkach aglomerowanych wodą w mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym (AAM,

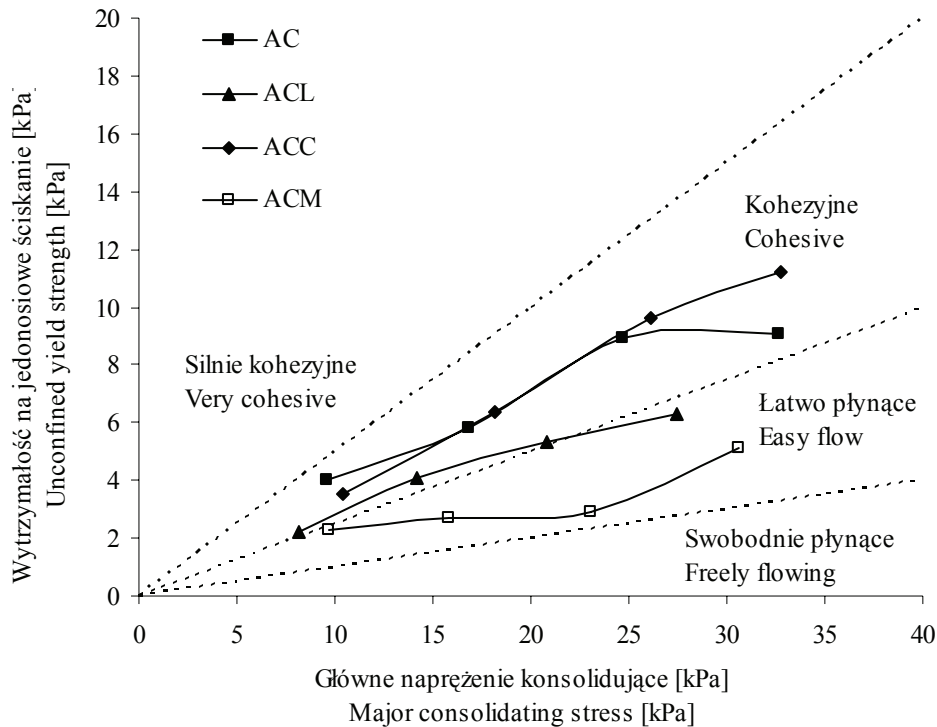


ABM, ACM). Funkcje płynięcia aglomeratów sproszkowanych odżywek dla dzieci aglomerowanych 50 % roztworem cukru w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym oraz aglomeraty aglomerowane wodą w mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym znajdują się w obszarze  $4 < ff_c < 10$ , co świadczy o tym, że są to materiały słabo kohezyjne, łatwo płynące. Funkcje płynięcia utworzonych aglomeratów modelowych sproszkowanych odżywek dla dzieci aglomerowanych wodą i 2 % wodnym roztworem lecytyny w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym znajdują się w obszarze  $2 < ff_c < 4$ , co klasyfikuje badane materiały jako aglomeraty kohezyjne, trudno płynące (rys. 2, 3 i 4).



Rys. 3. Funkcja płynięcia odżywki w proszku dla dzieci AB aglomerowanej: wodą (AB), 2 % wodnym roztworem lecytyny (ABL), 50 % wodnym roztworem cukru (ABC) w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym i aglomerowanej wodą (ABM) w mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym.

Fig. 3. Flow function of 'ABM' baby food powder agglomerated using: water (AB), 2 % lecithin solution (ABL), 50 % water solution of sugar (ABC) in a pneumatically generated fluidized bed, as well as agglomerated using water (ABM) in a mechanically generated fluidized bed.



Rys. 4. Funkcja płynięcia odżywki w proszku dla dzieci AC aglomerowanej: wodą (AC), 2 % wodnym roztworem lecytyny (ACL), 50 % wodnym roztworem cukru (ACC) w pneumatycznie wytwarzanym złożu fluidalnym i aglomerowanej wodą (ACM) w mechanicznie wytwarzanym złożu fluidalnym.

Fig. 4. Flow function of 'AC' baby food powder agglomerated using: water (AC), 2 % lecithin solution (ACL), 50 % water solution of sugar (ACC) in a pneumatically generated fluidized bed, as well as agglomerated using water (ACM) in a mechanically generated fluidized bed.

## Wnioski

1. Parametry plastycznego płynięcia uzyskane z testów bezpośredniego ścinania i charakteryzujące właściwości reologiczne aglomerowanych odżywek dla dzieci zależą od składu surowcowego odżywek, sposobu aglomeracji i rodzaju cieczy nawilżającej użytej w tym procesie oraz przyjętego zakresu naprężeń konsolidujących.
2. Test jednoosiowego ścinania pozwolił scharakteryzować właściwości reologiczne badanych aglomeratów sproszkowanych odżywek dla dzieci i wykazał różne właściwości kohezyjne tych materiałów. Funkcja płynięcia określa utworzone aglomeraty sproszkowanych odżywek dla dzieci jako materiały słabo kohezyjne, łatwo

płynące oraz jako materiały kohezyjne, trudno płynące w zależności od naprężenia konsolidującego.

3. W badanych odżywkach – aglomeratach – wraz ze wzrostem naprężenia konsolidującego wzrastała wytrzymałość materiału, kohezyjność, gęstość oraz indeks płynięcia, malał jedynie kąt tarcia wewnętrzznego niezależnie od składu surowcowego odżywek, sposobu aglomeracji i rodzaju cieczy nawilżającej (woda, 2 % wodny roztwór lecytyny, 50 % roztwór cukru).

*Praca naukowa finansowana ze środków MNiSzW na naukę w latach 2007 - 2009 jako projekt badawczy; była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.*

### Literatura

- [1] Al Mahdi R., Nasirpour A., Banon S., Scher J., Desobry S.: Morphological and mechanical properties of dried skimmed milk and wheat flour mixtures during storage. *Powder Technol.*, 2006, **163**, 145-151.
- [2] Domian E., Koper T., Lenart A.: Wpływ sposobu suszenia na płynięcie kaw rozpuszczalnych, *Acta Agrophysica*, 2004, **3(3)**, 315-324.
- [3] Domian E.: Właściwości modelowej żywności w proszku w aspekcie metody aglomeracji. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4 (45)**, 87-97.
- [4] Faqih A. N., Alexander A. W., Muzzio F. J., Tomassone M. S.: A method for predicting hopper flow characteristics of pharmaceutical powders. *Chem. Eng. Sci.*, 2007, **62**, 1536-1542.
- [5] Fitzpatrick J.J., Barringer S.A., Iqbal T.: Flow property measurement of food powders and sensitivity of Jenike's hopper design methodology to the measured values. *J. Food Eng.*, 2004, **61**, 399-405.
- [6] Fitzpatrick J.J., Barry K., Cerqueira P.S.M., Iqbal T., O'Neill J., Roos Y.H.: Effect of composition and storage conditions on the flowability of dairy powders. *Int. Dairy J.*, 2007, **17**, 383-392.
- [7] Freitas-Eduardo M., Silva-Lannes S.C.: Use of texture analysis to determine compaction force of powders. *J. Food Eng.*, 2007, **80**, 568-572.
- [8] Jenike A.W., Carson J.: Measurement principles of the flowability of powders. *Advance Ceramic*, 1985, **21**, 759-766.
- [9] Juliano P., Muhunthan B., Barbosa-Cánovas G.V.: Flow and shear descriptors of preconsolidated food powders. *J. Food Eng.*, 2006, **72**, 157-166.
- [10] Kowalska J., Lenart A., Dobrowolska J.: Wpływ czasu przechowywania na właściwości fizyczne i stabilność kakao z dodatkiem kwasu L-askorbinowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1 (46)**, 83-89.
- [11] Poszytek K., Lenart A.: Wpływ aglomeracji na właściwości fizyczne kaszek mleczno-zbożowych w proszku dla dzieci. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **2 (43) Supl.**, 156-163.
- [12] Turchiuli Ch., Eloualia Z., El Mansouri N., Dumoulin E.: Fluidised bed agglomeration: Agglomerates shape and end-use properties. *Powder Technol.*, 2005, **157**, 168-175.
- [13] Zander Z., Warechowski J.: Niestabilność ruchu proszku w bębnie obrotowym jako miara jego zdolności płynięcia. *Inż. Roln.*, 2005, **9 (69)**, 405-411.

**RHEOLOGICAL PROPERTIES OF AGGLOMERATED FOOD POWDERS FOR CHILDREN****S u m m a r y**

In the reported study, the effect was investigated of raw material composition, agglomeration method, and type of moistening liquid on the rheological properties of agglomerated baby food powders. The agglomeration process was performed using two methods: in a pneumatically and in a mechanically generated fluidized bed. The model food powders were mixtures composed of such powders as: milk powder, rice gruels, icing sugar, and strawberry powder. The measurements were carried out using a uniaxial shear test according to the measuring procedure conformable with the theory of Jenike, at four levels of consolidating stress in the range of 4.6-17.2 kPa. The following parameters of plastic flow of the agglomerates of baby food examined were determined: cohesion, internal angle of friction, unconfined yield strength, the highest consolidating stress, and flow index. The unconfined yield stress test made it possible to characterize the rheological properties of food powders for children analysed and to show various cohesive properties of those materials. Based on the flow function, the produced agglomerates of food powders for children are described as poorly cohesive, not easily flowing depending on the consolidating stress.

**Key words:** flow function, shear test, agglomeration, food powders ✕

ANNA KAMIŃSKA, VOLKER GAUKEL

## KONTROLA WZROSTU KRYSZTAŁÓW W LODACH SPOŻYWCZYCH

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu  $\kappa$ -karagenianu, dwóch przemysłowych mieszanek stabilizujących (Ice Pro i Cremodan SE 315 firmy Danisco) oraz wybranego białka ryb polarno-morskich, z grupy glikoprotein (AFGP), na proces rekrytalizacji lodu. Badania prowadzono w układach modelowych, którymi były roztwory sacharozy o stężeniu 49,1 % z dodatkiem wymienionych substancji, jak również w lodach spożywczych. Analizowano proces rekrytalizacji na podstawie zdjęć kryształów lodu wykonanych, po odpowiednim czasie przechowywania, za pomocą mikroskopu (Olympus bz-41) oraz kamery (SIS-Altra 20), przystosowanych do wykonywania zdjęć w ujemnej temperaturze. Następnie przeanalizowano zdjęcia z wykorzystaniem oprogramowania Image-Pro Plus.

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że obecność  $\kappa$ -karagenianu w próbkach modelowych miała większy wpływ na zahamowanie procesu rekrytalizacji niż dodatek przemysłowych mieszanek stabilizujących. Jednocześnie wykazano, że proces rekrytalizacji był najskuteczniej hamowany w modelach z dodatkiem AFGP. W próbkach lodów spożywczych dodatek  $\kappa$ -karagenianu nie wykazywał tak dobrego efektu, jak w przypadku układów modelowych, a najskuteczniejsze w hamowaniu procesów rekrytalizacji okazały się dodatki Ice Pro oraz mieszanka Cremodan SE 315 plus AFGP.

**Słowa kluczowe:** lody spożywcze, rekrytalizacja,  $\kappa$ -karagenian, mieszanki stabilizujące

### Wprowadzenie

Jednym z głównych problemów produkcji i przechowywania lodów spożywczych jest konieczność kontrolowania wzrostu kryształów. Hamowanie procesu rekrytalizacji może być ważnym czynnikiem determinującym gładką, kremową, a przez to akceptowaną przez konsumentów konsystencję tych produktów. Rozwiązaniem tego problemu mogłyby być dodatki substancji ochronnych, pozwalających na kontrolowany wzrost kryształów. Właściwości takie wykazują trudno zamarzające białka (antifreeze

---

*Dr inż. A. Kamińska, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa, dr. V. Gaukel, Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Universität Karlsruhe T.H., Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe, Deutschland*

proteins AFPs), pochodzące z niektórych gatunków organizmów. Substancje tego typu zdecydowanie spowalniają procesy rekrytalizacji podczas przechowywania i rozmrażania produktów [4], jednak ich otrzymanie jest dość kosztowne, a ryby polarno-morskie, będące głównym źródłem tych związków, nie mogą pokryć zapotrzebowania na dużą skalę produkcyjną. Dlatego ciągle poszukuje się substancji bardziej dostępnych i łatwiejszych do pozyskania, pozwalających jednocześnie na uzyskanie podobnych efektów przy kontroli procesów rekrytalizacji. Do produkcji lodów spożywczych od dawna stosowane są karageniany, karboksymetyloceluloza, guma guar czy ksantan, jednak ich skuteczność w znacznym stopniu odbiega od skuteczności, jaką może zapewnić AFP's [1, 7, 8, 10, 12, 13, 14]. Dobre efekty przynosi zastosowanie jako stabilizatora karagenianu z grupy kappa, ale mechanizm tego działania nie jest jeszcze dokładnie poznany.

Celem pracy było porównanie wpływu  $\kappa$ -karagenianu, dwóch przemysłowych mieszanek stabilizujących (Ice Pro i Cremodan SE 315 firmy Danisco) oraz wybranego białka ryb polarno-morskich, z grupy glikoprotein (AFGP), na proces rekrytalizacji lodu w lodach spożywczych.

### **Material i metody badań**

Badania przeprowadzono na próbkach modelowych oraz lodach spożywczych, z dodatkiem substancji stabilizujących.

Układy modelowe przygotowywano z roztworów sacharozy o stężeniu 49,1 % z następującymi dodatkami: 1) 0,2 %  $\kappa$ -karagenian (Fluka) (w przypadku produkcji lodów, dodatkowo emulgator); 2) 0,55 % Ice Pro (Danisco); 3) 0,55 % Cremodan SE 315 (Danisco); 4) 0,55 % Cremodan SE 315 + 150 pmol AFGP (ok. 0,39  $\mu\text{g/ml}$ ).

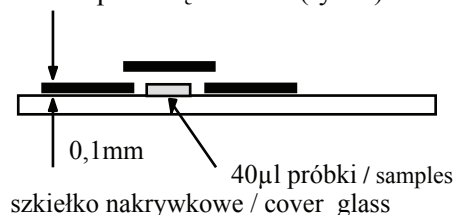
Cremodan SE 315 jest standardową mieszanką mono- i di-glicerydów, gumy guar, gumy celulozowej i pochodnych silikonowych, natomiast Ice Pro to nowy dodatek stabilizujący, który oprócz wymienionego standardu zawiera również monoester glikolu propylenowego.

Próbą odniesienia (kontrolną) był roztwór sacharozy o takim samym stężeniu.

Material do badań stanowiły również lody spożywcze z dodatkiem wymienionych czterech substancji stabilizujących. Mieszanka, z której przygotowano lody zawierała: 22 % śmietany (33 % zawartości tłuszczu), 56,24 % odtłuszczonego (0,3 %) mleka, 5 % odtłuszczonego mleka w proszku, 11 - 12 % sacharozy i 4,01 % glukozy. Przygotowaną mieszankę do produkcji lodów pasteryzowano, chłodzono do temp. 4 °C i wprowadzano do frezera urządzenia APV Soren CS 200. Lody pakowano do pojemników o pojemności 2,5 l. Wybrane próbki hartowano w temp. -50 °C, a następnie umieszczano na jeden miesiąc w zamrażarkach o temp. -12 i -20 °C. Pozostałe próbki bezpośrednio po wytworzeniu przechowywano w tych samych warunkach temperaturowych bez hartowania.

*Przygotowanie próbek do komputerowej analizy obrazu*

Roztwory sacharozy (z każdego z wymienionych wariantów) pobierano w ilości 40  $\mu\text{l}$  i umieszczano na szkiełku podstawowym, między dwa umocowane wcześniej za pomocą kleju szkiełka nakrywkowe. Próbkę przykrywano kolejnym szkiełkiem nakrywkowym i uszczelniano za pomocą silikonu (rys. 1).



Rys. 1. Przygotowanie próbki do analizy komputerowej.

Fig. 1. Preparing a sample for computer analyses.

Przed umieszczeniem próbek w komorze o stałej, kontrolowanej temp.  $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$  zamrażano je za pomocą ciekłego azotu o temp.  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  i wprowadzano do komory przechowalniczej w stanie szklistym.

W celu przygotowania do analizy mikroskopowej lodów, pobierano próbki z odległości ok. 20 mm od powierzchni za pomocą korkoboru o średnicy 10 mm, pokrywano kroplą etylu acetylowego w celu zamaskowania fazy tłuszczowej, a następnie przykrywano szkiełkiem, eliminując przez delikatny nacisk bąble powietrza.

*Komputerowa analiza obrazu*

Próbki (w układach modelowych) przechowywano przez 7 dni, a zdjęcia wykonywano po: 4, 25, 50, 75, 100, 143 i 166 h. Zdjęcia lodów wykonywano po miesiącu przechowywania. Podczas eksperymentu wykonywano zdjęcia obrazu spod mikroskopu Olympus bz-41, za pomocą aparatu SIS-Altra 20 oraz z wykorzystaniem oprogramowania AnalySIS getIT. W ciągu tygodnia dokonywano analizy obrazu przy użyciu oprogramowania Image-Pro Plus. Analiza jednej próbki wymagała dokładnego obrysowania powierzchni od 300 do 500 kryształów. Pole powierzchni (A) każdego kryształu było liczone przez program automatycznie. Na tej podstawie obliczano średnicę (D) kryształów, korzystając z następującej zależności:

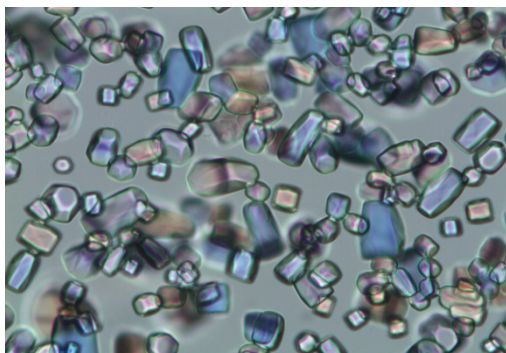
$$D_{eq} = \sqrt{\frac{4A}{\pi}}$$

W przypadku każdej próbki obliczano średnią wartość D w  $\mu\text{m}$  i odchylenie standardowe.

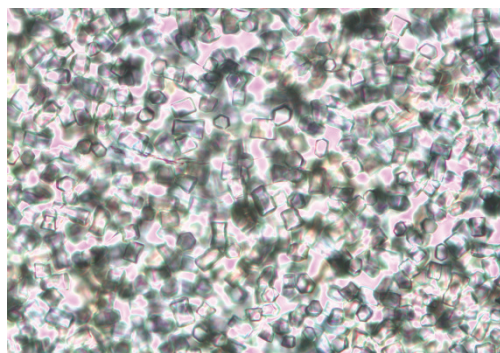


## Wyniki i dyskusja

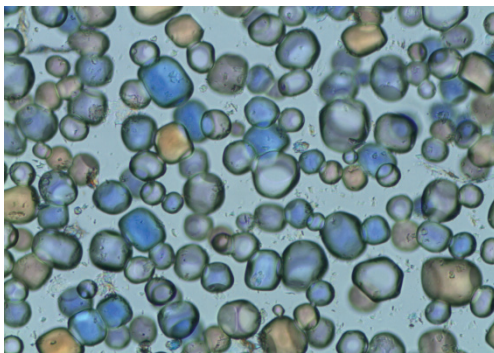
Z przeprowadzonych wcześniej doświadczeń wynika, że 0,2 % dodatek  $\kappa$ -karagenianu działa hamująco na przebieg procesów rekrystalizacji, a efekt ten jest porównywalny z efektem, jaki uzyskuje się po dodaniu 150 pmoli AFP's [2, 6, 9, 11, 12]. Potwierdziła to analiza zdjęć próbek modelowych (sacharoza 49,1 %), wykonanych po 50 h przechowywania w stałej temp.  $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$  (fot. 1). W próbkach tych dodatek  $\kappa$ -karagenianu jako stabilizatora przyniósł lepsze efekty niż dodatek przemysłowych mieszanek stabilizujących. Najlepsze efekty uzyskano przy zastosowaniu białka z grupy glikoprotein (AFGP), z ryb polarno-morskich.



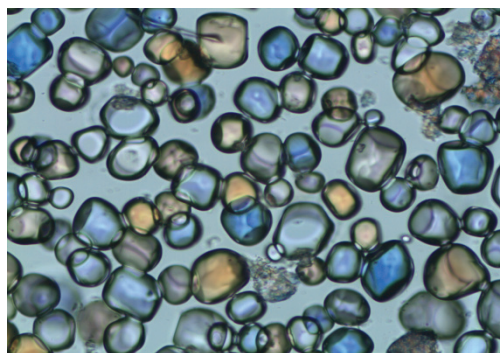
sacharoza+ $\kappa$ -karagenian  
sucrose+ $\kappa$ -carrageenan



sacharoza+AFGP  
sucrose+AFGP



sacharoza+Ice Pro  
sucrose+Ice Pro



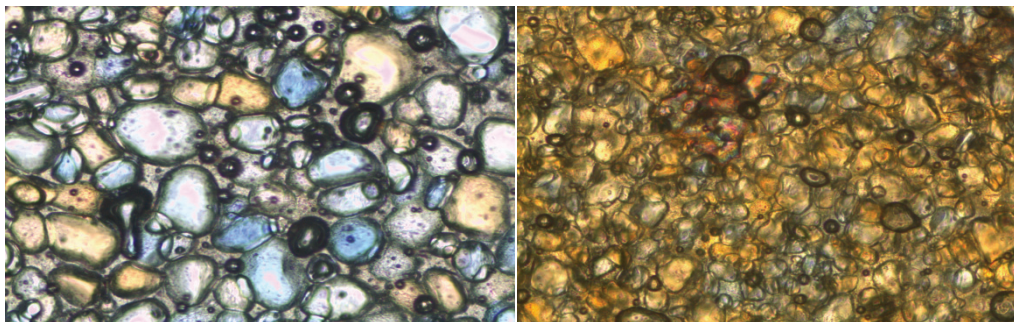
sacharoza+Cremodan SE 315  
sucrose+Cremodan SE 315

Fot. 1. Wpływ dodatku  $\kappa$ -karagenianu, AFGP i przemysłowych mieszanek stabilizujących do sacharozy na zmianę średnicy kryształów, po 50 h przechowywania w temp.  $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Phot. 1. Effect of addition of  $\kappa$ -carrageenan, AFGP and industrial mixtures of stabilizers to the sucrose solution on the change in the diameter of ice crystals, after 50 h of storage at  $t = -8\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Dodatek  $\kappa$ -karagenianu i AFGP wpłynął nie tylko na zmianę średnicy, ale i kształtu kryształów. Przy dodatku wymienionych substancji powstawały kryształy o kształcie prostokątnym lub trapezowym (rys. 2), co potwierdza wcześniejsze badania na układach modelowych z dodatkiem tych substancji [5, 6]. Procesy rekrytalizacji nieograniczone działaniem żadnych dodatków stabilizujących powodują powstawanie dużych okrągłych kryształów [3]. Kryształy lodu na zdjęciach próbek z dodatkiem mieszanek przemysłowych zarówno rozmiarami, jak i kształtem bardziej przypominały kryształy w próbkach sacharozy bez żadnego dodatku stabilizującego.

W próbkach lodów spożywczych (fot. 2) z dodatkiem  $\kappa$ -karagenianu nie uzyskano tak dobrego efektu, jak w przypadku układów modelowych. Skuteczność jego działania w lodach mlecznych zależy w głównej mierze od zawartości jonów wapnia i zawartości tłuszczu [15]. Dodatek  $\kappa$ -karagenianu znajduje zastosowanie jako stabilizator do owocowych lodów wodnych. Stwierdzono [9], że mieszanka stabilizująca, w której użyto  $\kappa$ -karagenian nadawała sorbetom większą puszystość niż np. mieszanka z dodatkiem gumy ksantanowej, a kryształki lodu były niewyczuwalne.



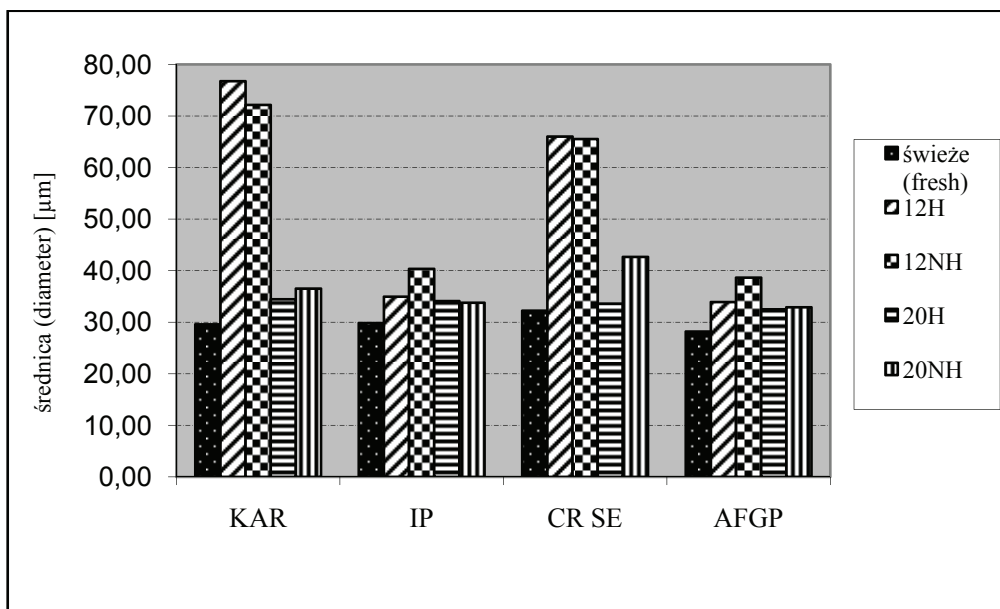
$\kappa$ -karagenian w lodach spożywczych  
 $\kappa$ -carrageenan in ice cream

Ice Pro w lodach spożywczych  
Ice Pro in ice cream

Fot. 2. Wpływ dodatku  $\kappa$ -karagenianu i mieszanki Ice Pro na przebieg procesu rekrytalizacji w lodach spożywczych.

Phot. 2. Effect of the addition of  $\kappa$ -carrageenan and Ice Pro mixture on the recrystallization process course in ice cream.

W celu uniknięcia obniżenia jakości lodów w czasie przechowywania, część z nich po formowaniu poddano hartowaniu w temperaturze  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Proces ten nie wpłynął istotnie na zmianę wielkości kryształów, jedynie zmiana temperatury przechowywania miała istotny wpływ na przyspieszenie wzrostu kryształów (rys. 2).



Rys 2. Wpływ dodatków stabilizujących na zmianę średnicy kryształów w lodach po miesiącu przechowywania w temp. -12 i -20 °C; H - lody hartowane, NH - lody niehartowane.

Fig. 2. Effect of the stabilizing additions on the change in the diameter of ice crystals in ice cream after one month of storage at  $t = -12$  and  $t = -20$  °C; H - hardened ice cream, NH - non-hardened ice cream.

### Wnioski

1. Obecność  $\kappa$ -karagenianu w układach modelowych hamowała rekrytalizację efektywniej niż przemysłowe mieszanki stabilizujące. Efekt ten nie był powtarzalny w lodach spożywczych.
2. W lodach spożywczych dobre rezultaty uzyskano po zastosowaniu przemysłowej mieszanki stabilizującej o nazwie Ice Pro. Średnica kryształów lodu po miesiącu przechowywania nie przekroczyła 40  $\mu\text{m}$ , niezależnie od temperatury przechowywania.
3. Efekt działania Ice Pro był porównywalny z efektem działania glikoprotein AFGP, jednak glikoproteiny te są kosztowne w otrzymywaniu.
4. W podwyższonej temperaturze przechowywania (-12 °C) proces rekrytalizacji przebiegał intensywniej.

*Praca była prezentowana podczas I Sympozjum Żywności z okazji 30-lecia powołania specjalizacji Inżynieria Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW, Warszawa, 5 - 6 czerwca 2008 r.*

### Literatura


- [1] Cottrell J.I.L., Pass G., Philips G.O.: Assessment of polysaccharides ice cream stabilizers. *J. Sci. Food Agric.*, 1979, **30**, 1085.
- [2] Dłużewska E., Gazda B., Leszczyński K.: Wpływ wybranych hydrokoloidów polisacharydowych na jakość koncentratów lodów owocowych. *Technologia Alimentaria*, 2003, **2 (1)**, 97-107.
- [3] Donhowe D.P., Hartel R.W.: Recrystallization of Ice in Ice Cream During Controlled Accelerated Storage. *Int. Dairy J.*, 1996, **6**, 1191-1208.
- [4] Feeney R.E., Yeh Y.: Antifreeze proteins: current status and possible food uses. *Trends Food Sci. Technol.*, 1998, **9**, 102-106.
- [5] Gaukel V., Karl A., Muller K., Spiess W.E.L.: Einfluss von Antieisproteinen auf die Rekristallisation von Eis in Modelllösungen für Eiskrem. *Chemie Ingenieur Technik*, 2003, **8 (75)**, 1073.
- [6] Gaukel V., Spiess W.E.L.: Untersuchungen zum Einfluss von Antieisproteinen auf die Rekristallisation von Eis während der Gefrierlagerung, dargestellt an Modelllösungen für Eiskrem. Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften, GCA-Verlag Herdecke 2004.
- [7] Goff H.D., Ferdinando D., Schorsch C.: Fluorescence microscopy to study galactomannan structure in frozen sucrose and milk protein solutions. *Food Hydrocol.*, 1999, **13**, 353-362.
- [8] Hagiwara T., Hartel R.W.: Effect of sweetener, stabilizer and storage temperature on ice recrystallization in ice cream. *J. Dairy Sci.*, 1996, **79**, 735-744.
- [9] Maksimowicz K., Grodzka K., Krygier K.: Ocena wpływu dodatku celulozy mikrokrystalicznej jako stabilizatora do owocowych lodów wodnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47) Supl.**, 198-205.
- [10] Marshall T., Arbuckle W.S.: *Ice Cream*, 5<sup>th</sup> ed., Chapman and Hall, New York 1996.
- [11] Kamińska A., Gaukel V.: **brak tytułu** *Mat. XIII Sesji Nauk. SMKN PTTŻ nt. „Żywność współczesna – szanse i zagrożenia”*, Łódź 2008, s. 85.
- [12] Regand A., Goff H. D.: Structure and ice recrystallization in frozen stabilized ice cream model systems. *Food Hydrocoll.*, 2002, **17**, 95-102.
- [13] Rutkowski A., Gwiazda S., Dąbrowski K.: *Dodatki funkcjonalne do żywności*. Agro & Food Technology, Katowice 1993.
- [14] Sutton R.L., Wilcox J.: Recrystallization in ice cream as affected by stabilizers. *J. Food Sci.*, 1998, **63**, 104-107.
- [15] Vega C., Dalgleish D.G., Goff H.D.: Effect of  $\kappa$ -carrageenan addition to dairy emulsions containing sodium caseinate and locust bean gum. *Food Hydrocoll.*, 2005, **19**, 187-195.

### MONITORING THE GROWTH OF CRYSTALS IN ICE CREAM

#### Summary

The objective of this study was to determine the effect of  $\kappa$ -carrageenan, two industrial stabilizing mixtures (Ice pro and Cremodan SE 315; Danisco), and one polar fish protein selected from a glikoprotein group on the ice crystallization process. The research was carried out in model systems consisting of a 49.1 % sucrose solution with the above named substances added to it, as well as in ice cream. The recrystallization process was analysed based on the photos of ice crystals taken after a specific storage time and using a microscope (Olympus bz-41) and a camera (SIS-Altra 20) adapted to work at temperatures below zero. Next, those photos were analyzed using an Image-Pro Plus programme.

Based on the experiments performed it was found that the addition of  $\kappa$ -carrageenan to the model systems had a stronger effect on inhibiting the recrystallization process than the addition of industrial stabilizing mixtures. At the same time, it was proved that the recrystallization process was most effectively inhibited in the model systems with the addition of AFGP. In the ice cream samples, the addition of  $\kappa$ -carrageenan didn't show such a good result as in the case of the model systems, and the additions of Ice Pro and a mixture of Cremodan SE 315 and AFGP proved to be most effective in inhibiting the recrystallization process.

**Key words:** ice cream, recrystallization,  $\kappa$ -carrageenan, stabilization system 

KATARZYNA KOZŁOWICZ, FRANCISZEK KLUZA

## WPŁYW DODATKÓW NAPOJÓW ALKOHOLOWYCH NA PROCES ZAMRAŻANIA SORBETÓW OWOCOWYCH

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu napojów alkoholowych, dodawanych do sorbetów pomarańczowych, na kształtowanie się temperatury krioskopowej i przebieg zamrażania sorbetów. Próby sorbetów zamrażano metodą owiewową w temperaturze  $-32\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Temperatura krioskopowa badanych produktów była zależna od rodzaju i ilości dodawanych wyrobów alkoholowych. Większy ich udział powodował istotniejsze obniżenie wartości temperatury krioskopowej sorbetów. Badając sorbety oznaczano w nich zawartość ekstraktu ogólnego oraz przeprowadzono ocenę sensoryczną z zastosowaniem testu skalowania. Stwierdzono, że proces zamrażania wpływał w sposób zróżnicowany na zawartość ekstraktu. Sensorycznie najodpowiedniejszym mrożonym deserem owocowym tego typu okazały się sorbety zawierające w swoim składzie gin, szampan oraz wódkę, których udział masowy wynosił 7,50 %.

**Słowa kluczowe:** zamrażanie, temperatura krioskopowa, sorbet owocowy, dodatki alkoholowe

### Wprowadzenie

Lody stają się coraz popularniejszym towarem w Polsce, a ich asortyment stale się zwiększa pod względem rodzajów i stosowanych dodatków smakowych. Obserwuje się wzrost spożycia tych produktów również poza sezonem letnim, przy czym dla konsumenta istotna jest coraz częściej wartość kaloryczna lodów. W ofercie towarowej pojawiły się więc lody niskokaloryczne, beztłuszczowe, wytwarzane z owoców i soków owocowych [13]. W związku ze zmianą modelu życia i bardziej świadomym odżywianiem się ludzi, przemysł chłodniczy powinien być przygotowany do zaspokojenia wzrastających potrzeb oraz wymagań konsumentów, w tym m.in. dotyczących produkcji nowych przetworów, szczególnie owocowych.

Sorbety, czyli lody wodne, są produktami niezawierającymi tłuszczu i białka. Produkowane są poprzez zamrażanie płynnej mieszanki owocowej, która zawiera



świeży sok owocowy lub owoce mrożone w postaci przecierów, kremogenów lub koncentratów. Nieodzownym czynnikiem kształującym ich jakość jest proces zamrażania. Dobranie odpowiedniej technologii zamrażania umożliwi zachowanie założonych właściwości sensorycznych sorbetu przez wiele miesięcy przechowywania.

Jedną z głównych cech termofizycznych każdego produktu zamrażanego jest jego temperatura krioskopowa. Znajomość jej pozwala na określenie optymalnych warunków zamrażania oraz przechowywania produktów w stanie przechłodzenia. Skutkuje to możliwością zminimalizowania ujemnego wpływu na zamrażany materiał powstających w nim kryształów lodu [1, 5, 15]. Krystalizacja wody zawartej w sorbetach podczas zamrażania jest podstawowym procesem, który kształtuje ich jakość. Kontrola wzrostu kryształów lodu, także poprzez obniżanie wartości temperatury krioskopowej takich produktów, może pozwolić na uzyskanie ich wysokich walorów sensorycznych, odżywczych i fizycznych [7, 10, 16, 18].

Celem pracy było określenie wpływu dodatku napojów alkoholowych do sorbetów pomarańczowych na kształtowanie się ich temperatury krioskopowej i przebieg zamrażania sorbetów.

### **Material i metody badań**

Materiałem użytym do sporządzenia sorbetów był sok wyciśnięty ze świeżych owoców pomarańczy z dodatkiem wody i cukru (sacharozy). Surowce zakupiono w sieci detalicznej.

Pomarańcze wykorzystane w badaniach były świeże, średniej wielkości, kuliste oraz charakteryzowały się pozbawioną przebarwień pomarańczową skórką, a ich miąższ miał barwę pomarańczową i był soczysty. Owoce były w pełni dojrzałe, bez niedopuszczalnych zmian skórki i cechowały się właściwym kształtem, barwą oraz smakiem. Podstawowym składnikiem badanego sorbetu był wyciśnięty z nich sok, który charakteryzował się słodko-kwaśnym smakiem oraz właściwym dla danego owocu zapachem i barwą, a jego konsystencja była jednorodna, płynna, nieklarowna i bez cząstek miąższu. Zawartość ekstraktu wahała się w granicach od 10 do 12,6 %.

Sorbet pomarańczowy sporządzano z soku pomarańczowego i syropu cukrowego w stosunku 1 : 1 (m/m), przy czym używano syropu o 50-procentowej zawartości sacharozy. Tak przygotowana próba stanowiła próbę kontrolną, którą modyfikowano każdorazowo wyrobami alkoholowymi o udziale: 2,0; 5,0; 7,5 i 10,0 %, przy czym objętościowa zawartość alkoholu w tych wyrobach wynosiła: szampan – 10 %, likier – 22 %, Becherovka – 38 %, wódka „Balszój” – 40 %, koniak – 41 %, gin – 47 %, spirytus – 96 %.

Proces zamrażania sorbetów umieszczonych w pojemnikach o kształcie walca realizowano metodą owiewową w temp.  $-32,0$  °C, rejestrując temperaturę centrum termicznego próby za pomocą wielokanałowego termometru elektronicznego z odpo-



wiednim oprogramowaniem (dokładność pomiaru  $\pm 0,05$  °C). Wartość temperatury krioskopowej ( $T_{cr}$ ) wyznaczano metodą stycznych z uzyskanych krzywych zamrażania [4, 15].

Krzywa zamrażania jest jednym z najpewniejszych i szeroko wykorzystywanych źródeł danych w metodach wyznaczania temperatury krioskopowej żywności, jeśli jest dokładnie sporządzona. Uzyskuje się ją na podstawie wartości temperatury prób zarejestrowanych w czasie procesu ich zamrażania [15].

Zawartość ekstraktu ogólnego w gotowym sorbecie przed zamrożeniem i po rozmrożeniu oznaczano metodą refraktometryczną (refraktometr PAL1). Oznaczenie wykonano w temp. 20,0 °C [12].

Ocenę sensoryczną prowadzono z zastosowaniem testu skalowania metodą punktową i opisową. Ustalono następujące podstawowe wyróżniki jakości: barwa, smak, zapach oraz konsystencja [2, 11].

Wyniki badań wartościowano, stosując analizę wariacji oraz analizę regresji. Istotność różnic między wartościami średnimi określono za pomocą testu Tukey'a, przyjmując poziom istotności  $p = 0,05$ .

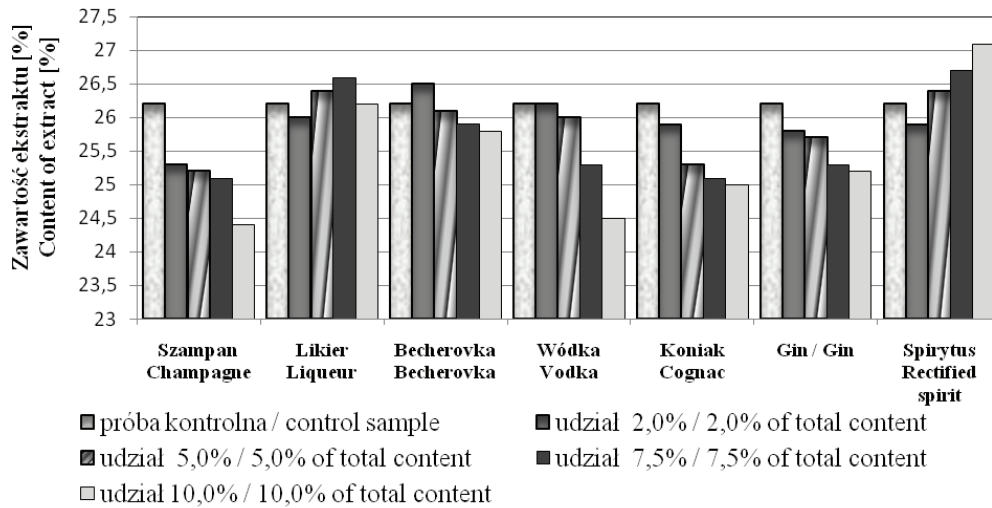
## Wyniki i dyskusja

Wyróżnikiem jakości, charakterystycznym dla sorbetów owocowych, jest zawartość ekstraktu ogólnego. Na ekstrakt składają się wszystkie substancje rozpuszczalne w wodzie (cukry, kwasy organiczne, substancje mineralne, witaminy, barwniki, garbniki i inne).

W badanych sorbetach pomarańczowych zawartość ekstraktu ogólnego wahała się od 24,4 do 27,1 %, w zależności od modyfikacji składu napojem alkoholowym. Zwiększający się udział szampana, wódki, koniaku lub ginu powodował ilościowe zmniejszanie zawartości ekstraktu w oznaczanych próbach (rys. 1). Proces zamrażania wpłynął w niewielkim stopniu na zmniejszenie zawartości ekstraktu ogólnego w próbach.

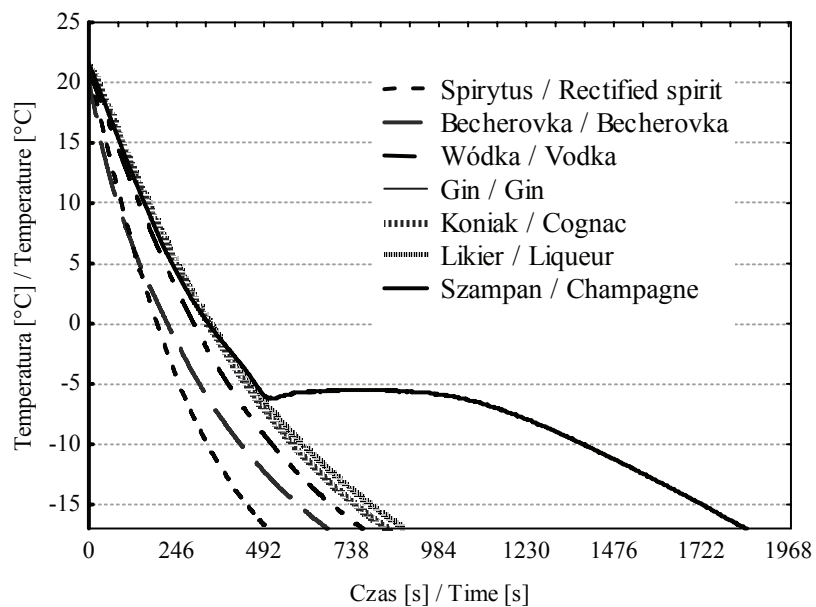
Z sondaży wynika, że Polacy zwracają uwagę, poza ceną i smakiem wyrobu alkoholowego, również na jego pochodzenie, naturalne procesy produkcyjne oraz tradycję. Innowacyjność i nowoczesność nie są natomiast czynnikami, które znalazłyby uznanie wśród większej rzeszy konsumentów. Około 40 % osób badanych uznało krajowe pochodzenie alkoholu za największy atut. Wśród nich najwięcej, bo aż 60,3 % stanowią osoby preferujące wódkę. Natomiast w grupie konsumentów wybierających koniak, brandy, gin i whisky bardzo liczyła się ekskluzywność napoju [8].

Analizując proces chłodzenia wyrobów alkoholowych wykorzystanych w badaniach (rys. 2) należy stwierdzić, że najkrótszym czasem chłodzenia cechował się spirytus. Jego konsystencja, jak również pozostałych alkoholi, poza szampanem, pozostała płynna. Czas chłodzenia szampana był najdłuższy, a po obniżeniu jego temperatury do -18,0 °C uzyskano stan stały.



Rys. 1. Zawartość ekstraktu ogólnego w sorbetach.

Fig. 1. Content of total extract in sorbets.



Rys. 2. Krzywe chłodzenia alkoholi.

Fig. 2. Chilling curves of alcohols.

Jedną z najważniejszych właściwości fizycznych produktów rolnych i żywności przetworzonej jest temperatura krioskopowa, której prawidłowe wyznaczenie stanowi niezwykle istotny problem w zamrażalnictwie, z uwagi na wielokierunkowe znaczenie

tej wielkości, np. jej znajomość daje możliwość oceny aktywności wody w produktach. Modele służące do wyznaczania początkowej temperatury krioskopowej żywności, za którą odpowiedzialny jest ułamek moli wody wolnej, wynikają z prawa Clausiusa-Clapeyrona i Raoult'a [3, 6, 9, 14, 19].

Zgodnie z oczekiwaniem, dodanie do sorbetów różnego rodzaju napojów alkoholowych spowodowało również zróżnicowaną zmianę wartości temperatury krioskopowej (tab. 1).

W celu dokładnego opisanie zjawiska wyznaczono równania regresji przedstawiające zależność wartości temperatury krioskopowej sorbetu od udziału w nim wyrobu alkoholowego. Potwierdzono obniżenie wartości temperatury krioskopowej sorbetu wraz ze zwiększającym się w nim udziałem danego napoju alkoholowego.

Tabela 1

Wartości temperatury krioskopowej sorbetu pomarańczowego z wybranymi napojami alkoholowymi.  
Cryoscopic temperature of orange sorbet with some selected alcoholic drinks added.

Dodatek alkoholu [%] Addition of alcohol [%]	Temperatura krioskopowa $T_{cr}$ [°C] Cryoscopic temperature $T_{cr}$ [°C]						
	Gin Gin	Likier Liqueur	Koniak Cognac	Becherovka Becherovka	Wódka Vodka	Szampan Champagne	Spirytus Rectified spirit
Próba kontrolna Control sample	-2,23±0,09 <sup>a</sup>	-2,23±0,09 <sup>a</sup>	-2,23±0,09 <sup>a</sup>	-2,23±0,09 <sup>a</sup>	-2,23±0,09 <sup>a</sup>	-2,23±0,09 <sup>a</sup>	-2,23±0,09 <sup>a</sup>
2,0	-2,97±0,14 <sup>b</sup>	-2,50±0,0 <sup>ab</sup>	- 2,77±0,20 <sup>ab</sup>	-2,70±0,06 <sup>b</sup>	-3,67±0,26 <sup>b</sup>	-2,30±0,12 <sup>a</sup>	-3,13±0,18 <sup>b</sup>
5,0	-3,40±0,15 <sup>c</sup>	- 2,77±0,12 <sup>bc</sup>	- 3,27±0,23 <sup>bc</sup>	-3,27±0,09 <sup>c</sup>	-3,77±0,20 <sup>b</sup>	-2,47±0,12 <sup>a</sup>	-5,07±0,07 <sup>c</sup>
7,5	-4,10±0,06 <sup>d</sup>	- 3,07±0,13 <sup>dc</sup>	-3,77±0,26 <sup>c</sup>	-3,73±0,07 <sup>d</sup>	- 4,00±0,21 <sup>bc</sup>	-2,67±0,09 <sup>a</sup>	-5,70±0,10 <sup>d</sup>
10,0	-4,40±0,10 <sup>d</sup>	-3,43±0,09 <sup>d</sup>	-4,23±0,24 <sup>c</sup>	-4,50±0,15 <sup>c</sup>	-4,87±0,29 <sup>c</sup>	-2,73±0,20 <sup>a</sup>	-7,30±0,10 <sup>e</sup>

Objaśnienia: Explanatory notes:

\*Wartości średnie, przy których występuje ta sama litera nie są statystycznie istotnie zróżnicowane / Mean values accompanied by the same letter are not statistically significantly differentiated.

Wartość temperatury krioskopowej próby kontrolnej sorbetu pomarańczowego wynosiła  $T_{cr} = -2,23$  °C. Dodanie szampana do próby kontrolnej w ilości 2,0 % spowodowało obniżenie temp. krioskopowej o ok. 0,1 °C, a zwiększenie tego udziału do 10,0 % obniżyło temperaturę krioskopową do  $T_{cr} = -2,73$  °C. Zwiększający się udział szampana nie wpłynął statystycznie istotnie na kształtowanie się temperatury krioskopowej. Natomiast dodanie 2,0 % likieru do sorbetu spowodowało obniżenie wartości

temperatury krioskopowej do  $T_{cr} = -2,50$  °C. Przy jego maksymalnym badanym udziale 10,0 % w sorbecie, temperatura krioskopowa obniżyła się do wartości  $T_{cr} = -3,43$  °C. Zależność wartości temperatury krioskopowej sorbetów od wielkości udziału w nich likieru przybrała postać funkcji liniowej o dużej sile powiązania ( $r = 0,95$ ).

Tabela 2

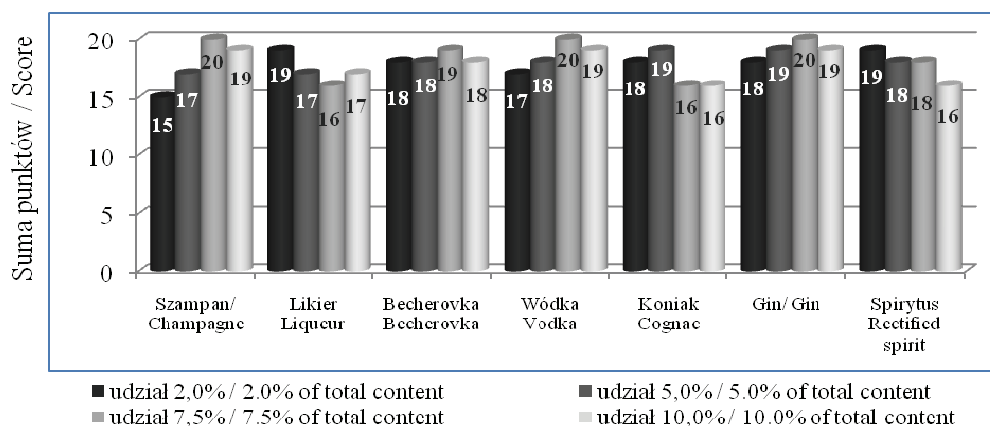
Zależności temperatury krioskopowej sorbetu ( $T_{cr}$ ) od udziału napoju alkoholowego (x).  
Dependence between the cryoscopic temperature of sorbet ( $T_{cr}$ ) and the per cent content of alcoholic drink (x) in sorbet.

Dodatek alkoholu Addition of alcohol	Równanie regresji Regression equation	Współczynnik korelacji r Correlation coefficient r
Szampan / Champagne	$T_{cr} = -2,22 - 0,05x$	-0,72
Gin / Gin	$T_{cr} = -2,37 - 0,212x$	-0,97
Likier / Liqueur	$T_{cr} = -2,23 - 0,12x$	-0,95
Koniak / Cognac	$T_{cr} = -2,29 - 0,192x$	-0,92
Becherovka / Becherovka	$T_{cr} = -2,22 - 0,22x$	-0,98
Wódka / Vodka	$T_{cr} = -2,65 - 0,212x$	-0,86
Spirytus / Rectified spirit	$T_{cr} = -2,24 - 0,50x$	-0,99

Podobnym przebiegiem zmian temperatury krioskopowej charakteryzowały się pozostałe próby z udziałem koniaku, becherovki, wódki i spirytusu. Przy maksymalnym dodatku koniaku na poziomie 10 % uzyskano obniżenie wartości tej temperatury do  $T_{cr} = -4,23$  °C. Najniższą wartość temperatury krioskopowej,  $T_{cr} = -7,30$  °C uzyskano przy 10 % udziale spirytusu. W przypadku każdej z badanych prób zwiększający się udział wybranego napoju alkoholowego powodował większe obniżenie wartości temperatury krioskopowej. Z analizy wariancji wynika, że zależności te, opisane równaniami prostoliniowymi, są statystycznie istotne ( $p = 0,05$ ) i mają wysokie współczynniki korelacji (tab. 2).

Badane sorbety pomarańczowe charakteryzowały się przyjemnym i umiarkowanie słodkim smakiem. Również ich zapach był przyjemny, właściwy oraz charakterystyczny dla użytych pomarańczy. Cechowały się one także jednorodną konsystencją, bez widocznych rozwarstwień. Barwa sorbetów była intensywna i charakterystyczna dla pomarańczy. Największą liczbę punktów w ocenie sensorycznej otrzymały sorbety z dodatkiem szampana, wódki oraz ginu o udziałach 7,5 % w próbie (rys. 3). Natomiast najniższą notę otrzymał produkt z 2,0 % dodatkiem szampana. Charakteryzował się on

dużą słodyczą i niewyczuwalnym smakiem użytego alkoholu, a jego konsystencja odznaczała się niewielkim rozwarstwieniem.



Rys. 3. Wyniki oceny sensorycznej sorbetów pomarańczowych.

Fig. 3. Sensory analysis results of investigated orange sorbets.

## Wnioski

1. Temperatura krioskopowa badanych sorbetów była istotnie zależna od rodzaju i ilości dodawanych napojów alkoholowych. W przypadku próby kontrolnej wynosiła ona  $T_{cr} = -2,23$  °C, natomiast jej wartości w przypadku modyfikowanych sorbetów zawierały się w przedziale od  $T_{cr} = -2,50$  °C do  $T_{cr} = -7,30$  °C.
2. Dodatki alkoholi do badanych próbek sorbetów powodowały znaczne obniżenie ich temperatury krioskopowej i były one tym większe, im większy był udział dodawanych wyrobów alkoholowych. Najniższą jej wartość wynoszącą  $T_{cr} = -7,30$  °C wykazywał sorbet, do którego dodano 10 % spirytusu.
3. Najwyższą jakością sensoryczną charakteryzowały się sorbety zawierające w swoim składzie szampan, gin lub wódkę w ilości 7,50 %.

*Praca była prezentowana podczas I Sympozjum Żywności z okazji 30-lecia powołania specjalizacji Inżynieria Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW, Warszawa, 5 - 6 czerwca 2008 r.*

## Literatura

- [1] Bald W.B.: Food Freezing: Today and Tomorrow. Springer Verlag, London 1991.
- [2] Barylko-Pikielna N.: Zarys analizy sensorycznej żywności. WNT, Warszawa 1975.
- [3] Chen C.S.: Relationship between water activity and freezing point depression of food systems. J. Food Sci., 1987, **52**, 433-435.

- [4] Fennema O., Powrie W., Marth E.: Low temperature preservation of foods and living matter. Marcel Dekker Inc., New York 1973.
- [5] Finney J.L., Lobban C., Kush W.F.: The phase diagram of water/ice and new metastable phase of ice. *Nature*, 1998, **391**, 268-270.
- [6] Góral D., Kluza F.: Experimental and analytical determination of freezing point depression, *EJPAU* 2002, **5** (2), <http://www.ejpau.media.pl/volume5/issue2/engineering/art-03.html>.
- [7] Hartel R.W.: Ice crystallization during the manufacture of ice cream. *Trends Food Sci. Technol.*, 1996, **7** (10), 315-321.
- [8] Kozłowicz K.: Badanie preferencji smakowych wyrobów alkoholowych konsumentów w Polsce. *Badania własne niepublikowane*, 2007.
- [9] Miles C.A., Mayer Z., Morley M.J., Houška M.: Estimating the initial freezing point of foods from composition data. *International J. Food Sci. Technol.*, 1997, **32**, 389-400.
- [10] Mleko S., Achremowicz B.: Wpływ szybkości zamrażania oraz stosowania zamienników tłuszczu na strukturę lodów. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1996, **4** (9), 5-10.
- [11] PN-ISO 4121:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
- [12] PN-90/A-75101/02. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości ekstraktu ogólnego.
- [13] Pluta A.: Wartość kaloryczna i żywieniowa lodów. *Przegl. Piek. i Cuk.*, 1998, **7**, 55-56.
- [14] Rahman M.S.: The accuracy of prediction of the freezing point of meat from general models. *J. Food Eng.*, 1994, **21**, 127-136.
- [15] Rahman M.S., Guizani N., Al-Khaseibi M., Al-Hinai S.A., Al-Maskri S.S., Al-Hamhami K.: Analysis of cooling curve to determine the end point of freezing. *Food Hydrocoll.*, 2002, **16** (6), 653-659.
- [16] Rakowska D.: Jakość lodów i mrożonych deserów. *Chłodnictwo*, 1985, **2**, 12-13.
- [17] Ribero G.R., Rubiolo A.C., Zorrilla S.E.: Initial freezing point of Mozzarella cheese. *J. Food Eng.*, 2007, **81**, 157-161.
- [18] Russell A.B., Cheney P.E., Wantling S.D.: Influence of freezing conditions on ice crystallisation in ice cream. *J. Food Eng.*, 1999, **39**, 179-191.
- [19] Van der Sman R.G.M., Boer E.: Predicting the initial freezing point and water activity of meat products from composition data. *J. Food Eng.*, 2005, **66**, 469-475.

## EFFECT OF ADDITIONS OF ALCOHOLIC DRINKS ON THE PROCESS OF FREEZING FRUIT SORBETS

### S u m m a r y

The objective of this paper was to determine the effect of some alcoholic drinks added to orange sorbets on the development of cryoscopic temperature and the course of freezing process of sorbet. The sorbet samples were air frozen at  $t = -32$  °C. The cryoscopic temperature of the products analyzed depended on the type and amounts of alcoholic products added. The higher content of those alcoholic products caused the cryoscopic temperature of sorbets to essentially decrease. The analysis of sorbets included the determination of total extract content in sorbets and the organoleptic assessment using a grading test. It was found that the freezing process affected the content of extract in a different way. The sorbets with gin, champagne, and vodka added in the amount of 7.50 % of the sorbet's total volume were the most suitable frozen fruit dessert from the sensory point of view.

**Key words:** freezing, cryoscopic temperature, fruit sorbet, alcoholic additives 

HANNA KOWALSKA

## WPLYW STĘŻENIA ROZTWORU, TEMPERATURY I CZASU PROCESU NA ODWADNIANIE OSMOTYCZNE JABŁEK

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu stężenia roztworu, temperatury i czasu procesu na efektywność odwadniania osmotycznego jabłek. Próbki w kształcie prostopadłościanu o wymiarach 25×25×10 mm odwadniano osmotycznie w roztworach sacharozy o stężeniach 20, 40 lub 60 % w temperaturze 20, 40 lub 60 °C przez 60, 180 lub 300 min. Podczas odwadniania osmotycznego jabłek, wraz ze wzrostem stężenia roztworu sacharozy i podwyższaniem temperatury, zwiększeniu ulegała ilość usuwanej wody i większe było wnikanie substancji osmotycznej. Wpływ stężenia roztworu sacharozy na wymianę masy w odwadnianych jabłkach był większy niż wpływ temperatury. Prowadzenie procesu w 20 % roztworze sacharozy było niewystarczające do skutecznego odwadniania tkanki jabłek. W jabłkach przetrzymywanych w tym roztworze w większym stopniu następowało wnikanie substancji osmotycznej niż usuwanie wody. Prawdopodobnie w niektórych przypadkach zamiast usuwania wody z jabłek następowało zwiększenie w nich zawartości wody i w konsekwencji efektywność procesu wyrażona stosunkiem ubytku wody do przyrostu suchej masy przyjmowała wartości ujemne. Wraz ze wzrostem stężenia roztworu i podwyższaniem temperatury odwadniania następowało zwiększenie szybkości usuwania wody z badanych jabłek. Szybkość wnikania substancji osmotycznej do jabłek odwadnianych w temperaturze 20 °C nie zależała od stężenia roztworu sacharozy i czasu procesu. Stosując stałą temperaturę odwadniania jabłek (20 °C) i zmienne stężenie sacharozy (20, 40 lub 60 %), największą szybkość wnikania uzyskano w jabłkach odwadnianych przez 60 min w 40 % roztworze sacharozy. Natomiast przy odwadnianiu w niezmiennym 40 % roztworze sacharozy i temperaturze 20, 40 lub 60 °C największą szybkość wnikania osiągnięto w jabłkach odwadnianych przez 60 min w temperaturze 40 °C.

**Słowa kluczowe:** jabłka, odwadnianie osmotyczne, ubytek wody, przyrost suchej masy

### Wprowadzenie

Temperatura i stężenie roztworu oraz czas to niezwykle ważne parametry stosowane do odwadniania osmotycznego tkanki roślinnej. W znacznej mierze determinują one szybkość odwadniania i mają wpływ na otrzymanie produktu o pożądanych właściwościach sensorycznych. Analiza ich oddziaływania na wymianę masy w odwad-



nianym materiale służy optymalizacji odwadniania osmotycznego. Wyższe stężenie roztworu osmotycznego warunkuje uzyskanie większej siły napędowej procesu. Może też wpływać negatywnie, głównie poprzez zwiększone wnikanie substancji osmotycznej do odwadnianego materiału, szczególnie do warstw powierzchniowych, prowadząc do wytworzenia bariery utrudniającej wymianę masy pomiędzy tkanką roślinną a roztworem [1, 10, 16].

Siłą napędową wymiany masy w procesie odwadniania osmotycznego stanowi gradient ciśnienia osmotycznego pomiędzy roztworem osmotycznym a sokiem komórkowym tkanki roślinnej. Wraz ze zwiększaniem stężenia roztworu zmniejszeniu ulega zawartość wody w materiale, zaś zawartość suchej substancji ulega zwiększeniu [6]. Stężenie i temperatura roztworu osmotycznego mają wpływ na jego lepkość. Duża lepkość utrudnia wymianę masy oraz w większym stopniu sprzyja gromadzeniu się substancji osmotycznej na powierzchni odwadnianej próbki. Mechanizm hydrodynamiczny, towarzyszący odwadnianiu tkanki roślinnej, może być utrudniony wskutek zakłócenia dyfuzji wynikającej ze zmian lepkości roztworu osmotycznego i wnikania substancji osmotycznej, głównie do zewnętrznych warstw próbek odwadnianego materiału [1, 6, 12].

Przyrost suchej masy owoców lub warzyw w roztworze osmotycznym o małej lepkości następuje bardziej efektywnie ze względu na początkowo niskie ciśnienie. Jednocześnie przyrost suchej masy do odwadnianej tkanki przyczynia się do zmian w składzie próbki i ma znaczący wpływ na zmiany efektywnego współczynnika dyfuzji. Przy zastosowaniu zbyt niskiego stężenia roztworu osmotycznego jego wnikanie może być nieznaczne, a jego penetracja w materiale, ułatwiona niższą lepkością, może polegać na wymywaniu z odwadnianej tkanki roślinnej cennych, naturalnie występujących składników odżywczych. W bardziej stężonych roztworach penetracja substancji osmotycznej jest w większym stopniu ograniczona lepkością i dodatkowo sztywnością zewnętrznych warstw komórek tkanki, która zwiększa się z powodu szybkiego zagęszczenia materiału w tych warstwach. Prowadzi to zarazem do zmniejszenia szybkości wymiany masy [5, 6].

Podwyższenie temperatury wpływa na intensyfikację procesu wymiany masy poprzez zwiększenie ubytku wody w wyniku powiększenia porów i plastyfikacji membran komórkowych, zwiększenie szybkości dyfuzji wody w produkcie oraz lepszą wymianę masy z powodu mniejszej lepkości roztworu osmotycznego [4, 7, 8, 10, 16].

Stosowanie wysokiej temperatury procesu odwadniania osmotycznego może sprzyjać powiększaniu objętości, uplastycznieniu i zmianom fizykochemicznym błon komórkowych, co może prowadzić do zwiększenia ich przepuszczalności, a nawet całkowitej utraty ich selektywnego charakteru. Jednocześnie podwyższenie temperatury zmniejsza lepkość, poprawiając szybkość wymiany masy głównie w powierzchniowych warstwach próbki. Zmniejszeniu ulega opór przepływu roztworu osmotycznego

i w konsekwencji następuje większe wnikanie substancji osmotycznej do tkanki roślinnej [7, 10, 18].

Zastosowanie niewłaściwej temperatury i stężenia roztworu może wywoływać niekorzystne zmiany w materiale oraz prowadzić do niekontrolowanego przebiegu odwadniania osmotycznego. W konsekwencji może to prowadzić do zmian właściwości ścian komórkowych, straty składników odżywczych, zmian barwy i przyspieszenia niekorzystnych reakcji chemicznych, np. reakcji brązowienia [2, 14].

Celem pracy było określenie wpływu temperatury i stężenia roztworu osmotycznego oraz czasu procesu na zawartość wody i przyrost suchej masy w jabłkach podczas odwadniania osmotycznego w roztworze sacharozy.

### Material i metody badań

Do badań zastosowano kostki jabłka odmiany Idared w kształcie prostopadłościanu o wymiarach 25×25×10 mm. Odwadnianie osmotyczne prowadzono w 20, 40 lub 60 % roztworze sacharozy. Temp. procesu wynosiła 20, 40 lub 60 °C. Próbkę umieszczano w specjalnym koszyku z możliwością ich separacji i prowadzono wymuszony ruch roztworu o strumieniu przepływu wynoszącym 1 dm<sup>3</sup>/min. Stosunek masowy roztworu do masy próbek wynosił 20:1. Oznaczanie zawartości suchej masy wykonywano metodą wagową według PN-90/A-75101.03 [15]. Przy zastosowaniu powyższych parametrów wykonano trzy powtórzenia, wyniki przedstawiono jako wartości średnie.

W celu statystycznego opracowania wyników przeprowadzono wieloczynnikową analizę wariancji (Multifactor ANOVA) i weryfikację hipotez przy zastosowaniu testu istotności ( $\alpha = 0,05$ ) za pomocą programu Statgraphics Plus. Analizowano następujące wielkości:

– ubytek masy ( $\Delta M$ ):

$$\Delta M = \frac{(m_o - m_\tau)}{m_o} \cdot 100 \quad [\%] \quad (1)$$

– bezwymiarowa zawartość wody ( $WC$ ):

$$WC = \frac{(100 - sm_\tau)}{sm_\tau} / \frac{(100 - sm_o)}{sm_o} \quad [\text{wartość bezwymiarowa}] \quad (2)$$

– ubytek wody ( $WL$ ):

$$WL = \frac{m_o \cdot (100 - sm_o) - m_\tau \cdot (100 - sm_\tau)}{m_o \cdot sm_o} \quad [\text{gH}_2\text{O/g p.s.m.}] \quad (3)$$

– przyrost suchej masy ( $SG$ ):

$$SG = \frac{m_{\tau} \cdot sm_{\tau} - m_o \cdot sm_o}{m_o \cdot sm_o} \quad [\text{gH}_2\text{O/g p.s.m.}] \quad (4)$$

gdzie:

$m_o$  – początkowa masa próbki [g],

$m_{\tau}$  – masa próbki po czasie  $\tau$  [g],

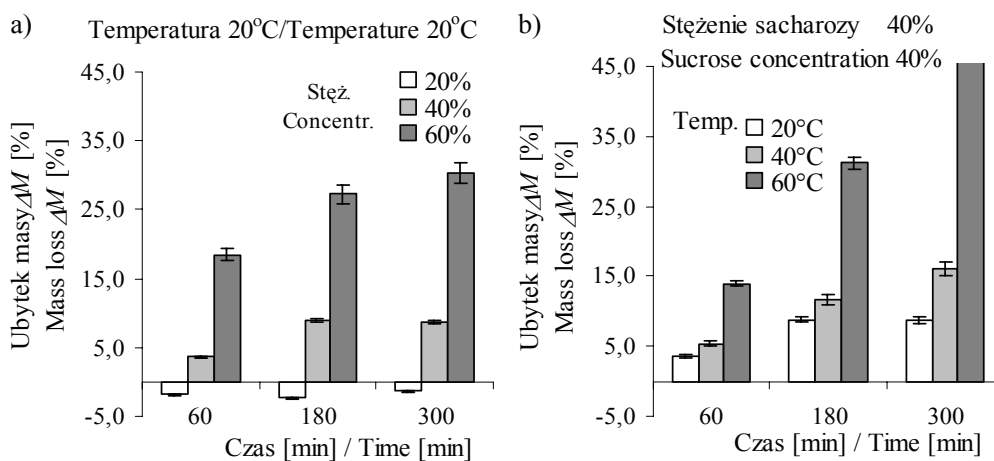
$sm_o$  – początkowa zawartość suchej masy [%],

$sm_{\tau}$  – zawartość suchej masy po czasie  $\tau$  [%],

p.s.m. – początkowa zawartość suchej masy w surowcu [g].

### Wyniki i dyskusja

Wraz ze zwiększaniem stężenia i temperatury roztworu osmotycznego zmianie ulegają warunki wymiany masy w kierunku zwiększenia jej intensywności. Wpływa to na zwiększenie obniżenia zawartości wody i wnikanie substancji osmotycznej w odwadnianym materiale, a w konsekwencji do zwiększenia ubytku masy [11, 20]. W jabłkach odwadnianych osmotycznie w roztworze sacharozy ubytek masy zależał statystycznie istotnie od stężenia roztworu, temperatury i czasu trwania procesu (tab. 1). Wraz ze wzrostem stężenia roztworu sacharozy i podwyższaniem temperatury oraz wydłużaniem czasu odwadniania następowało zwiększenie ubytku masy w jabłkach (rys. 1).



Rys. 1. Wpływ stężenia i temperatury procesu na ubytek masy jabłek odwadnianych osmotycznie.

Fig. 1. Effect of sucrose concentration and process temperature on mass loss in osmotically dehydrated apples.

Podczas osmotycznego odwadniania jabłek w temperaturze 20 °C przy zastosowaniu 20 % stężenia sacharozy ubytek masy przyjmował wartości ujemne (rys. 1a).

Proces odwadniania w tym przypadku miał bardzo niewielkie znaczenie. Prawdopodobnie następowało niekorzystne „wypłukiwanie” tkanki roślinnej z rozpuszczalnych składników soku komórkowego ze względu na zbliżone stężenie roztworu osmotycznego i soku komórkowego. Może to świadczyć o braku zmian struktury membran ścian komórkowych, dzięki czemu następował przepływ wody i cukru pomiędzy tkanką a roztworem. Natomiast zwiększenie masy próbek (ujemny ubytek masy) może być wynikiem tego, że w większym stopniu następowało wnikanie substancji osmotycznej do tkanki jabłek w porównaniu z usuwaniem z nich wody.

Tabela 1

Wyniki analizy statystycznej odwadniania osmotycznego jabłek.  
Statistical analysis results of osmotic dehydration of apples.

Czynniki Factors	$\Delta M$			$WC$			WL/SG			
	Wartość P P- value	Różnica Difference	NIR LDR	Wartość P P- value	Różnica Differ- ence	NIR LDR	Wartość P P- value	Różnica Differ- ence	NIR LDR	
Stęż. % Concentration, %	20-40		8,942	12,471		*-0,269	0,062		*3,157	1,253
	20-60	0,0023	*-18,268	12,471	0,0001	*0,171	0,062	0,0000	*-3,780	1,253
	40-60		*-27,210	15,273		*0,440	0,075		*-6,938	1,534
Temp. °C Temp. °C	20-40		-3,936	12,471		*0,254	0,062		0,764	1,253
	20-60	0,0039	*-23,728	12,471	0,0000	*0,271	0,062	0,0309	*-1,418	1,253
	40-60		*-19,791	15,273		0,017	0,075		*-2,183	1,534
Czas, min Time, min	60-180		-7,359	9,2723		*0,105	0,058		*-1,490	1,188
	60-300	0,0443	*-12,2718	9,2723	0,0003	*0,1824	0,0584	0,0571	-0,7594	1,1885
	180-300		-4,9131	9,2723		*0,0768	0,0584		0,7310	1,1885

Objaśnienia: / Explanatory notes:

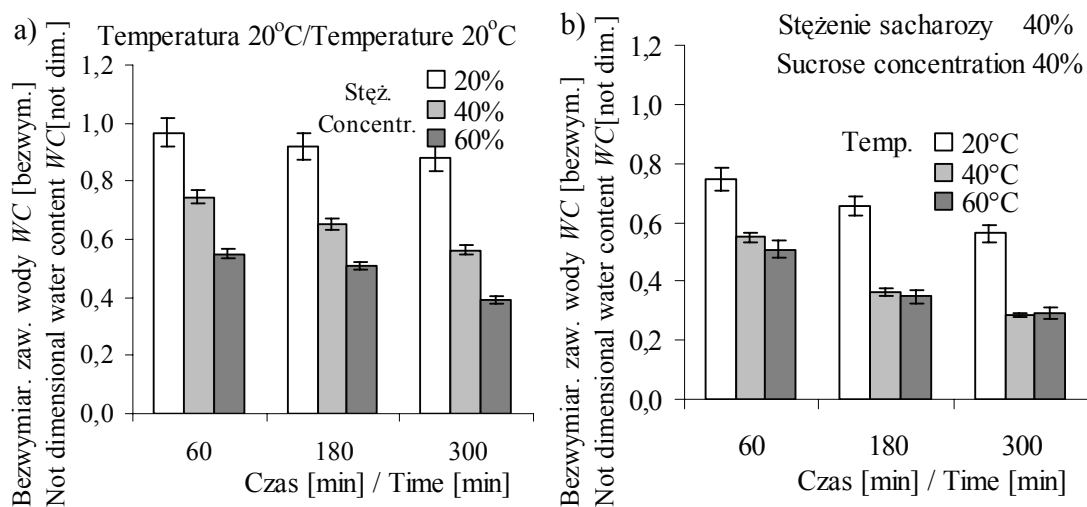
\* - oznacza różnice statystycznie istotne / means the statistically significant differences; NIR - najmniejsza istotna różnica / LSD – the lowest significant difference.

Zwiększenie stężenia sacharozy do 40 % spowodowało uzyskanie ubytku masy z jabłek na poziomie około 3,6 % po 60 min odwadniania. Natomiast po dłuższym czasie (180 i 300 min) ubytek masy był porównywalny, ale w odniesieniu do krótszego czasu ponad 2-krotnie większy i wynosił około 8,8 %. Kolejne zwiększenie stężenia sacharozy do 60 % wpłynęło na ponad 5-krotne, w porównaniu z 40 % stężeniem roztworu, zwiększenie ubytku masy w jabłkach odwadnianych przez 60 min. Po dłuższym

czasie odwadniania ubytek masy z jabłek odwadnianych w 60 % roztworze był ponad 3-krotnie większy niż przy zastosowaniu roztworu 40 %.

Podwyższenie temperatury z 20 do 40 °C podczas odwadniania osmotycznego jabłek w 40 % roztworze sacharozy spowodowało 25 - 45 % zwiększenie ubytku masy (rys. 1b). Natomiast zastosowanie temp. 60 °C wpłynęło na blisko 4-krotne zwiększenie ubytku masy z jabłek odwadnianych prze 60 min w porównaniu z próbkami odwadnianymi w temp. 20 °C. Zastosowanie dłuższego czasu odwadniania jabłek, szczególnie 300 min, wpłynęło istotnie na ubytek masy, który w przypadku jabłek odwadnianych w temp. 40 °C był blisko 2-krotnie większy w porównaniu z niższą temperaturą oraz około 3-krotnie mniejszy w odniesieniu do temperatury wyższej (rys. 1b).

Zwiększenie intensywności odwadniania wraz z podwyższaniem temperatury wynika głównie z zaburzenia wybiórczego charakteru błon półprzepuszczalnych, które w wyższej temperaturze zmieniają swą selektywność oraz z obniżenia lepkości roztworu, a tym samym zmniejszania oporu wnikania substancji osmotycznej w głąb materiału. W badaniach Ozena i wsp. [13] największe znaczenie zmian temperatury w zakresie 20 - 40 °C wykazano w ciągu pierwszych 15 min procesu. Natomiast nie stwierdzono znaczącego wpływu temperatury na wymianę masy w owocach odwadnianych w dłuższym czasie (do 20 h).



Rys. 2. Wpływ stężenia i temperatury na bezwymiarową zawartość wody w jabłkach odwadnianych osmotycznie

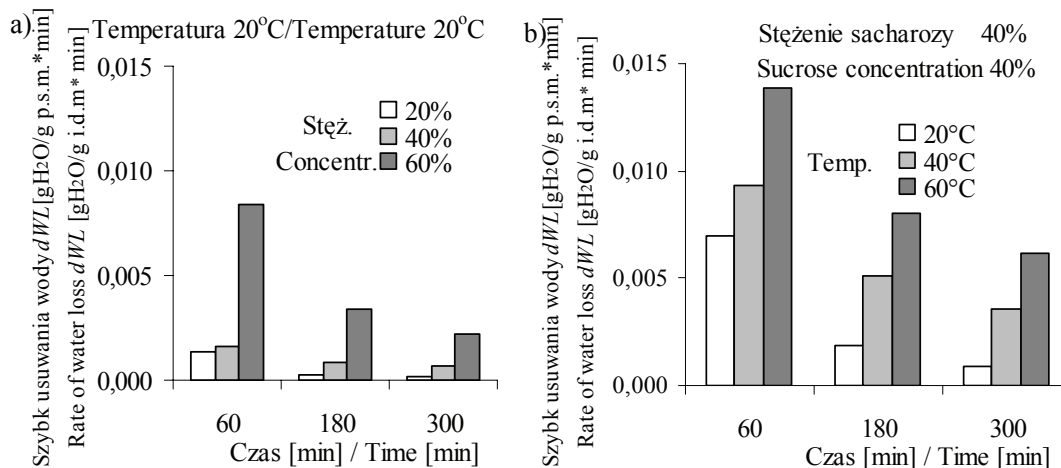
Fig. 2. Effect of sucrose concentration and temperature on non-dimensional water content in osmotically dehydrated apples

Zmiany bezwymiarowej zawartości wody  $WC$  w jabłkach odwadnianych osmotycznie (rys. 2a) przy zastosowaniu łagodnych parametrów (20 % stężenie sacharozy, temperatura 20 °C), pomimo różnic statystycznie istotnych (tab. 1), były niewielkie, rzędu 3 - 12 %. Potwierdza to przypuszczenia, że odwadnianie tkanki jabłek w tych warunkach nastąpiło tylko w bardzo niewielkim stopniu, zaś ujemny ubytek masy świadczy o większym strumieniu substancji osmotycznej, która wniknęła do próbki w porównaniu z ilością usuniętej wody z badanego materiału (rys. 1).

Zwiększanie stężenia sacharozy i podwyższenie temperatury procesu wpłynęło odwrotnie proporcjonalnie na obniżanie bezwymiarowej zawartości wody w jabłkach. W temp. 20 °C bezwymiarną zawartość wody, o około 61 % mniejszą w porównaniu z surowcem, uzyskano w jabłkach odwadnianych przez 300 min przy zastosowaniu 60 % stężenia roztworu osmotycznego (rys. 2a). Natomiast bezwymiarną zawartość wody w jabłkach odwadnianych w temp. 60 °C (roztwór 40 %) była o około 72 % mniejsza w porównaniu z jabłkami niepoddawanyymi odwadnianiu (rys. 2b). Jednocześnie bezwymiarną zawartość wody w większym stopniu zależała od stężenia roztworu osmotycznego, a w mniejszym od temperatury. Wartości tego wskaźnika były porównywalne przy zastosowaniu temp. w zakresie 40 - 60 °C.

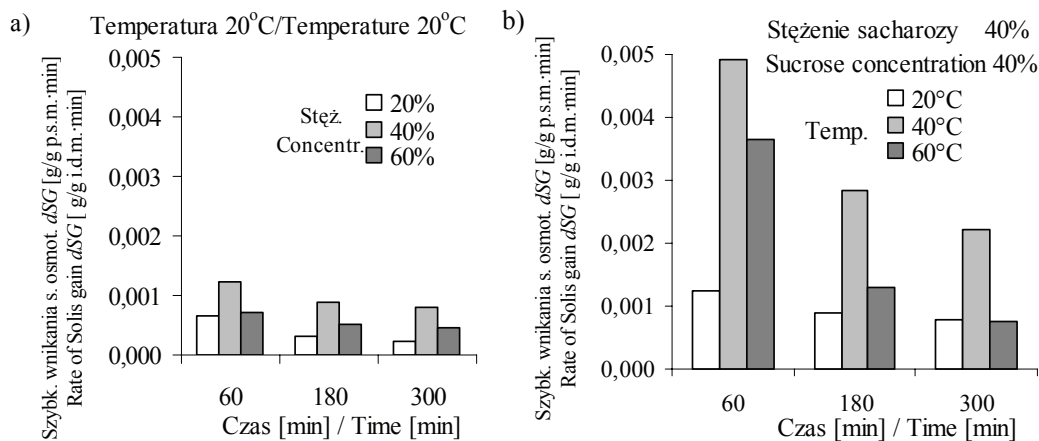
Szybkość usuwania wody z jabłek odwadnianych w przypadku zastosowania temp. 20 °C, niezależnie od stężenia roztworu osmotycznego oraz w roztworze 40 %, niezależnie od temperatury, charakteryzowała się największymi wartościami na początku procesu (po 60 min) (rys. 3). Jednocześnie zaobserwowano znaczący wpływ stężenia roztworu osmotycznego podczas odwadniania jabłek w stałej temperaturze (20 °C) oraz temperatury przy zastosowaniu stałej wartości stężenia sacharozy (40 %) na szybkość usuwania wody z badanych jabłek.

Odwadnianie osmotyczne jabłek przez 60 min w temp. 20 °C, w 20 % roztworze sacharozy spowodowało uzyskania szybkości usuwania wody na poziomie 0,0013 [g H<sub>2</sub>O/g p.s.m.·min], a przedłużenie czasu odwadniania jabłek do 180 i 300 min wpłynęło na 5- i 10- krotne obniżenie tego wskaźnika (rys. 3a). Przy zastosowaniu większego, 40 % stężenia sacharozy, szybkość usuwania wody z jabłek odwadnianych przez 60 min była tylko nieznacznie większa (ok. 0,0016 [g H<sub>2</sub>O/g p.s.m.·min]), zaś w jabłkach przetrzymywanych w 60 % roztworze ponad 6-krotnie większa. Po dłuższym czasie uległa ona około 2- do 4-krotnemu obniżeniu. Jednakże przy zastosowaniu temp. 60 °C szybkość ta była blisko 2-krotnie większa w porównaniu z odwadnianiem w temp. 20 °C.



Rys. 3. Wpływ stężenia i temperatury na szybkość usuwania wody z jablek odwadnianych osmotycznie.  
 Fig. 3. Effect of sucrose concentration and temperature on rate of removing water (water loss) from osmotically dehydrated apples.

Inne zależności stwierdzono, analizując wpływ temperatury na szybkość usuwania wody z jablek odwadnianych w 40 % roztworze sacharozy (rys. 3b). Wraz z podwyższaniem temperatury następowało zwiększanie tego wskaźnika. Po 60 min odwadniania jablek w temp. 20 °C szybkość usuwania wody wynosiła około 0,0070 g H<sub>2</sub>O/g p.s.m.·min i ulegała ona zwiększeniu o około 28 i 51% odpowiednio przy podwyższeniu temp. o kolejne 20 °C, tj. do 40 i 60 °C. Natomiast wydłużenie czasu odwadniania jablek prowadziło do 2-3-krotnego obniżenia tego wskaźnika.



Rys. 4. Wpływ stężenia i temperatury na szybkość wnikania substancji osmotycznej do jablek odwadnianych osmotycznie.  
 Fig. 4. Effect of sucrose concentration and temperature on penetration rate of osmotic substance (rate of solids gain) in osmotically dehydrated apples.



Szybkość wnikania substancji osmotycznej do jabłek odwadnianych w temp. 20 °C nie zależała od stężenia roztworu sacharozy i czasu odwadniania (rys. 4). W jabłkach odwadnianych w temp. 20 °C największą szybkość wnikania uzyskano w 40 % roztworze sacharozy. Natomiast przy uwzględnieniu stałego stężenia sacharozy, 40 %, największa szybkość wnikania substancji osmotycznej do jabłek miała miejsce przy zastosowaniu temp. 40 °C. W przypadku analizowania wpływu stężenia w zakresie 20 - 60 % w temp. 20 °C na szybkość wnikania substancji osmotycznej do jabłek, zaobserwowano znacznie mniejsze zmiany w uzyskanych wartościach tego wskaźnika, tj. od 0,0002 do 0,0012 g/g p.s.m.·min (rys. 4a) w porównaniu z temperaturą w zakresie 20 - 60 °C w przypadku jabłek odwadnianych w 40 % roztworze sacharozy (0,0007-0,0049 g H<sub>2</sub>O/g p.s.m.·min) (rys. 4b).

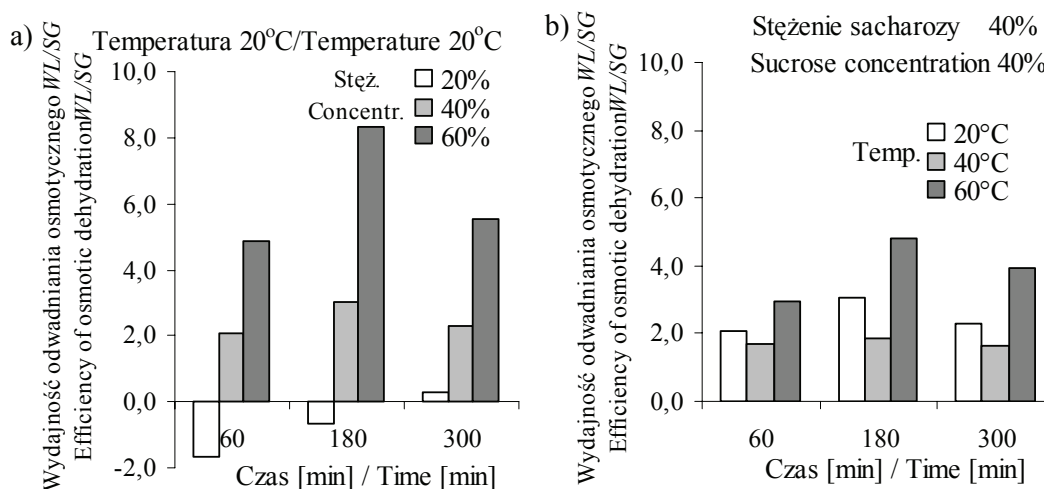
W wielu pracach [4, 8, 10, 16] wykazano, że szybkość usuwania wody i wnikania substancji osmotycznej jest zwykle największa na początku procesu, co jest wynikiem dużej różnicy ciśnień osmotycznych oraz małych oporów przenoszenia masy. W miarę upływu czasu substancja osmoaktywna powoduje silną egzoosmozę powierzchniowych warstw komórek prowadzącą do znacznego zagęszczenia soku komórkowego, a tym samym następuje zmniejszenie półprzepuszczalności błon komórkowych.

Z badań przeprowadzanych w niniejszej pracy wynika, że łagodne warunki odwadniania osmotycznego, szczególnie, gdy zbyt małe było stężenie roztworu, mogą być niewystarczające do uzyskania określonego efektu odwodnienia tkanki. Dodatkowo może następować niekorzystne wymywanie składników odżywczych. Lazarides i wsp. [10] wykazali, że zbyt niska temperatura, prowadząca do zwiększenia lepkości roztworu, może zakłócać transport masy pomiędzy roztworem osmotycznym a zanurzonym w nim materiałem i w efekcie spowolnić dyfuzję wody w próbkach. Niskie stężenie roztworu osmotycznego powoduje mały, ale szybki przyrost suchej masy, a wysokie jest powodem znacznie większego wnikania substancji osmotycznej do odwadnianego materiału. Zjawisko to tłumaczone jest głównie penetracją kapilarną [6, 16].

Efektywność odwadniania osmotycznego jabłek przez 60 i 180 min określana jako stosunek ubytku wody do przyrostu suchej masy WL/SG w przypadku zastosowania 20 % stężenia roztworu sacharozy oraz temperatury 20 °C wykazywała wartości ujemne (odpowiednio około -1,7 i -0,7) (rys. 5a). Świadczy to, podobnie, jak przy analizie ubytku masy i bezwymiarowej zawartości wody, o nasączeniu tkanki jabłek substancją osmotyczną w porównywalnym lub większym stopniu niż usuwanie wody z badanych próbek. Wydłużenie czasu odwadniania osmotycznego jabłek do 300 min umożliwiło nieznaczne, statystycznie nieistotne, zwiększenie strumienia usuwanej wody z próbek w porównaniu ze strumieniem wnikającej substancji osmotycznej (tab. 1; rys. 5a). Zastosowanie większego stężenia sacharozy (40 %) spowodowało uzyskanie statystycznie istotnie większej efektywności odwadniania osmotycznego jabłek



przez 60 min do wartości około 2,1 i 3,0 po 180 min. Po 300 min trwania procesu efektywność ta uległa obniżeniu do około 2,3. Największym stosunkiem ubytku wody do przyrostu suchej masy, w zakresie 4,9 - 8,3, charakteryzowały się jabłka odwadniane w 60 % roztworze sacharozy w temperaturze 20 °C (rys. 5a). Jednakże podobnie, jak przy zastosowaniu 40 % stężenia roztworu osmotycznego, wartość uzyskanego stosunku *WL/SG* w jabłkach odwadnianych przez 300 min była o ponad 34 % mniejsza niż w próbkach odwadnianych przez 180 min.



Rys. 5. Wpływ stężenia i temperatury na efektywność odwadniania osmotycznego jabłek.

Fig. 5. Effect of sucrose concentration and temperature on efficiency of osmotic dehydration of apples.

Podczas osmotycznego odwadniania jabłek w 40 % roztworze sacharozy wykazano mniejszy wpływ temp. w zakresie 20 - 60 °C na efektywność procesu w porównaniu z innym stosowanym stężeniem (20 i 60 %) (rys. 5b; tab.1). Efektywność ta w jabłkach odwadnianych przez 60 min była najmniejsza i w zależności od temperatury mieściła się w zakresie 1,7 - 2,9. Niezależnie od temperatury, największe wartości tego wskaźnika uzyskano w przypadku jabłek odwadnianych przez 180 min (1,8 - 4,8). Natomiast w przypadku zastosowania temperatury 40 °C efektywność procesu *WL/SG* w jabłkach odwadnianych w zakresie 60 - 300 min była bardzo zbliżona (1,6 - 1,8) i nie wykazano w tym przypadku statystycznie istotnego wpływu czasu na uzyskane wartości *WL/SG* (tab.1).

Podwyższenie temperatury powoduje zwiększenie szybkości procesów osmozy i dyfuzji. W optymalnym stopniu tkanka roślinna ulega odwodnieniu w zakresie temperatury 20 - 50 °C [3, 9]. W wielu badaniach [17, 19] wykazano, że wpływ temperatury był tym większy, im wyższe było stężenie roztworu. Potwierdziły te spostrzeżenia

badania Chenlo i wsp. [4], którzy prowadzili odwadnianie kasztanów jadalnych w roztworach sacharozy w zakresie temp. 25 - 45 °C. Najlepsze wartości *WL/SG* uzyskano przy zastosowaniu temp. 25 °C i największego 60 % stężenia roztworu.

### Wnioski

1. Stężenie sacharozy w zakresie 20 - 60 %, temperatura w przedziale 20 - 60 °C oraz czas odwadniania osmotycznego jabłek od 60 do 300 min miały statystycznie istotny wpływ na ubytek masy i obniżenie bezwymiarowej zawartości wody w badanych próbkach.
2. Zastosowanie 20 % stężenia sacharozy i temperatury 20 °C do odwadniania osmotycznego jabłek było niewystarczające do usuwania wody i powodowało uzyskanie ubytku masy o wartościach ujemnych.
3. Zwiększenie stężenia sacharozy z 20 do 40 % spowodowało uzyskanie ubytku masy z jabłek na poziomie 3,6 % po 60 min odwadniania, a po dłuższym czasie (180 - 300 min) ubytek masy był blisko 2-krotnie większy. Największy ubytek masy w jabłkach odwadnianych w temperaturze 20 °C odnotowano przy zastosowaniu 60 % roztworu sacharozy, był ponad 5-krotnie większy w porównaniu z odwadnianiem w 40 % roztworze.
4. Podwyższanie temperatury w zakresie 20 - 40 °C podczas odwadniania osmotycznego jabłek w 40 % roztworze sacharozy spowodowało 25 - 45 % zwiększenie ubytku masy, a zastosowanie temperatury 60 °C wpłynęło na blisko 4-krotne zwiększenie ubytku masy z jabłek odwadnianych przez 60 min w porównaniu z temperaturą 20 °C. Zastosowanie dłuższego czasu odwadniania jabłek, szczególnie 300 min, wpłynęło istotnie na ubytek masy z odwadnianych jabłek.
5. Szybkość usuwania wody z jabłek odwadnianych w temperaturze 20 °C, niezależnie od stężenia roztworu osmotycznego, oraz w roztworze 40 %, niezależnie od temperatury, charakteryzowała się największymi wartościami na początku procesu (60 min). Dłuższy czas odwadniania osmotycznego jabłek, 180 i 300 min, wpłynął na 5- i 10-krotne obniżenie tego wskaźnika. Przy zastosowaniu 40 % stężenia sacharozy szybkość usuwania wody z jabłek odwadnianych przez 60 min była tylko nieznacznie większa, zaś w jabłkach przetrzymywanych w 60 % roztworze uległa ponad 6-krotnemu zwiększeniu w porównaniu ze stężeniem najniższym.
6. Szybkość wnikania substancji osmotycznej do jabłek odwadnianych w stałej temperaturze 20 °C nie zależała od stężenia roztworu sacharozy i czasu odwadniania (zmieniała się w zakresie od 0,0002 do 0,0012 g/g p.s.m.·min), zaś w przypadku zastosowania stałego 40 % roztworu osmotycznego zależała od czasu i temperatury odwadniania, ale z pominięciem temperatury 20 °C. Największą szybkość wnikania do jabłek odwadnianych w temperaturze 20 °C uzyskano przy zastosowaniu

- 40 % roztworu sacharozy i czasu 60 min, a przy odwadnianiu w roztworze 40 %, przy zastosowaniu temperatury 40 °C i tego samego czasu 60 min (0,0049 g/g p.s.m.·min).
7. Efektywność procesu odwadniania osmotycznego jabłek odwadnianych w roztworze sacharozy w mniejszym stopniu zależała od temperatury, a w większym od jej stężenia. W przypadku zastosowania 20 % stężenia roztworu sacharozy i temperatury 20 °C oraz czasu do 180 min wykazywała wartości ujemne. Zastosowanie większego stężenia sacharozy (60 %) spowodowało uzyskanie większej efektywności odwadniania osmotycznego jabłek, przy czym największe wartości uzyskano w jabłkach odwadnianych przez 180 min. Po 300 min trwania procesu efektywność ta uległa obniżeniu o około 30 % w porównaniu z krótszym czasem odwadniania badanych jabłek.

*Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2008-2010 jako projekt badawczy nr NN 312 0351 33; była prezentowana podczas I Sympozjum Żywności z okazji 30-lecia powołania specjalizacji Inżynieria Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW, Warszawa, 5 - 6 czerwca 2008 r.*

### Literatura


- [1] Barat J.M., Chiralt A., Fito P.: Equilibrium in cellular food osmotic solution systems as related to structure, *J. Food Sci.*, 1998, **63(5)**, 836-840.
- [2] Biegańska-Marecik R., Czapski J.: Porównanie przydatności odmian jabłek do produkcji plastrów o małym stopniu przetworzenia. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 2003, **2(2)**, 115-127.
- [3] Chenlo F., Moreira R., Fernandez-Herrero C., Vazquez G.: Mass transfer during osmotic dehydration of chestnut using sodium chloride solutions. *J. Food Eng.*, 2006, **73**, 164-173.
- [4] Chenlo F., Moreira R., Fernández-Herrero C., Vázquez G.: Osmotic dehydration of chestnut with sucrose: Mass transfer processes and global kinetics modelling. *J. Food Eng.*, 2007, **78**, 765-774.
- [5] El-Aouar A.A., Moreira Azoubel P., Barbosa Jr. J.L., Xidieh Murr F.E.: Influence of the osmotic agent on the osmotic dehydration of papaya (*Carica papaya* L.). *J. Food Eng.*, 2006, **75**, 267-274.
- [6] Girlando G., Talens P., Fito P., Chiralt A.: Influence of sucrose solution concentration on kinetics and yield during osmotic dehydration of mango. *J. Food Eng.*, 2003, **58**, 33-43.
- [7] Jokić A., Gyura J., Lević L., Zavargo Z.: Osmotic dehydration of sugar beet in combined aqueous solutions of sucrose and sodium chloride. *J. Food Eng.*, 2007, **78**, 47-51.
- [8] Khoyi M.R., Hesari J.: Osmotic dehydration kinetics of apricot using sucrose solution. *J. Food Eng.*, 2007, **78**, 1355-1360.
- [9] Kowalska H., Lenart A., Leszczyk D.: The effect of blanching and freezing on osmotic dehydration of pumpkin. *J. Food Eng.*, 2008, **86**, 30-38.
- [10] Lazarides H.N., Katsanidis E., Nickolaidis A.: Mass transfer kinetics during osmotic preconcentration aiming at minimal solid uptake. *J. Food Eng.*, 1995, **25**, 151-166.
- [11] Lenart A.: Wymiana masy w żywności o stałej konsystencji. Część I. Dyfuzja wody. *Przem. Spoż.* 1990, **10**, 238-240.
- [12] Moreira R., Sereno A.M.: Evaluation of mass transfer coefficients and volumetric shrinkage during osmotic dehydration of apple using sucrose solutions in static and non-static conditions. *J. Food Eng.*, 2003, **57**, 25-31.

- [13] Ozen B.F., Dock L.L., Ozdemir M., Floros J.D.: Processing factors affecting the osmotic dehydration of diced green peppers. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2002, **37**, 497-502.
- [14] Peiró R., Dias V.M.C., Camacho M.M., Martinez-Navarrete N.: Micronutrient flow to the osmotic solution during grapefruit osmotic dehydration. *J. Food Eng.*, 2006, **74**, 299-307.
- [15] PN-90/A-75101.03. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [16] Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S.: Mass transfer during osmotic dehydration of pineapple: considering Fickian diffusion in cubical configuration. *Food Sci. Technol.*, 2004, **37**, 43-47.
- [17] Sablani S.S., Rahman M.S.: Effect of syrup concentration, temperature and sample geometry on equilibrium distribution coefficients during osmotic dehydration of mango. *Food Res. Int.*, 2003, **36**, 65-71.
- [18] Saurel R., Raoult-Wack A., Rios G., Guilbert S.: Mass transfer phenomena during osmotic dehydration of apple I. Fresh plant tissue. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1994, **29**, 531-542.
- [19] Seguí L., Fito P.J., Albros A., Fito P.: Mass transfer phenomena during the osmotic dehydration of apple isolated protoplasts (*Malus domestica* var. Fuji). *J. Food Eng.*, 2006, **77**, 179-187.
- [20] Singh B., Kumar A., Gupta A.K.: Study of mass transfer kinetics and effective diffusivity during osmotic dehydration of carrot cubes. *J. Food Eng.*, 2007, **79**, 471-480.

#### EFFECT OF SOLUTION CONCENTRATION, TEMPERATURE, AND PROCESS TIME ON OSMOTIC DEHYDRATION OF APPLES

##### Summary

The objective of the study was to determine the effect of the solution concentration, temperature, and process time on changes in water content and on process efficiency of osmotic dehydration of apples. The samples shaped as a 25×25×10 mm plate were osmotically dehydrated in a 20, 40 or 60 % sucrose solution at temperatures of 20, 40 or 60 °C during 60, 180, or 300 minutes. While the apples were osmotically dehydrated, the quantity of removed water (water loss) and solids gain in the apples increased along with the increase in the sucrose concentration level and along with the increasing temperature; also, the penetration of osmotic substance (solids gain) was higher. The effect of sucrose solution concentration on the substance exchange in apples being dehydrated was higher than the effect of temperature. If the process run in a 20 % sucrose solution, the tissues of apples were insufficiently osmotically dehydrated. In the apples kept in the sucrose solution, the penetration degree of osmotic substance (solids gain) was higher than the water removal degree (water loss). Probably, in some cases, the water was not removed from the apples, on the contrary, the water content increased. As a result, the efficiency of the process expressed as a ratio of water loss to solids gain was a negative value. Along with the increase in concentration of the sucrose solution and in the temperature of dehydration process, the rate of removing water from the apples examined increased. The penetration rate of osmotic substance into apples at  $t = 20$  °C did not depend on the sucrose solution concentration nor on the time of dehydration process. The application of a constant temperature of dehydration of apples (20 °C) and a varying concentration value of sucrose solution (20, 40, or 60 %) caused that the penetration rate was the highest in the apples dehydrated during 60 minutes in a 40 % sucrose solution. When the osmotic dehydration process was carried out in a constant (not changed) 40 % sucrose solution and at  $t = 20, 40, \text{ or } 60$  °C, the highest rate of penetration was in the apples that were dehydrated during 60 minutes at  $t = 40$  °C.

**Key words:** apples, osmotic dehydration, water loss, solids gain 

MONIKA JANOWICZ, KATARZYNA ŚREDZIŃSKA

## WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI SUSZONYCH KONWEKCYJNIE JABŁEK WSTĘPNIE ODWADNIANYCH OSMOTYCZNIE W WARUNKACH ZMIENNEGO CIŚNIENIA

### Streszczenie

Podjęto próbę określenia wpływu rodzaju substancji osmotycznej oraz ciśnienia, zastosowanych podczas obróbki wstępnej, na zmiany zachodzące w tkance jabłek odwadnianych osmotycznie i suszonych konwekcyjnie. Zaobserwowano, że efektywność procesu odwadniania oraz charakter zmian zależą od zastosowanego ciśnienia i rodzaju substancji. W przypadku jabłek wstępnie odwadnianych osmotycznie nastąpiło zmniejszenie szybkości usuwania wody w czasie suszenia konwekcyjnego, w całym badanym zakresie zmienności zawartości wody. Stwierdzono, że jabłka odwadniane pod obniżonym ciśnieniem, niezależnie od rodzaju substancji osmotycznej, w efekcie suszenia konwekcyjnego osiągają mniejszą końcową zawartość wody, a jednocześnie charakteryzują się wyższymi jej aktywnościami w porównaniu z jabłkami odwadnianymi w warunkach ciśnienia atmosferycznego. Zastosowanie odwadniania osmotycznego pod obniżonym ciśnieniem powoduje znaczne przyrosty masy suchej substancji, co wpływa na większą zawartość cukrów w tkance jabłek i w efekcie zmienia przebieg suszenia konwekcyjnego. Wartość współczynnika dyfuzji wody w jabłkach suszonych konwekcyjnie wstępnie odwadnianych osmotycznie zależy zarówno od ciśnienia, jak i od rodzaju substancji osmotycznej.

**Słowa kluczowe:** jabłka, suszenie konwekcyjne, odwadnianie osmotyczne, obniżone ciśnienie

### Wprowadzenie

W przetwórstwie spożywczym wykorzystuje się różne metody mające na celu ograniczenie niekorzystnych przemian i oddziaływań środowiska zewnętrznego na trwałość żywności, polegające na zmniejszeniu w niej zawartości wody. Przeprowadzone badania dowodzą, że zastosowanie odpowiedniej metody oraz wstępne przygotowanie surowca wpływają na mechanizm wymiany ciepła i masy, zmieniając dynamikę procesu usuwania wody na drodze procesów technologicznych, takich jak na przykład suszenie osmotyczno-konwekcyjne [4, 5, 6].

---

*Dr inż. M. Janowicz, mgr inż. K. Średzińska, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa*

Nieściśliwość wody znajdującej się w tkance roślinnej w połączeniu z obróbką osmotyczną w warunkach podwyższonego lub obniżonego ciśnienia umożliwia ruch składników roztworu hipertonicznego oraz soku komórkowego w przestrzeni tkankowej na skutek porowatej struktury, jaką miał materiał biologiczny [8, 9]. Odwadnianie osmotyczne pod obniżonym ciśnieniem umożliwia stosowanie niższej temperatury w celu uzyskania lepszego efektu odwadniania w porównaniu z odwadnianiem osmotycznym w warunkach ciśnienia atmosferycznego [1, 2].

Obecność w tkance roślinnej wnikającego roztworu osmotycznego może powodować zmiany właściwości chemicznych, fizycznych oraz sensorycznych. Ze względu na te zmiany do procesu odwadniania używa się różnych roztworów cukrów np. glukozy, fruktozy, sacharozy, syropu skrobiowego, miodu naturalnego oraz sztucznego, syropów owocowych, chlorku sodu, chlorku wapnia. Stosowanie różnych roztworów pozwala między innymi na regulowanie kaloryczności uzyskanego gotowego produktu, jakim w wielu przypadkach może być susz owocowy. Jednocześnie zmiana wielkości cząsteczek cukrów może wpływać na warunki wymiany ciepła i masy podczas prowadzenia procesu suszenia [3, 4, 6].

Celem pracy było określenie wpływu zmiennych warunków odwadniania osmotycznego (rodzaju substancji, ciśnienia) na przebieg suszenia konwekcyjne jabłek. Zakres pracy obejmował również analizę wpływu rodzaju substancji osmoaktywnej oraz ciśnienia, stosowanych w procesie odwadniania osmotycznego, na zmiany zachodzące w tkance jabłek wywołane procesem odwadniania i następnie suszenia konwekcyjnego.

### **Materiały i metody badań**

Materiał do badań stanowiły jabłka odmiany Idared rozdrobnione w kostki sześciennie o boku 10 mm. Odwadnianie osmotyczne przeprowadzano pod ciśnieniem atmosferycznym (0,1 MPa) i obniżonym do wartości 0,058 MPa, w temp. 25 °C. Odwadnianie pod obniżonym ciśnieniem prowadzono w komorze próżniowej (typ SPT 200 firmy Horyzont) z teoretyczną możliwością regulacji podciśnienia w zakresie od – 0,01 do 0,1 MPa oraz temperatury od 0 do 250 °C. W czasie procesu odwadniania osmotycznego kostki z jabłek zabezpieczano przed wypływaniem na powierzchnię roztworu specjalnie przygotowanymi siatkami.

Stężenia roztworów osmotycznych dobrano w taki sposób, aby aktywność wody tych roztworów wynosiła 0,9 – roztwór glukozy i fruktozy 49 %, roztwór sacharozy oraz mieszaninę glukozy i fruktozy (1:1) 61 %. Czas procesu odwadniania osmotycznego w warunkach ciśnienia atmosferycznego i obniżonego dobrano tak, aby końcowa zawartość wody wynosiła około 3 g H<sub>2</sub>O/g s.s.

Proces suszenia konwekcyjnego prowadzono w suszarce laboratoryjnej z wymuszonym przepływem powietrza 1,5 m/s w temp. około 70 °C. Otrzymany susz przechowywano do dalszych oznaczeń przez 24 h.

Pomiar aktywności wody prowadzono w aparacie firmy Rotronic model Hygroskop DT w temp. 25 °C zgodnie z procedurą zalecaną przez producenta. Oznaczenie zawartości sacharydów w suszach wykonywano metodą DNS [13]. W metodzie wykorzystuje się właściwości redukujące sacharydów, które w środowisku zasadowym redukują grupy nitrowe kwasu 3,5-dinitrosalicylowego do grup aminowych, a same utleniają się. Cukry, które nie mają właściwości redukujących oznacza się po ich uprzedniej hydrolizie. Badania przeprowadzono w dwóch powtórzeniach.

Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu komputerowego Statistica 7.0 na podstawie analizy wariancji z wykorzystaniem tablicy sumarycznej ANOVA. W celu dokonania analizy porównawczej otrzymanych wyników badań i ich wzajemnych relacji przeprowadzono test NIR przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

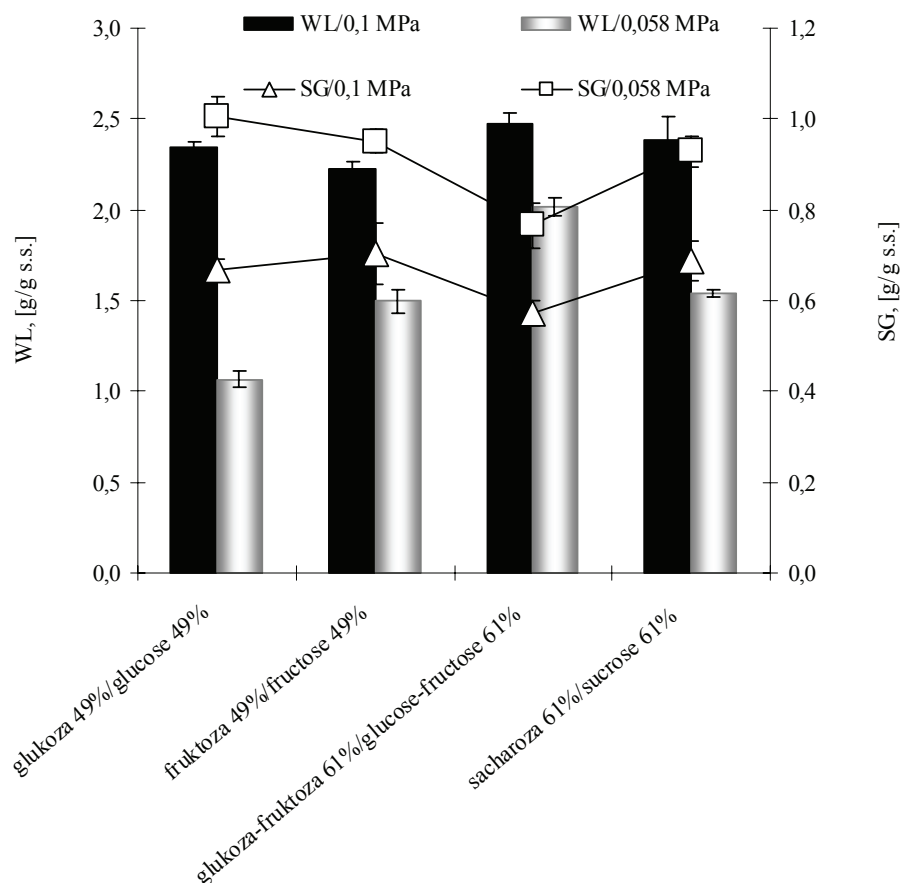
## Wyniki i dyskusja

Odwadnianie osmotyczne jest procesem złożonym, przebiegającym z jednoczesnym usuwaniem wody z tkanki roślinnej i wnikaniem na jej miejsce z zewnątrz substancji osmoaktywnej. Charakter przebiegu procesu zostaje zachowany bez względu na panujące ciśnienie, a intensywność wymiany masy podczas odwadniania jabłek jest od nich istotnie zależna (rys. 1). Zaobserwowano, że podczas odwadniania osmotycznego pod ciśnieniem atmosferycznym ubytki wody  $WL$  w jabłkach były wyższe niż uzyskane w materiale odwadnianym pod obniżonym ciśnieniem bez względu na rodzaj zastosowanej substancji osmotycznej. Zakres zmian ubytków wody w jabłkach odwadnianych pod ciśnieniem atmosferycznym waha się w granicach 2,22 - 2,47 g H<sub>2</sub>O/g s.s., natomiast w jabłkach odwadnianych pod obniżonym ciśnieniem w granicach 1,07 - 2,01 g H<sub>2</sub>O/g s.s. (rys. 1). Wykazano statystycznie istotne różnice pod względem ilości usuniętej wody ( $WL$ ) z jabłek podczas odwadniania osmotycznego pod ciśnieniem 0,1 MPa pomiędzy roztworami glukozy i fruktozy oraz roztworami fruktozy i sacharozy. Zastosowanie roztworów fruktozy i sacharozy do odwadniania jabłek pod obniżonym ciśnieniem nie spowodowało istotnej różnicy pod względem ilości usuniętej z nich wody, natomiast pozostałe użyte w czasie wstępnej obróbki roztwory spowodowały istotne zmiany zawartości wody w jabłkach.

Średnie przyrosty masy suchej substancji  $SG$  wahały się w granicach 0,57 - 1,1 g/g s.s. w zależności od rodzaju substancji osmoaktywnej, a zakres zmian  $SG$  zależał od ciśnienia zastosowanego podczas procesu odwadniania (rys. 1). Zaobserwowano, że przyrosty masy suchej substancji w jabłkach odwadnianych osmotycznie w warunkach obniżonego ciśnienia były większe w porównaniu z odwadnianymi pod ciśnieniem atmosferycznym od około 30 do ponad 55 % i zależały istotnie od rodzaju



substancji osmotycznej (rys. 1). Odwadnianie w roztworach o stężeniu 49 % spowodowało największe przyrosty masy suchej substancji niezależnie od ciśnienia, pod jakim prowadzony był proces. Przyrosty masy suchej substancji pod ciśnieniem atmosferycznym były mniej zróżnicowane niż otrzymane w wyniku odwadniania pod zredukowanym ciśnieniem.



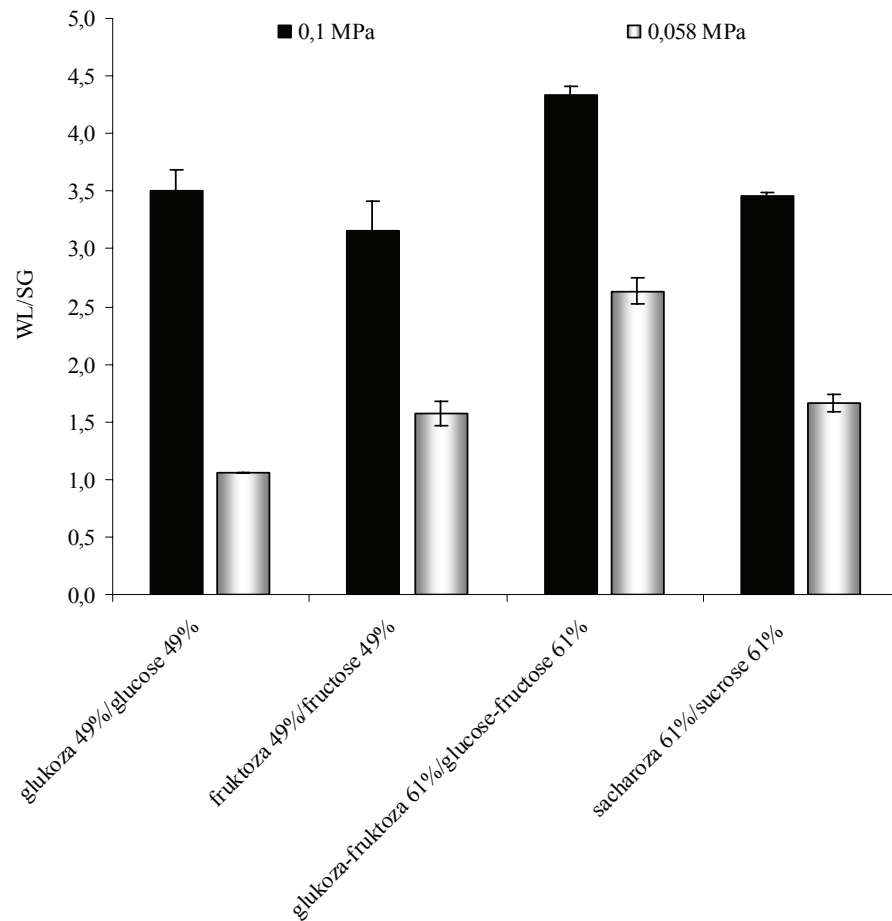
Rys. 1. Wpływ rodzaju substancji osmoaktywnej oraz ciśnienia na ubytki wody (WL) i przyrosty masy suchej substancji (SG) w jabłkach odwadnianych osmotycznie.

Fig. 1. Effect of the kind of osmotically active substance and pressure on water losses (WL) and solid gain (SG) in dehydrated apples.

Badania Kowalskiej i Lenarta [7], prowadzone nad odwadnianiem osmotycznym tkanki jabłek, dyni i marchwi, potwierdzają otrzymane przez autorki niniejszej pracy zależności i pozwalają na stwierdzenie, że zakres oraz ilość usuniętej wody i wchłoniętej do tkanki substancji osmotycznej zależały nie tylko od rodzaju materiału, ale przede wszystkim od parametrów procesu odwadniania (rodzaj substancji, ciśnienie). W dal-

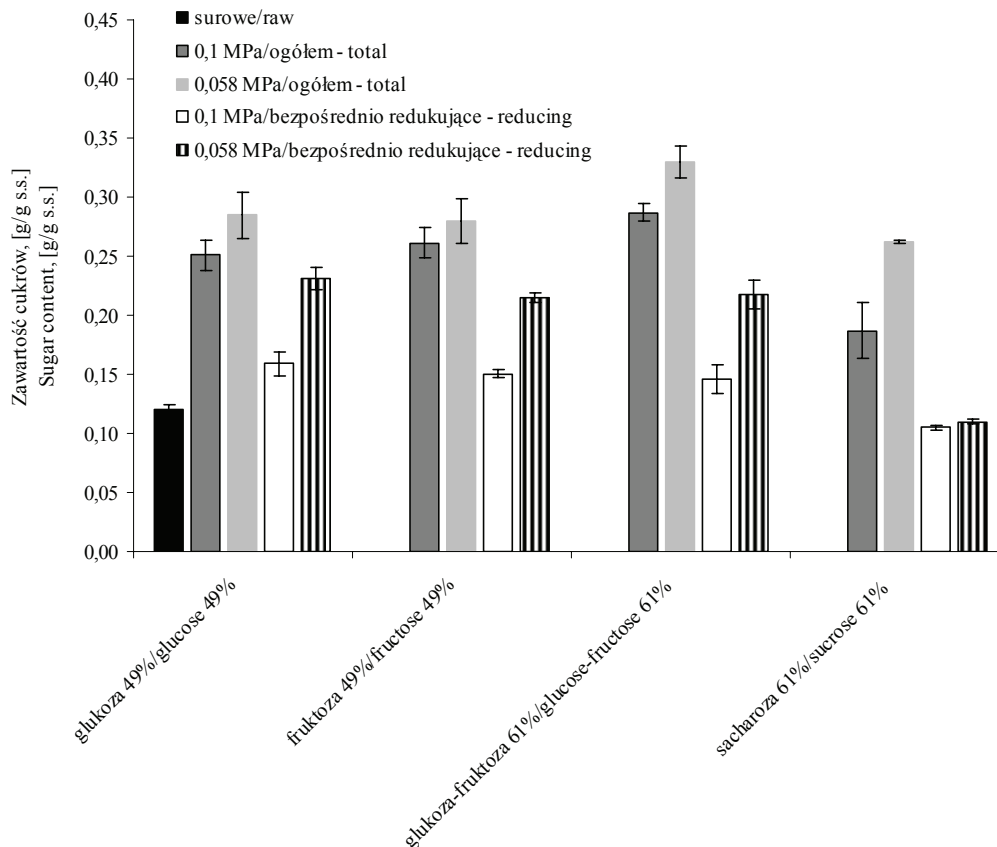


szych badaniach Kowalska i Lenart [6] wykazali, że odwadnianie jabłek w roztworach cukrów o mniejszej masie cząsteczkowej powoduje otrzymanie wyższych przyrostów masy suchej substancji, co jest tłumaczone znaczną porowatością tkanki jabłek, wynoszącą około 20 %. Obniżenie ciśnienia w czasie odwadniania osmotycznego powoduje usunięcie z materiału nie tylko wody, ale w pierwszym rzędzie powietrza, a podczas powrotu do ciśnienia atmosferycznego następuje wniknięcie w wolne przestrzenie roztworu. Podobnie Sitkiewicz i Kozłowski [12] otrzymali w wyniku zastosowania do odwadniania obniżonego ciśnienia mniejszą zawartość wody w jabłkach, co jest efektem zwiększenia przyrostu masy suchej substancji i w konsekwencji zwiększenia wydajności odwadniania.



Rys. 2. Efektywność procesu odwadniania osmotycznego wyrażona jako stosunek ubytków wody (WL) do przyrostów masy suchej substancji (SG).

Fig. 2. Efficiency of the osmotic dehydration process expressed as a ratio of water losses (WL) to solid gains (SG).



Rys. 3. Wpływ rodzaju substancji osmoaktywnej oraz ciśnienia na zawartości cukrów w jabłkach odwadnianych osmotycznie.

Fig. 3. Effect of the kind of osmotically active substance and pressure on the content of sugar in dehydrated apples.

Efektywność procesu odwadniania osmotycznego istotnie zależała od ciśnienia, pod którym prowadzony był proces (rys. 2). W zależności od rodzaju substancji zastosowanej do odwadniania jabłek pod obniżonym ciśnieniem, efektywność procesu była niższa od około 38 do ponad 69 % w porównaniu z odwadnianiem prowadzonym w warunkach ciśnienia atmosferycznego. Zaobserwowano większy wpływ obniżonego ciśnienia na efektywność procesu podczas odwadniania jabłek z zastosowaniem roztworu glukozy i roztworu fruktozy. Jednocześnie, odwadnianie w roztworach o większym stężeniu (61 %) spowodowało większe wartości stosunku ubytku wody do przyrostu masy suchej substancji niezależnie od ciśnienia, pod jakim prowadzony był proces. Wartości ubytków wody do przyrostów masy suchej substancji otrzymane w wyniku odwadniania osmotycznego z zastosowaniem różnych substancji osmotycznych pod ciśnieniem atmosferycznym

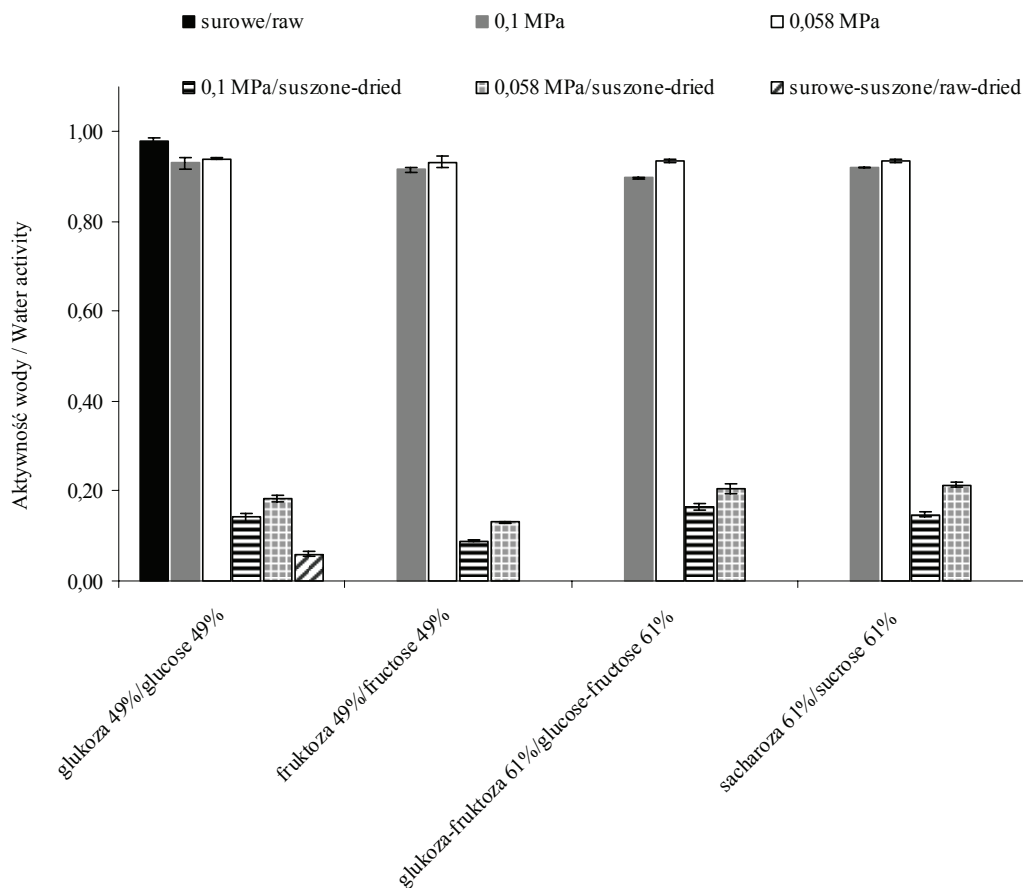
rycznym były mniej zróżnicowane niż w wyniku odwadniania pod zredukowanym ciśnieniem. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że efektywność procesu odwadniania osmotycznego (WL/SG) zależała od zastosowanego ciśnienia. Wyższą efektywność uzyskano w wyniku zastosowania ciśnienia atmosferycznego.

Surowe jabłka zawierały około 0,12 g/g s.s. cukrów bezpośrednio redukujących i około 0,10 g/g s.s. cukrów ogółem. W wyniku procesu odwadniania osmotycznego w różnych warunkach ciśnienia z zastosowaniem różnych substancji osmotycznych zawartość cukrów w jabłkach istotnie wzrosła (rys. 3). Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że na zawartość cukrów bezpośrednio redukujących i ogółem w jabłkach wpłynęła zarówno wysokość ciśnienia stosowanego podczas odwadniania osmotycznego, jak i rodzaj zastosowanej substancji osmotycznej. Analiza wariancji wykazała, że istotny wpływ na zawartość cukrów w jabłkach tak odwadnianych, jak i suszonych miał roztwór sacharozy zastosowany podczas odwadniania osmotycznego bez względu na ciśnienie stosowane w czasie obróbki.

Podobnie Piotrowski i wsp. [11] stwierdzili, że na skutek odwadniania osmotycznego następuje wzrost zawartości cukrów bezpośrednio redukujących w odwadnianych owocach. Jednocześnie zaobserwowali, że zakres tych zmian zależy od parametrów odwadniania, a przede wszystkim od rodzaju odwadnianej tkanki roślinnej.

Aktywność wody w jabłkach surowych wynosiła około 0,980. W wyniku zastosowania procesów obróbki wstępnej obniżyła się do poziomu w granicach 0,898 - 0,940 w zależności od zastosowanych parametrów odwadniania osmotycznego (rodzaj substancji osmoaktywnej, ciśnienie) (rys. 4). Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że rodzaj substancji osmoaktywnej nie wpłynął istotnie na aktywność wody jabłek odwadnianych. Stwierdzono natomiast istotny wpływ ciśnienia, pod jakim prowadzono proces odwadniania osmotycznego, na aktywność wody jabłek, a zakres zmian zależał od rodzaju substancji osmotycznej. Wyższe wartości aktywności wody otrzymano w jabłkach odwadnianych pod obniżonym ciśnieniem. W zależności od rodzaju zastosowanej substancji osmotycznej aktywność wody w jabłkach odwadnianych pod obniżonym ciśnieniem była wyższa od około 1 do ponad 4 %. Jednocześnie, największy wpływ obniżonego ciśnienia na aktywność wody podczas odwadniania stwierdzono w jabłkach poddanych działaniu roztworu będącego mieszaniną glukozy i fruktozy oraz roztworu sacharozy.

Aktywność wody jest jednym z ważniejszych czynników wpływających na stabilność przechowalniczą żywności. Poniżej wartości  $a_w = 0,6$  mogą zachodzić niepożądane zmiany (strukturalne, reakcje enzymatyczne, nieenzymatyczne, oksydacja). Przebieg tych procesów zależy również od temperatury i zawartości wody. Wartości krytyczne są charakterystyczne dla określonego rodzaju żywności i zależą od jej składu chemicznego. Reakcje nieenzymatycznego brązowienia zachodzą najlepiej przy aktywności wody w zakresie 0,3 - 0,7 [9, 10].



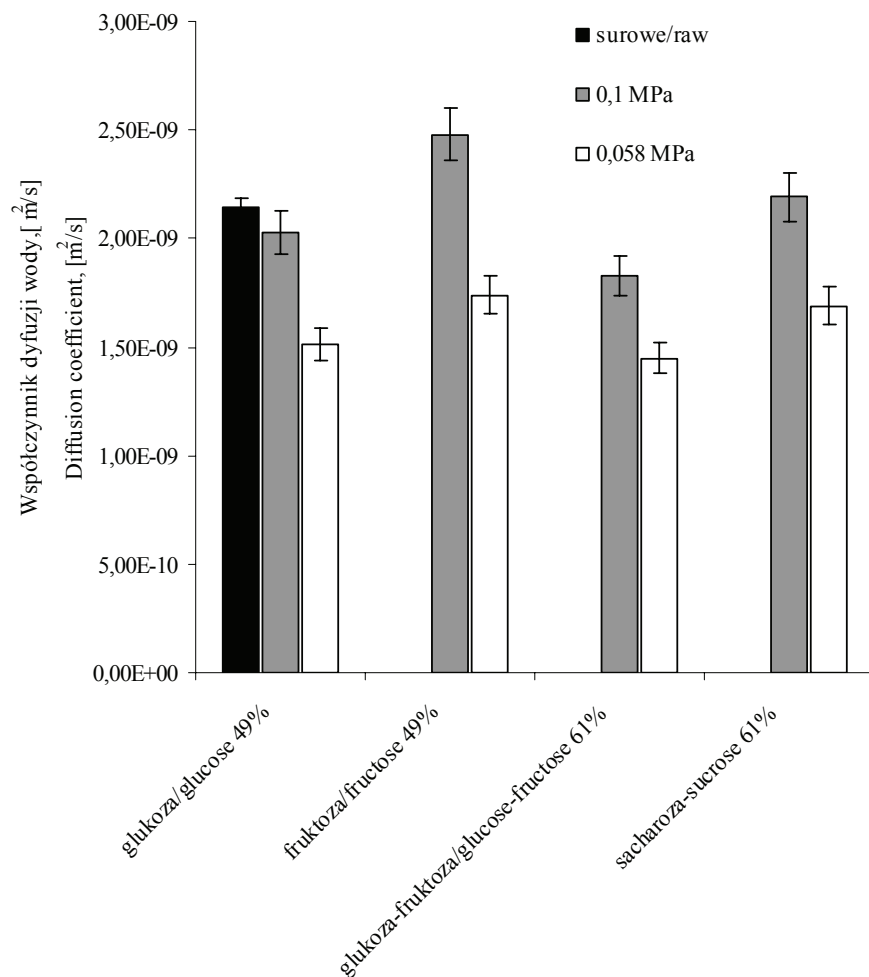
Rys. 4. Wpływ rodzaju substancji osmoaktywnej oraz ciśnienia na aktywność wody jabłek.

Fig. 4. Effect of the kind of osmotically active substance and pressure on water activity of apples.

Poziom aktywności wody otrzymany w jabłkach, wynikający z zastosowania procesu odwadniania osmotycznego, nie zapewnia mikrobiologicznej stabilności otrzymanego produktu. Dlatego w celu przedłużania trwałości jabłek, na skutek znacznego obniżenia aktywności wody, poddano je suszeniu konwekcyjnemu. Zahamowanie zmian enzymatycznych, a zwłaszcza nieenzymatycznych, wymaga zwykle zmniejszenia zawartości wody do około 5 %. Optymalna zawartość wody w produkcie wpływa na czas jego przechowywania przez ograniczenie niepożądanych reakcji [8, 10].

Jabłka niepoddane obróbce osmotycznej po suszeniu konwekcyjnym charakteryzowały się aktywnością wody na poziomie około 0,060 (rys. 4). Zaobserwowano, że zastosowanie odwadniania osmotycznego bez względu na parametry (rodzaj substancji, ciśnienie) wpływa na podwyższenie aktywności wody od około 1,5 do ponad 3,5

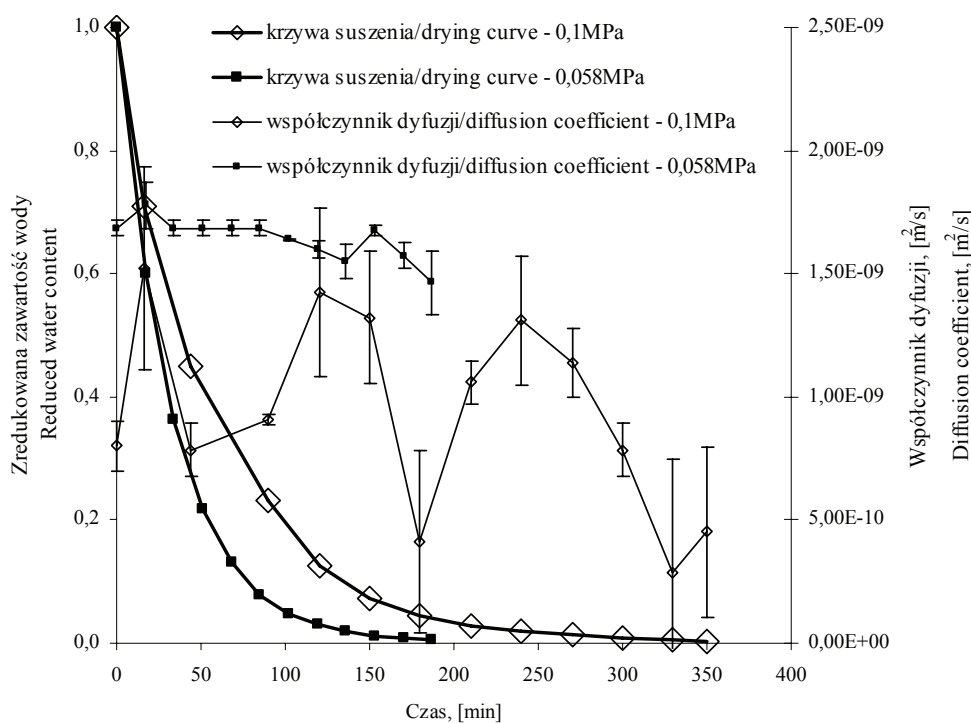
razy w jabłkach suszonych konwekcyjnie. W wyniku suszenia konwekcyjnego jabłek, wstępnie odwadnianych w zmiennych warunkach ciśnienia, aktywność wody wahała się w granicach 0,090 - 0,215 (rys. 4). Taka aktywność wody zapewnia trwałość żywności. Aktywność wody na poziomie poniżej 0,6 zapobiega rozwojowi mikroorganizmów, a przy wartości poniżej 0,2 reakcje nieenzymatycznego brunatnienia nie zachodzą, co chroni produkt przed niepożądaną zmianą barwy [8, 9, 10]. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że na wartość aktywności wody w suszach z jabłek



Rys. 5. Wartości umownego współczynnika dyfuzji wody jabłek suszonych konwekcyjnie wstępnie odwadnianych osmotycznie w zmiennych warunkach ciśnienia.

Fig. 5. Values of the conventional water diffusion coefficient of convectively dried apples after they have been osmotically dehydrated under the varying pressure conditions.

odwadnianych wstępnie w zmiennych warunkach ciśnienia wpłynął rodzaj zastosowanego roztworu odwadniającego. Jednocześnie stwierdzono istotny wpływ zastosowania roztworu fruktozy, podczas wstępnego odwadniania jabłek, pod obniżonym ciśnieniem na aktywność wody suszu otrzymanego konwekcyjnie. W badaniach stwierdzono, że aktywność wody w suszach z jabłek wstępnie odwadnianych pod obniżonym ciśnieniem była wyższa od około 24 do ponad 45 % od aktywności wody w suszach, które otrzymano z jabłek wstępnie odwodnionych osmotycznie pod ciśnieniem atmosferycznym. Jednocześnie, większy wpływ obniżonego ciśnienia na aktywność wody podczas odwadniania stwierdzono w przypadku jabłek poddanych działaniu roztworu glukozy i roztworu fruktozy.



Rys. 6. Zmiany współczynnika dyfuzji wody w czasie suszenia jabłek wstępnie odwadnianych osmotycznie w zmiennych warunkach ciśnienia w roztworze sacharozy.

Fig. 6. Changes in the diffusion coefficient of water occurring while drying apples after their osmotic dehydrating pre-treatment under the varying pressure conditions in the sucrose solution.

Rozpoczęcie procesów dyfuzyjnych jest charakterystyczne dla drugiego okresu suszenia. Szybkość usuwania wody w tym okresie maleje, co spowodowane jest rosnącymi oporami dyfuzji masy z jednoczesnym przeciwkierunkowym transportem ciepła

dostarczanego do wnętrza materiału. Czas suszenia zależy od efektywnej drogi transportu masy z wnętrza do powierzchni materiału suszonego [3, 4]. Janowicz i Lenart [3] wykazali istotny wpływ odwadniania osmotycznego jabłek na przebieg krzywych suszarniczych bez względu na zastosowaną temperaturę procesu. Czas odwadniania osmotycznego wpływa na wartość średniego umownego współczynnika dyfuzji wody w jabłkach podczas suszenia konwekcyjnego. Wartość współczynnika dyfuzji wody w jabłkach suszonych konwekcyjnie wstępnie odwadnianych osmotycznie zależy zarówno od ciśnienia, jak i od rodzaju substancji osmoaktywnej. Obniżenie ciśnienia podczas odwadniania osmotycznego spowodowało zmniejszenie współczynnika dyfuzji wody w jabłkach suszonych konwekcyjnie niezależnie od rodzaju zastosowanej substancji osmoaktywnej. Obecność fruktozy i sacharozy w tkance jabłek determinowała wartości współczynnika dyfuzji wody podczas suszenia konwekcyjnego (rys. 5). Zmienne ciśnienie podczas odwadniania osmotycznego wpłynęło istotnie na wartość zarówno średniego (wyznaczonego dla całego przebiegu krzywej suszenia), jak i wyznaczonego w przedziałach zredukowanej zawartości wody, współczynnika dyfuzji (rys. 6).

## Wnioski

1. Jabłka odwadniane pod obniżonym ciśnieniem charakteryzowały się mniejszymi ubytkami wody oraz większymi przyrostami masy suchej substancji niż odwadniane w warunkach ciśnienia atmosferycznego bez względu na rodzaj zastosowanej substancji osmotycznej. Jednocześnie efektywność procesu odwadniania oraz charakter jej zmian zależą od zastosowanego ciśnienia i rodzaju substancji. Najlepszy efekt usuwania wody z jabłek w wyniku odwadniania osmotycznego uzyskuje się stosując jako substancję osmotyczną roztwór sacharozy, jak i roztwór będący mieszaniną glukozy i fruktozy. Roztwory o stężeniu 61 % pozwalają otrzymać duży ubytek wody przy niewielkim przyroście masy suchej substancji.
2. Zastosowanie odwadniania osmotycznego, niezależnie od ciśnienia pod jakim prowadzono proces, spowodowało w jabłkach wzrost zawartości cukrów ogółem i bezpośrednio redukujących z wyjątkiem materiału odwadnianego wstępnie w roztworze sacharozy. Wielkość i zakres zmian zawartości cukrów zależał od rodzaju roztworu osmotycznego.
3. Aktywność wody jabłek obniżyła się na skutek odwadniania osmotycznego niezależnie od rodzaju zastosowanej substancji osmoaktywnej i ciśnienia procesu, jak i suszenia konwekcyjnego. Wykazano istotny wpływ ciśnienia, pod jakim prowadzono proces odwadniania osmotycznego, na aktywność wody zarówno jabłek odwadnianych, jak i suszonych konwekcyjnie po tym procesie.
4. Wartość współczynnika dyfuzji wody w jabłkach suszonych konwekcyjnie wstępnie odwadnianych osmotycznie zależy zarówno od ciśnienia, jak i od rodzaju sub-



stancji osmoaktywnej zastosowanej w procesie wstępnej obróbki. Obniżenie ciśnienia podczas odwadniania osmotycznego powoduje również obniżenie współczynnika dyfuzji wody w jabłkach suszonych konwekcyjnie niezależnie od rodzaju zastosowanej substancji osmoaktywnej. Zmiany ciśnienia pod jakim odbywa się proces odwadniania osmotycznego jabłek wpływają istotnie na wartość współczynnika dyfuzji wody wyznaczonego dla całego przebiegu krzywej suszenia, jak i wyznaczonego w przedziałach zredukowanej zawartości wody. Obecność fruktozy i sacharozy w tkance jabłek odwadnianych pod ciśnieniem atmosferycznym podwyższa wartości współczynnika dyfuzji wody podczas suszenia konwekcyjnego.

*Badania wykonane w ramach pracy naukowej finansowanej ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2006-2008 (projekt badawczy nr N312 004 31/0466). Praca była prezentowana podczas I Sympozjum Żywności z okazji 30-lecia powołania specjalizacji Inżynieria Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW, Warszawa, 5 - 6 czerwca 2008 r.*

### Literatura

- [1] Barat J.M., Chiralt A., Fito P.: Effects of osmotic concentration temperature and vacuum impregnation pretreatment on osmotic dehydration kinetics of apple slices. *Food Sci. Technol. Inter.*, 2001, **7** (5), 451-456.
- [2] Fito P., Chiralt A., Betoret N., Gras M., Chafer M., Martinez-Monzo J., Andres A., Vidal D.: Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering: Application in functional fresh food development. *J. Food Eng.*, 2001, **49**, 175-183.
- [3] Janowicz M., Lenart A.: Wpływ wstępnego odwadniania osmotycznego na współczynnik dyfuzji wody w tkance jabłek suszonych konwekcyjnie. *Inż. Roln.*, 2005, **11** (71), 191-200.
- [4] Janowicz M., Lenart A.: Znaczenie suszenia owoców i warzyw. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2003, **1**, 28-32.
- [5] Jayaraman K.S., Das Gupta D.K.: Drying of Fruits and Vegetables. *Handbook of Industrial Drying. Part 3*, eds. Mujumdar A.S., Dekker M., New York 2006, pp. 606-631.
- [6] Kowalska H., Lenart A.: Znaczenie wymiany masy w tworzeniu żywności nowej generacji. *Post. Techn. Przetw. Spoż.* 2003, **2**, 12-17.
- [7] Kowalska H., Lenart A.: Mass exchange during osmotic pretreatment of vegetables. *J. Food Eng.* 2001, **49**, 137-140.
- [8] Lewicki P.P., Lenart A.: Osmotic Dehydration of Fruits and Vegetables. *Handbook of Industrial Drying, Part 3*, eds. Mujumdar A.S., Dekker M., New York 2006, pp. 665-681.
- [9] Lewicki P.P.: Water as the determinant of food engineering properties. A review. *J. Food Eng.* 2004, **61** (4), 483-495.
- [10] Pałacha Z.: Aktywność wody ważny parametr trwałości żywności. *Przem. Spoż.* 2008, **4**, 22-27.
- [11] Piotrowski D., Lenart A., Pomarańska-Lazuka W.: Ocena jakości owoców pestkowych poddanych odwadnianiu osmotycznemu. *Inż. Roln.* 2002, **5**, 249-257.
- [12] Sikiewicz I., Kozłowski M.: Effects of pressure and osmotic solution on efficiency of osmotic dehydration of apples. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2001, **10/51**, 4, 45-47.

- [13] Toczko M., Grzelińska A.: Materiały do ćwiczeń z biochemii. Wyd. SGGW, Warszawa 1997, ss. 38-41.

**SOME SELECTED PROPERTIES OF CONVECTIVELY DRIED APPLES WITH OSMOTIC PRE-TREATMENT UNDER VARYING PRESSURE CONDITIONS**

**S u m m a r y**

In this paper, it was attempted to determine the effect of the kind of osmotic substance and pressure as applied during the pre-treatment on changes in the tissue of osmotically dehydrated and convectively dried apples. It was found that the efficiency of the dehydration process and the character of changes depended on the pressure and kind of osmotic substance applied. In the case of apples osmotically dehydrated (pre-treatment), next, when they were convectively dried, the rate of removing water from them decreased in the entire range of variability of water content studied. It was found that, after the completed convectional drying of apples dehydrated under a lower pressure, the final water content in those apples was lower regardless of the kind of osmotic substance. At the same time, those apples are characterized by higher water activity levels compared to the apples dehydrated under the atmospheric pressure conditions. Osmotic dehydration under the lower pressure caused a considerable increase in the solid gains; this fact caused the content of sugars in the tissue of apples to increase and the course of convection drying to change. The diffusion coefficient of water in osmo-convectively dried apples depended both on the pressure and on the kind of osmotic substance.

**Key words:** apples, convective drying, osmotic dehydration, low pressure ☒

MAŁGORZATA RZĄCA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT

## ZMIANY AKTYWNOŚCI PRZECIWRODNIKOWEJ I ZAWARTOŚCI POLIFENOLI W SUSZU JABŁKOWYM UZYSKANYM PRZY WYKORZYSTANIU PROMIENIOWANIA PODCZERWONEGO

### Streszczenie

Polifenole stanowią największą grupę związków wśród naturalnych przeciwutleniaczy, które w dużym stopniu wpływają na ogólną aktywność przeciwrodnikową surowca. Każda obróbka technologiczna zdecydowanie wpływa na zmiany pojemności przeciwutleniającej produktów, dlatego też celem pracy było określenie wpływu parametrów suszenia, przy zastosowaniu promieniowania podczerwonego, tj. szybkości przepływu powietrza oraz odległości źródła promieniowania od powierzchni suszonego materiału, na aktywność przeciwrodnikową oraz zawartość polifenoli w suszu jabłkowym. Wyniki analizy prób suszonych z wykorzystaniem promieniowania podczerwonego porównywano, odpowiednio, z wynikami prób suszonych metodą tradycyjną, w temperaturze 70 °C. Czas suszenia przy zastosowaniu najwyższej odległości od źródła promieniowania i najmniejszej prędkości przepływu powietrza, w porównaniu z suszeniem konwekcyjnym, był krótszy nawet o 33 %. Czas suszenia wydłużał się wraz ze zwiększeniem przepływu powietrza oraz ze zmniejszaniem odległości od źródła promieniowania. Jednakże przy suszeniu z wykorzystaniem promieni podczerwonych wpływ odległości od źródła promieniowania i prędkości przepływu powietrza na aktywność przeciwrodnikową i zawartość polifenoli nie był jednoznaczny. Wraz ze zwiększaniem prędkości przepływu powietrza oraz krótszym czasem suszenia zaobserwowano zmniejszenie zawartości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej przy najmniejszej odległości materiału suszonego od źródła promieniowania. Natomiast, gdy stosowano większe odległości od źródła promieniowania (20 i 30 cm) obserwowano wzrost lub brak zmian zawartości polifenoli i aktywności przeciwrodnikowej, przy wzrastającej prędkości przepływu powietrza, a więc przy niższej temperaturze tkanki. Przy odległości 30 cm od źródła promieniowania zaobserwowano, że wraz ze wzrostem przepływu powietrza następuje liniowy wzrost aktywności przeciwrodnikowej. Ponadto zaobserwowano również krzywoliniową zależność pomiędzy aktywnością przeciwrodnikową a zawartością polifenoli, co świadczy o tym, że zwiększenie zawartości polifenoli wpływa na wzrost aktywności przeciwrodnikowej badanych suszy.

**Słowa kluczowe:** suszenie promiennikowe, suszenie konwekcyjne, aktywność przeciwrodnikowa, zawartość polifenoli, jabłka

## Wprowadzenie

W świecie roślinnym występuje duże bogactwo naturalnych związków organicznych o silnym działaniu przeciwutleniającym. Wolne rodniki przyczyniają się do starzenia się organizmu, powstawania nowotworów, chorób sercowo-naczyniowych czy chorób neurodegeneracyjnych. Natomiast związki przeciwutleniające chronią organizm przed szkodliwym działaniem wolnych rodników [2, 3, 4].

Właściwości przeciwutleniające żywności przetworzonej mają szczególne znaczenie, gdyż w tej postaci stanowi ona największą grupę artykułów spożywczych dostępnych dla konsumentów. Ponadto podaż takich produktów zwiększa się za sprawą wzrastającego popytu na żywność wygodną, przeznaczoną do bezpośredniego spożycia czy też szybką w przygotowaniu [8]. Jednakże zastosowanie procesów technologicznych może w różnym stopniu wpływać na jakość żywności pochodzenia roślinnego, jej wartość odżywczą, trwałość mikrobiologiczną, szybkość przebiegu reakcji zachodzących w żywności oraz jej walory smakowe i zapachowe [12].

Jednym z dość często stosowanych procesów technologicznych w przetwórstwie żywności jest jej utrwalanie za pomocą suszenia. Podstawowym wyzwaniem stawianym suszeniu jest zmniejszenie zawartości wody przy jednoczesnym zachowaniu maksymalnej wartości odżywczej, zapachu, smaku i barwy [7]. Suszenie z wykorzystaniem promieniowania podczerwonego charakteryzuje się wieloma zaletami w porównaniu z tradycyjnym suszeniem konwekcyjnym, wykorzystującym jedynie obieg ciepłego powietrza. Promienie podczerwone o długości fali  $\lambda = 0,77 - 140 \mu\text{m}$  wnikają do suszonego materiału i energia promieniowania zamieniana jest w ciepło, które powoduje odparowanie wody. Ponadto promienie podczerwone charakteryzują się inhibitującym działaniem na niektóre drobnoustroje [9, 13, 15, 16]. Korzystny jest także krótszy czas suszenia z wykorzystaniem promieniowania podczerwonego w porównaniu z tradycyjnym suszeniem. Umesh Hebbar i wsp. [14] podczas suszenia promiennikowego połączonego z suszeniem konwekcyjnym marchwi i ziemniaka skrócili czas suszenia o 48 % w porównaniu z suszeniem konwekcyjnym. Natomiast Nowak i Lewicki [5] zmniejszyli o 50 % czas suszenia jabłek w porównaniu z suszeniem tradycyjnym. Dzięki temu suszony surowiec jest przez krótszy czas narażony na działanie wysokiej temperatury i tlenu, co sprzyja zachowaniu większej ilości substancji biologicznie czynnych niż podczas suszenia tradycyjnego.

Zagadnienie właściwości przeciwutleniających suszonych produktów w literaturze naukowej omawiane jest bardzo rzadko. Dlatego istnieje potrzeba podjęcia badań w tym zakresie, szczególnie dotyczących niekonwencjonalnego sposobu suszenia, jakim jest zastosowanie promieniowania podczerwonego.

Celem pracy było określenie wpływu suszenia przy wykorzystaniu promieniowania podczerwonego na aktywność przeciwrodnikową oraz zawartość polifenoli w suszu jabłkowym. Zbadano wpływ takich parametrów suszenia, jak szybkość przepływu

powietrza oraz odległość źródła promieniowania od powierzchni suszonego materiału i porównano je z odpowiednimi wynikami suszu otrzymanego metodą konwekcyjną w temp. 70 °C.

### **Material i metody badań**

Do suszenia przeznaczono jabłka odmiany Idared, które po wykrojeniu gniazd nasiennych krojono w plastry o średnicy 30 mm i grubości  $5 \pm 0,5$  mm. Wybrano dziewięć różnych kombinacji suszenia przy wykorzystaniu promieniowania podczerwonego, stosując trzy szybkości przepływu powietrza (przepływ równoległy do warstwy materiału): 0,5; 1,2 i 2 m/s oraz trzy odległości źródła promieniowania od powierzchni suszonego materiału: 10, 20 i 30 cm. Suszenie prowadzono w laboratoryjnej suszarce, w której źródłem promieniowania podczerwonego było dziewięć lamp firmy Philips, ustawionych szeregowo w trzech rzędach, o mocy 175 W każda i średnicy 125 mm. Wsad do suszarki wynosił  $1,26 \text{ kg/m}^2$ . Suszenie konwekcyjne prowadzono w suszarce laboratoryjnej w temp. powietrza 70 °C, stosując przepływ powietrza wzdłuż warstwy materiału o prędkości 2 m/s, a ładunek surowca wynosił  $1,92 \text{ kg/m}^2$ .

W materiale surowym oraz w suszu oznaczano zawartość suchej substancji zgodnie z PN-90/A-75101/03 [6]. Średnia zawartość suchej substancji w materiale surowym wynosiła  $13,65 \pm 0,03$  %, natomiast w suszu  $92,47 \pm 2,28$  %.

Właściwości przeciwrodnikowe oznaczano metodą polegającą na określeniu stopnia wygaszania wolnych rodników DPPH<sup>•</sup> przez przeciwutleniacze zawarte w surowych jabłkach i suszach. W celu sporządzenia ekstraktu do analiz odważano 5 g rozdrobnionego miąższu surowych jabłek i dodawano 50 ml 80 % etanolu. W przypadku suszu stosowano naważkę równoważną 5 g jabłka surowego i dodawano do niej taką ilość wody, aby sumaryczna masa wynosiła 5 g. Po dodaniu 50 ml 80 % etanolu próbę homogenizowano przez 1 min i gotowano przez 5 min. Tak przygotowany roztwór sączone do kolbek miarowych o pojemności 50 ml i uzupełniano do kreski. W ekstrakcie oznaczano aktywność przeciwrodnikową zgodnie z metodyką podaną przez Brand-Williams i wsp. [1]. Pomiar polegał na określeniu absorbancji, przy długości fali 515 nm, sześciu roztworów zawierających taką samą objętość roztworu DPPH<sup>•</sup> w ilości 2 ml o stężeniu odpowiadającym absorbancji próby kontrolnej z zakresu 0,6 - 0,7 (próba kontrolna = 2 ml roztworu DPPH<sup>•</sup> + 2 ml 80 % etanolu), przy wybranych objętościach ekstraktu z przedziału 0,02 - 0,20 ml. Pomiaru dokonywano po 30 min od dodania roztworu DPPH<sup>•</sup>. Na tej podstawie wykreślono zależność liniową pomiędzy objętością ekstraktu a stopniem wygaszania rodników DPPH<sup>•</sup>. Z równania linii prostej obliczano objętość ekstraktu, powodującą 50 % redukcję rodników. Wartość tę przeliczano na masę suchej substancji odpowiadającą danej objętości ekstraktu. Tak więc efektywność wygaszania wolnych rodników przez badane susze i surowiec

wyrażano w formie współczynnika  $IC_{50}$ , określającego ilość materiału potrzebnego do 50 % redukcji wolnych rodników DPPH'.

Zawartość związków polifenolowych oznaczano metodą Folina-Ciocalteu'a [11], stosując jako wzorzec kwas chlorogenowy. Do analiz wykorzystano ekstrakt przygotowany do oznaczania stopnia wygaszania wolnych rodników.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy zastosowaniu testu t-Studenta, dwuczynnikowej analizy wariancji i procedury Duncana przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . Porównania wielokrotne (szczegółowe) umożliwiły uzyskanie podziału średnich na grupy jednorodne, czyli nieróżniące się istotnie w ujęciu statystycznym.

### Wyniki i dyskusja

Czas potrzebny do wysuszenia plastrów jabłka do zawartości wody równej 0,13 kg  $H_2O/kg$  s.s. podczas suszenia z wykorzystaniem promieniowania podczerwonego wynosił od 106 do 155 min (tab. 1) i był krótszy od czasu suszenia konwekcyjnego wynoszącego 158 min. W tab. 1., w celach porównawczych, przedstawiono czas suszenia do osiągnięcia tej samej zawartości wody (0,1 kg  $H_2O/kg$  s.s.). W praktyce plastry jabłka charakteryzowały się zawartością suchej substancji od 88,1 do 95,3 %, czyli od 0,13 do 0,05 kg  $H_2O/kg$  s.s. Najkrótszy czas suszenia odnotowano przy zastosowaniu odległości od źródła promieniowania wynoszącego 30 cm i prędkości przepływu 0,5 m/s – był on krótszy od suszenia konwekcyjnego o 33 %. Czas potrzebny do osiągnięcia 0,13 kg  $H_2O/kg$  s.s. wydłużał się wraz ze wzrostem prędkości przepływu powietrza. Większa prędkość przepływu powietrza powodowała chłodzenie powierzchni materiału, co potwierdziły wartości temperatury plastrów pod koniec suszenia (tab.1). W efekcie prowadziło to do zmniejszenia szybkości usuwania wody i wydłużenia czasu suszenia, przy wzroście prędkości powietrza z 0,5 do 2 m/s nawet o 30 %, przy odległości lamp od powierzchni materiału równej 10 cm. Wzrost prędkości powietrza wpływa w najmniejszym stopniu na czas suszenia, gdy suszony jest materiał w odległości 20 cm od źródła promieniowania. Podobne wyniki uzyskał Sharma i wsp. [10] podczas suszenia plastrów cebuli: czas suszenia przy szybkości powietrza 1,0 m/s, temp. powietrza 45 °C i mocy promienników 300 W wynosił 8 h, zwiększając się do 9 h, gdy szybkość powietrza wynosiła 1,5 m/s.

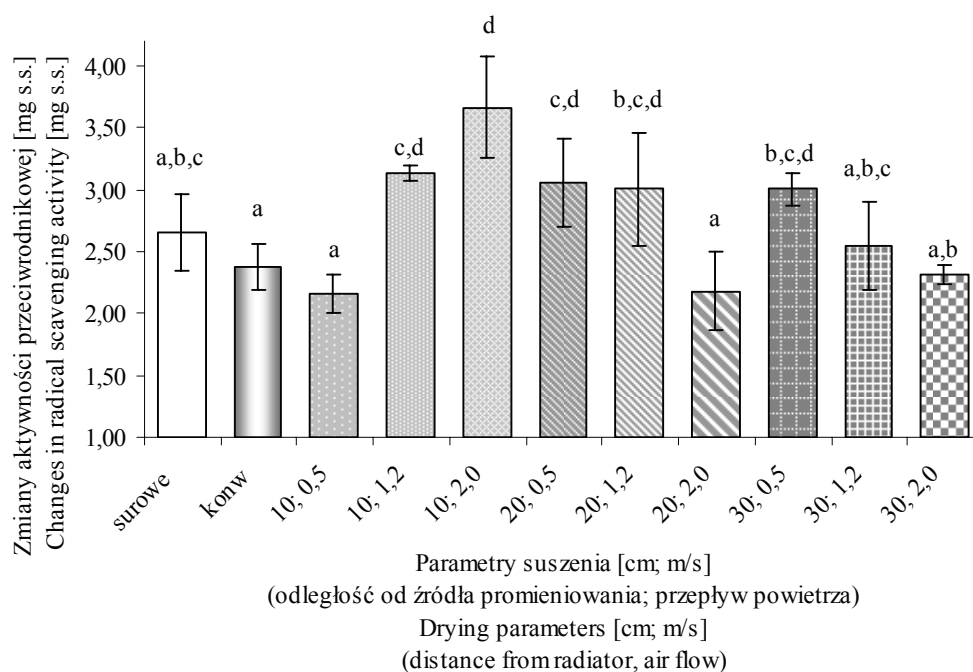
Zawartość polifenoli w surowych jabłkach wynosiła  $1504 \pm 32$  mg kwasu chlorogenowego/100 g s.s., a do 50-procentowej redukcji wolnych rodników potrzeba było  $2,65 \pm 0,30$  mg suchej substancji.

Podczas suszenia konwekcyjnego zawartość polifenoli jabłek zmniejszyła się do około 88 % aktywności surowca przed suszeniem, natomiast aktywność przeciwrodnikowa nie uległa statystycznie istotnej zmianie (rys. 1 i 2).

Tabela 1

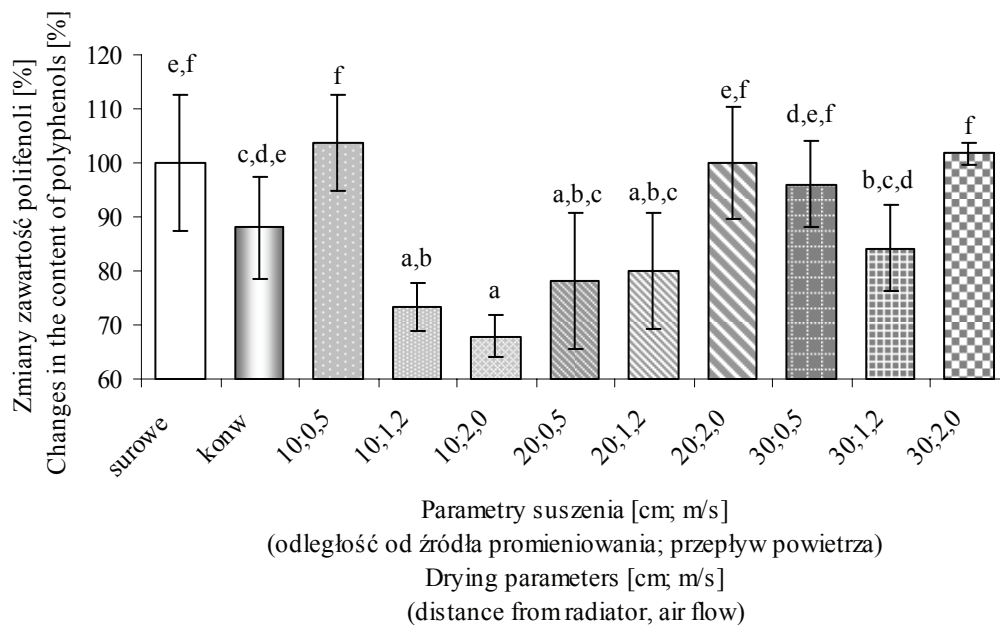
Czas suszenia plastrów jabłka do osiągnięcia 0,13 kg H<sub>2</sub>O/kg s.s. i ich końcowa temperatura.  
Time of drying apple slices until they reached 0.13 kg H<sub>2</sub>O/kg d.m. and their final temperature.

Wyszczególnienie Specification	Parametry suszenia / Drying Parameters									
	Suszenie konwekcyjne Convective drying	Suszenie konwekcyjne wspomagane promieniami podczerwonymi Convective drying supported by Infrared Rays								
Odległość źródła promieniowania [cm] Distance from the source of radiation	Temperatura 70°C Temperature of 70°C	10			20			30		
Prędkość przepływu powietrza [m/s] Air flow rate	2,0	0,5	1,2	2,0	0,5	1,2	2,0	0,5	1,2	2,0
Czas suszenia [min] Time of drying	158	123	131	155	132	129	127	106	119	127
Temperatura końcowa materiału [°C] Final temperature of material	71	90	83	75	70	66	65	69	68	67



Rys. 1. Zmiany aktywności przeciwrodnikowej suszonych jabłek w przeliczeniu na suchą substancję.  
Fig. 1. Changes in radical scavenging activity of dried apples as expressed per dry matter.



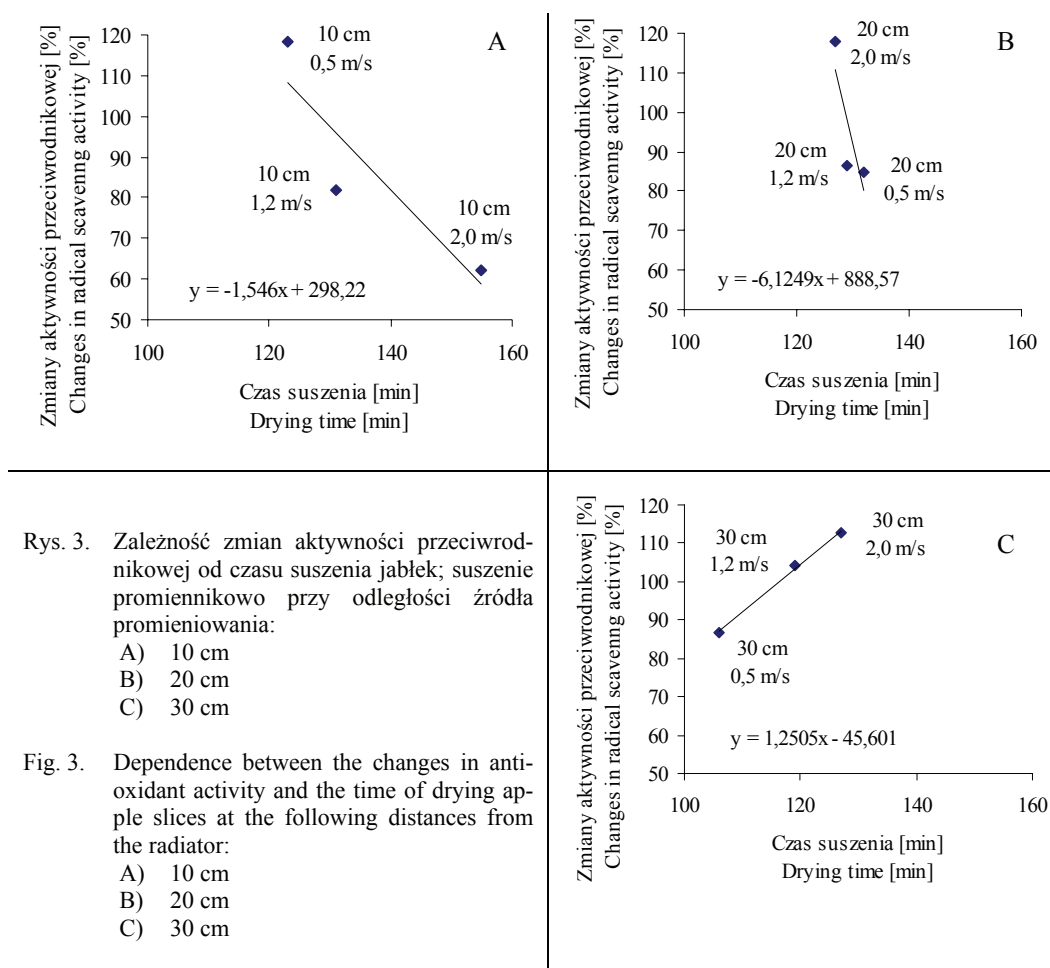


Rys. 2. Zmiany zawartości polifenoli w surowych jabłkach i suszach  
 Fig. 2. Changes in the content of polyphenols in raw and dried apples

Suszenie promieniami podczerwonymi jest uznawane za metodę suszenia, gwarantującą uzyskanie wysokiej jakości suszonej żywności, w szczególności owoców, warzyw i zbóż [13]. Przy odległości od źródła promieniowania do suszonego materiału wynoszącego 10 cm, wraz ze zwiększeniem się prędkości przepływu powietrza następowało zmniejszenie aktywności przeciwrodnikowej oraz podobnie zawartości polifenoli. W przypadku tych parametrów suszenia zanotowano najwyższe temperatury końcowe materiału (tab. 1), co w połączeniu z długim czasem suszenia i znacznym natlenieniem materiału przy wyższych prędkościach przepływu powietrza spowodowało największe zmniejszenie aktywności przeciwrodnikowej i zawartości polifenoli. Badania prowadzone przy odległości źródła promieniowania od suszonego materiału wynoszącej 20 i 30 cm charakteryzowała odwrotna zależność: większą zdolność przeciwutleniającą oraz większą zawartość polifenoli obserwowano się przy zastosowaniu wyższych prędkości przepływu powietrza. W przypadku odległości próbek suszonych od źródła promieniowania wynoszącej 20 cm można to tłumaczyć zmniejszającą się temperaturą końcową materiału i czasem suszenia wraz ze wzrostem prędkości przepływu suszenia (tab. 1), co w efekcie doprowadziło do mniejszej degradacji polifenoli i związków charakteryzujących się możliwością wygaszania wolnych rodników. Gdy zastosowano odległość 30 cm, nastąpiło wydłużenie czasu suszenia wraz ze wzrostem

prędkości powietrza, co oznacza, że przy mniejszej dawce energii doprowadzanej do plasterków jabłka, wzrost prędkości powodował bardzo intensywne chłodzenie materiału, a w efekcie mniejsze prędkości suszenia. Potwierdzają to również wartości temperatury końcowej materiału, różniące się w niewielkim stopniu (67 - 69 °C).

Tak więc aktywność przeciwutleniająca suszu promiennikowego uzyskanego przy odległości od źródła promieniowania wynoszącej 10 i 20 cm była większa wówczas, gdy do ich otrzymania zastosowano krótszy czas suszenia (rys. 3A, 3B), a materiał osiągał wyższą temperaturę (tab. 1). Jedynie przy największej odległości wraz z wydłużeniem czasu suszenia i wzrostem prędkości przepływu powietrza, następował liniowy wzrost aktywności przeciwrodnikowej (rys. 3C).



Rys. 3. Zależność zmian aktywności przeciwrodnikowej od czasu suszenia jabłek; suszenie promiennikowo przy odległości źródła promieniowania:

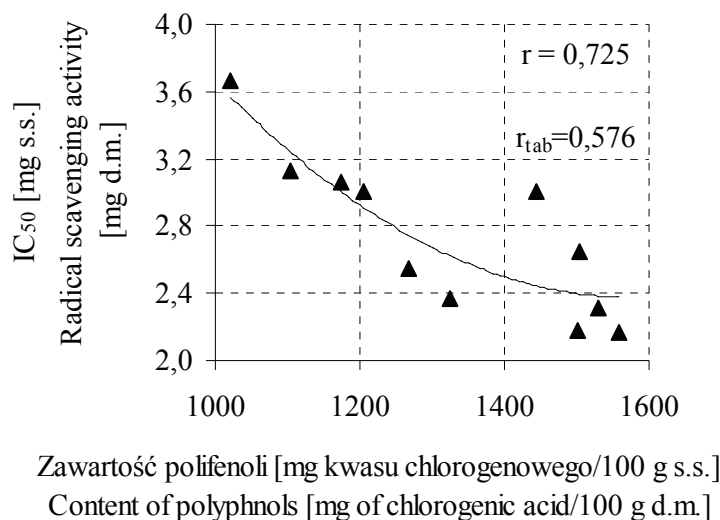
- A) 10 cm
- B) 20 cm
- C) 30 cm

Fig. 3. Dependence between the changes in antioxidant activity and the time of drying apple slices at the following distances from the radiator:

- A) 10 cm
- B) 20 cm
- C) 30 cm

Na rys. 4. przedstawiono zależność aktywności przeciwrodnikowej i zawartości polifenoli. Wartość współczynnika korelacji,  $r = 0,725$ , większa od wartości tablicowej

na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ , świadczy o krzywoliniowej zależności 2. stopnia pomiędzy badanymi wartościami. Jednak należy podkreślić, że również korelacja liniowa pomiędzy analizowanymi wartościami była istotna ( $r = 0,64$ ). Zwiększenie zawartości polifenoli wpływa znacząco na wzrost aktywności przeciwrodnikowej badanych suszy. Jednakże na aktywność przeciwrodnikową poza polifenolami składają się różne inne związki, np. witaminy, barwniki. Podczas suszenia promiennikowego mogą one ulegać niewielkim zmianom, mogą też tworzyć się nowe związki, np. produkty brązowienia o charakterze przeciwutleniaczy.



Rys. 4. Zależność między współczynnikiem  $IC_{50}$  i zawartością polifenoli.

Fig. 4. Dependence between the coefficient  $IC_{50}$  and the content of polyphenols.

### Wnioski

1. Suszenie konwekcyjne z wykorzystaniem promieni podczerwonych, w porównaniu z tradycyjnym suszeniem konwekcyjnym, skraca czas suszenia jabłek o 16 – 33 %, w zależności od zastosowanych parametrów procesu.
2. Aktywność przeciwrodnikowa oraz zawartość polifenoli w suszach jabłkowych zależą od stosowanej metody i parametrów suszenia, przy czym wpływ zastosowania ogrzewania promieniami podczerwonymi jest niejednoznaczny.
3. Zaobserwowano tendencję, że wraz ze zwiększaniem prędkości przepływu powietrza następowało zmniejszenie zawartości polifenoli i aktywności przeciwrodnikowej przy najmniejszej odległości materiału suszonego od źródła promieniowania (10 cm). Natomiast zwiększenie zawartości polifenoli i aktywności przeciwrodnikowej następowało przy zastosowaniu większych odległości od źródła promienio-

wania (20 i 30 cm), przy wzrastającej prędkości przepływu powietrza, a tym samym przy niższej temperaturze tkanki.

4. Zaobserwowano krzywoliniową korelację 2. stopnia między aktywnością przeciwrodnikową a zawartością polifenoli w suszach konwekcyjno-promiennikowych.

*Badania realizowane z Grantu MNiSW Nr N312 159134. Praca była prezentowana podczas I Symposium Żywności z okazji 30-lecia powołania specjalizacji Inżynieria Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW, Warszawa, 5 - 6 czerwca 2008 r.*


### Literatura

- [1] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. U. – Techn.*, 1995, **28**, 25-30.
- Grajek W.: Rola przeciwutleniaczy w zmniejszeniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **1 (38)**, 3-11.
- [3] Gumul D., Korus J., Achremowicz B.: Wpływ procesów przetwórczych na aktywność przeciwutleniającą surowców pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4 (45) Supl.**, 41-48.
- [4] Lim Y.Y., Murtijaya J.: Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2007, **40**, 1664–1669.
- [5] Nowak D., Lewicki P.P.: Infrared drying of apple slices. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 2004, **5 (3)**, 353-360.
- [6] PN-90/A-75101/03 Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [7] Praveen Kumar D.G., Umesh Hebbar H., Ramesh M.N.: Suitability of thin layer models for infrared-hot air-drying of onion slices. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2006, **39**, 700-705.
- [8] Raport o stanie i perspektywach przemysłu rolno-spożywczego. Rada Gospodarki Żywnościowej przy Ministrze Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Warszawa, maj 2006, ss. 81-124.
- [9] Sakai N., Hanzawa T.: Application and advances in far-infrared heating in Japan. *Trends Food Sci. Technol.*, 1994, **5 (11)**, 357-362.
- [10] Sharma G.P., Verma R.C., Pathare P.B.: Thin-layer infrared radiation drying of onion slices, *J. Food Eng.*, 2005, **67 (3)**, 361-366.
- [11] Sluis A., Dekker M., Skrede G., Jongen W.: Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. Effect of existing production methods. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50 (25)**, 7211-7214.
- [12] Ścibisz I., Mitek M.: Aktywność przeciwutleniająca i zawartość związków fenolowych w suszach z owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum L.*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **4 (49)**, 68-76.
- [13] Tog̃rul H.: Suitable drying model for infrared drying of carrot. *J. Food Eng.*, 2006, **77**, 610–619.
- [14] Umesh Hebbar H., Vishwanathan K.H., Ramesh M.N.: Development of combined infrared and hot air dryer for vegetables. *J. Food Eng.*, 2004, **65 (4)**, 557-563.
- [15] Wang J., Sheng K.: Far-infrared and microwave drying of peach. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2006, **39(3)**, 247-255.
- [16] Wesolowski A., Markowski M.: Badania nad suszeniem jabłek promieniami podczerwonymi, *Inż. Roln.*, 2000, **5**, 249-256.

## CHANGES IN RADICAL SCAVENGING ACTIVITY AND IN CONTENT OF POLYPHENOLS IN DRIED APPLES PRODUCED USING INFRARED RADIATION

### S u m m a r y

Natural antioxidants impact general antioxidant activity of raw material to a large extent, and, among them, polyphenols constitute the biggest group. Each technological treatment has, unquestionably, an effect on changes in the antioxidant capacity of products. Thus, the objective of this study was to determine the effect of some drying parameters applied while using infrared radiation to dry apples, i.e. air flow rate and distance between the source of radiation and the surface of the material being dried, on the antioxidant activity of and the content of polyphenols in dried apples. The analysis results of apple samples dried using infrared radiation were compared with the relevant analysis results of samples dried by a traditional method, at  $t = 70$  °C. When the distance from the radiation source was the longest and the air flow rate was the lowest, the time of drying was shorter by, even, 33 % compared to the convective drying method. The time of drying got longer along with the increasing rate of air flow and with the decreasing distance from the radiation source. However, while drying apples using infrared rays, the impact of both the distance from the radiation source and the air flow rate on the antioxidant activity and the content of polyphenols were not explicit. It was found that along with the growing air flow rate and at a shorter time of drying, the content of polyphenols and the scavenging activity were reduced at the shortest distance between the material being dried and the source of radiation. However, when longer distances from the radiation source were applied (20 and 30 cm), it was found that the content of polyphenols and antioxidant activity either grew or did not change along with the growing air flow rate, so, at a lower temperature of tissue. As for a 30 cm distance from the radiation source, a linear increase in the antioxidant activity was reported along with the increase in the air flow rate. Furthermore, a curvilinear dependence between the antioxidant activity and the content of polyphenols was shown; it evidenced the fact that the increase in the content of polyphenols impacted the increase in the antioxidant activity of the dried apple slices under this study.

**Key words:** infrared drying, convective drying, radical scavenging activity, polyphenols content, apple slices 

EWA JAKUBCZYK

## CHARAKTERYSTYKA SUSZENIA KONWEKCYJNO- MIKROFALOWEGO SPIENIONEGO PRZECIERU JABŁKOWEGO

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu mocy generatora mikrofal na kinetykę suszenia konwekcyjno-mikrofalowego i barwę spienionego przecieru jabłkowego oraz zaproponowanie modelu opisującego kinetykę procesu suszenia. Przecier jabłkowy spieniano z dodatkiem 2 % albuminy i 0,5 % metylocelulozy w ciągu 5 min. Uzyskaną pianę suszono w suszarce konwekcyjno-mikrofalowej przy prędkości powietrza 1,8 m/s w temperaturze 40 °C i przy grubości warstwy 4 mm. Moc generatora mikrofal wynosiła odpowiednio: 0, 80, 120, 180, 250 W. Po suszeniu określano zawartość wody oraz barwę powierzchni piany za pomocą chromometru firmy Minolta w systemie CIE L\*a\*b\*. Analiza kinetyki suszenia konwekcyjno-mikrofalowego wykazała brak okresu stałej szybkości suszenia. Obserwowano głównie okres malejącej szybkości suszenia. Moc mikrofal istotnie wpływała na skrócenie czasu suszenia spienionego przecieru. Przy zastosowaniu mocy 250 W czas suszenia był 5-krotnie krótszy w porównaniu z suszeniem wyłącznie konwekcyjnym. Suszenie przy 180 W umożliwia otrzymanie produktu o jaśniejszej barwie, a jednocześnie szybkość suszenia przy zawartości wody 1 kg/kg s.s. jest tylko o 15 % niższa od wartości uzyskanych przy 250 W.

**Słowa kluczowe:** suszenie pianowe, moc mikrofal, kinetyka suszenia, barwa

### Wprowadzenie

Suszenie pianowe nie jest nową techniką suszarniczą, ale w ostatnich latach podejmowane są próby ponownego jej wykorzystania [15]. Suszenie spienionych materiałów o otwartej porowatej strukturze umożliwia zachowanie dużych szybkości przenoszenia masy i skrócenie czasu trwania procesu [6]. Jednym z istotnych wyróżników jakościowych produktów suszonych jest ich aromat. W wyniku suszenia pianowego uzyskuje się produkty w formie instant o dobrej jakości oraz o wysokim stopniu zachowania związków lotnych i korzystnych właściwościach rekonstrykcyjnych. Technika pianowa może być z powodzeniem stosowana np. do materiałów o dużej zawartości cukrów, które trudno jest wysuszyć innymi metodami [15].

---

*Dr inż. E. Jakubczyk, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa*

Suszenie pianowe składa się z trzech etapów: formowanie stabilnej piany zawierającej produkt, który ma być suszony, suszenie piany do formy cienkiej warstwy (marty) oraz kompresja wysuszonego materiału poprzez rozdrobnienie do sypkiego proszku [5]. Piana jest układem dwufazowym powstającym wskutek zdyspergowania pęcherzyków powietrza w fazie ciekłej [7]. Stabilność pian odgrywa kluczową rolę w przebiegu procesu suszenia, dlatego niezbędne jest stosowanie substancji powierzchniowo czynnych, które m.in. poprzez wzrost lepkości fazy wodnej wpływają na trwałość pian [2].

Suszone owoce, jak i przeciera owocowe, są szeroko stosowane jako składniki wielu produktów spożywczych, takich jak: lody, jogurty, puddingi, wyroby cukiernicze i piekarskie [8]. Suszenie pianowe znalazło zastosowanie w suszeniu soków owocowych, ale również pulp owocowych i warzywnych. Pulpy mango [14] i banana [19] spieniano z zastosowaniem m.in. metylocelulozy, białka jaja kurzego czy monostearynianu glicerolu jako środków spieniających, a następnie suszono owiewowo.

Suszenie mikrofalowe lub konwekcyjne wspomagane mikrofalami umożliwia ogrzewanie surowca i równomierne odparowanie wody we wnętrzu materiału. Zastosowanie mikrofal pozwala na uzyskanie suszu o wysokiej jakości odżywczej i sensorycznej [18], przy jednoczesnym skróceniu czasu suszenia w porównaniu z innymi metodami.

Celem pracy było określenie wpływu mocy generatora mikrofal na kinetykę suszenia konwekcyjno-mikrofalowego i barwę spienionego przeciera jabłkowego oraz zaproponowanie modelu opisującego procesu suszenia.

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowił przecier jabłkowy (16,5 Brix) (Barbara S.C., Narty) spieniany z dodatkiem 2 % albuminy i 0,5 % metylocelulozy. Materiał spieniano przy użyciu miksera laboratoryjnego w ciągu 5 min. Uzyskaną pianę o gęstości  $0,31 \pm 0,01 \text{ g/cm}^3$  nakładano na szalkę Petriego o średnicy 166 mm i suszono w suszarce konwekcyjno-mikrofalowej przy prędkości powietrza 1,8 m/s w temp. 40 np. °C i grubości warstwy 4 mm. Moc generatora mikrofal wynosiła odpowiednio: 0, 80, 120, 180, 250 W. Suszenie prowadzono do uzyskania stałej masy; masę suszonego materiału rejestrowano z dokładnością do 0,1g. Każdy eksperyment wykonywano w trzech powtórzeniach.

Na podstawie ubytków masy w czasie suszenia wykreślano krzywe suszenia, w funkcji względnej zawartości wody w czasie.

$$MR = \frac{u - u_r}{u_o - u_r}$$



gdzie:  $MR$  – bezwymiarowa względna zawartość wody,  $u$  – zawartość wody w czasie suszenia [kg/kg s.s.],  $u_o$  – początkowa zawartość wody [kg/kg s.s.],  $u_r$  – równowagowa zawartość wody [kg/kg s.s.].

W materiale mokrym i suszu określano zawartość wody (metodą suszenia pod obniżonym ciśnieniem w 70 °C przez 24 h).

Tabela 1

Modele matematyczne zastosowane do opisu krzywych suszenia.

Mathematical models applied to drying curves.

Numer modelu Number of model	Nazwa modelu Name of model	Równanie modelu Equation of model
1	Newtona [3, 11] / Newton's	$MR = \exp(-k \cdot t)$
2	Page'a [3] / Page's	$MR = \exp(-k \cdot t^n)$
3	Hendersona i Pabisa [4] of Henderson and Pabis	$MR = a \cdot \exp(-k \cdot t)$
4	Logarytmiczny [3] Logarithmic	$MR = a \cdot \exp(-k \cdot t) + b$
5	Midilliego i wsp. [9] of Midillie & Co.	$MR = a \cdot \exp(-k \cdot t^n) + b \cdot t$
6	Wanga i Singha [20] of Wang and Singh	$MR = 1 + a \cdot t + b \cdot t^2$
7	Logistyczny [17] / Logistic	$MR = b / (1 + \exp(k \cdot t))$
8	Dwuskładnikowy [17] Two factor Model	$MR = a \cdot \exp(-k \cdot t) + b \cdot \exp(-k_i \cdot t)$

Objaśnienia /Explanatory notes:

$MR$  – względna zawartość wody / moisture ratio;  $k$  i  $k_i$  – współczynniki suszarnicze / drying coefficients ( $\text{min}^{-1}$ );  $n$  – eksponent / exponent;  $t$  – czas/ time, min;  $a$  i  $b$  – współczynniki równania / coefficients of the equation.

Jednoczynnikową analizę wariancji współczynników charakteryzujących barwę materiału suszonego przy różnej mocy mikrofal przeprowadzono stosując testu Tukeya, przy  $\alpha = 0,05$ . Analizę regresji krzywych suszenia i szybkości suszenia przeprowadzono przy wykorzystaniu programów Table Curve 2D i Statgraphics Plus 5.0. Porównano 8 różnych modeli stosowanych przez innych autorów do opisu krzywych suszenia materiałów w warstwie (tab. 1) w celu wyboru równania najlepiej opisującego dane eksperymentalne. Analiza statystyczna obejmowała również wyznaczenie wartości zredukowanego testu  $\chi^2$  oraz średniego błędu kwadratowego (RMSE) jako parametrów stanowiących główne kryterium w wyborze optymalnego modelu. Niskie wartości  $\chi^2$  cha-

rakteryzowały dobre dopasowanie modelu, a bliskie zero wartości RMSE wskazywały na małe różnice między wartościami wyliczonymi a eksperymentalnymi. Parametry statystyczne wyliczono z zależności:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (MR_{i,p} - MR_{i,e})^2}{N}}$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{i,e} - MR_{i,p})^2}{N - n}$$

gdzie:  $MR_{i,p}$  - wyliczona (przewidywana) wartość względnej zawartości wody,  $MR_{i,e}$  - eksperymentalna wartość względnej zawartości wody,  $N$  - liczba obserwacji,  $n$  - liczba stałych w równaniu modelu.

Barwę powierzchni suszonego materiału określano za pomocą chromometru typu CR-300 firmy Minolta w systemie CIE  $L^*a^*b^*$ . Oznaczano również barwę materiału wysuszonego i rozdrobnionego do formy proszku.

## Wyniki i dyskusja

W tab. 2. przedstawiono wyniki przeprowadzonej analizy regresji zmian względnej zawartości wody w czasie suszenia charakteryzujące dopasowanie 9 modeli, których równania zestawiono w tab. 1.

Większość badanych modeli, w różnych warunkach suszenia charakteryzowała się wysokimi wartościami  $R^2$  od 0,920 do 0,999 z wyjątkiem modelu 1. (Newtona) zastosowanego do opisu suszenia konwekcyjno-mikrofalowego przy mocy 80 W. Porównano również średni błąd kwadratowy RMSE, który przyjmował wartości niższe niż  $5,75 \cdot 10^{-3}$  (z wyjątkiem modelu 1.). Na podstawie wyliczonych parametrów statystycznych wybrano model 5., który charakteryzował się najniższymi wartościami  $\chi^2$  ( $1 \cdot 10^{-5} \div 3,3 \cdot 10^{-4}$ ) i RMSE ( $0,0013 \div 0,0152$ ) oraz najwyższymi wartościami  $R^2$ . Model Midilliego i wsp. [9] doskonale opisywał dane eksperymentalne uzyskane podczas suszenia konwekcyjno-mikrofalowego, jak i konwekcyjnego (które w pracy oznaczono jako 0 W) spienionego materiału.

W tab. 3. zamieszczono wyliczone wartości współczynników modelu 5. suszenia spienionego przecieru w zależności od zastosowanej mocy generatora mikrofal. Na rys. 1a przedstawiono zarówno dane eksperymentalne (średnie wartości wraz z odchyleniami standardowymi), jak i krzywe regresji, które w nieznacznym stopniu odbiegają od wartości doświadczalnych.

Tabela 2

Wyniki analizy statystycznej modeli kinetyki suszenia konwekcyjno-mikrofalowego pian.

Results obtained from the statistical analysis of the models of convection-microwave drying kinetics for foams.

Numer modelu Number of model	Moc [W] Power [W]	RMSE	$\chi^2$	R <sup>2</sup>
1	0	0,0249	0,00063	0,990
	80	0,1549	0,02504	0,720
	120	0,0855	0,00767	0,935
	180	0,0587	0,00391	0,990
	250	0,0543	0,00383	0,974
2	0	0,0133	0,00018	0,997
	80	0,0217	0,00051	0,995
	120	0,0208	0,00048	0,996
	180	0,0148	0,00026	0,968
	250	0,0196	0,00045	0,997
3	0	0,0172	0,00031	0,995
	80	0,0342	0,00127	0,986
	120	0,0721	0,00575	0,954
	180	0,0495	0,00320	0,999
	250	0,0511	0,00308	0,979
4	0	0,0173	0,00031	0,995
	80	0,0014	0,00000	0,999
	120	0,0347	0,00140	0,989
	180	0,0328	0,00131	0,999
	250	0,0261	0,00089	0,995
5	0	0,0041	0,00002	0,999
	80	0,0013	0,00001	0,999
	120	0,0142	0,00025	0,998
	180	0,0103	0,00012	0,998
	250	0,0152	0,00033	0,998
6	0	0,0685	0,00502	0,920
	80	0,0135	0,00020	0,998
	120	0,0347	0,00133	0,989
	180	0,0304	0,00112	0,997
	250	0,0092	0,00010	0,999
7	0	0,0173	0,00031	0,995
	80	0,0175	0,00035	0,996
	120	0,0151	0,00026	0,998
	180	0,0171	0,00035	0,998
	250	0,0222	0,00064	0,996
8	0	0,0105	0,00012	0,998
	80	0,0342	0,00140	0,986
	120	0,0721	0,00642	0,954
	180	0,0587	0,00366	0,990
	250	0,0565	0,00461	0,979

Analiza krzywych suszenia wskazuje na istotny wpływ zastosowania mikrofal. Spieniony materiał był suszony wyłącznie konwekcyjnie (0W) 125 min do zawartości wody 0,0453 kg/kg s.s., podczas gdy przy mocy mikrofal – 80 W obserwowano 2,5-krotne skrócenie czasu suszenia. Wzrost mocy mikrofal do 120 W wpływał na dalsze skrócenie czasu suszenia do 36 min i zmniejszenie zawartości wody do 0,0134 kg/kg s.s. Spieniony przecier przy mocy 180 i 250 W suszono odpowiednio 29 i 24 min, osiągając średnią zawartość wody 0,012 kg/kg s.s.. Wang i wsp. [21] podczas suszenia konwekcyjno-mikrofalowego wyłoków jabłkowych w warstwie obserwowali 4-krotne skrócenie czasu suszenia przy wzroście mocy ze 150 do 600 W, jednocześnie analiza kinetyki suszenia wskazywała na brak obecności pierwszego okresu suszenia. W badaniach wstępnych suszenia spienionego przecieru zastosowano również moc 300 W, ale wyników tego suszenia nie zaprezentowano ze względu na dyskwalifikujące przypalenie materiału, szczególnie w jego środku.

Tabela 3

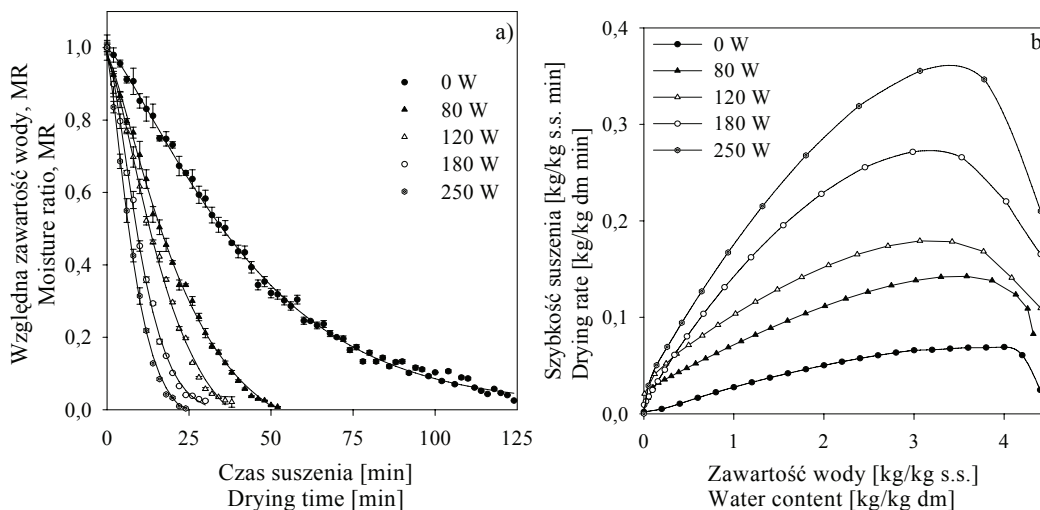
Współczynniki modelu 5. suszenia konwekcyjno-mikrofalowe spienionego przecieru.  
Coefficients of Model 5 of the convection-microwave drying of foamed pulp.

Moc [W] Power [W]	a	K	n	b
0	0,998	0,008	1,254	0,0001
80	0,985	0,020	1,242	-0,0014
120	0,976	0,018	1,376	-0,0018
180	0,987	0,028	1,437	-0,0006
250	0,987	0,056	1,305	-0,0016

W procesie suszenia spienionego przecieru jabłkowego po krótkim okresie nagrzewania materiału, w początkowej fazie suszenia obserwowano wyższe szybkości suszenia niż pod koniec procesu (rys. 1b). Najmniejszą początkową szybkością suszenia w ciągu pierwszych 5 min procesu charakteryzował się materiał suszony konwekcyjnie (0 W) 0,069 kg/kg s.s.min, a przy zastosowaniu mocy 250 W wodę usuwano z szybkością 0,271 kg/kg s.s.min. Rajkumar i wsp. [14] podczas suszenia konwekcyjnego spienionego przecieru z mango nie obserwowali pierwszego okresu suszenia i praktycznie cały proces suszenia przebiegał w okresie malejących szybkości suszenia, co jest charakterystyczne dla materiałów o wysokiej zawartości wody.

Przy wysokiej wilgotności absorpcja energii mikrofal jest wysoka, co prowadzi do uzyskania wyższych szybkości suszenia ze względu na większą dyfuzję wilgoci. Przy kontynuowaniu suszenia utrata wilgoci wpływa na zmniejszenie absorpcji mikrofal, a w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia szybkości suszenia w końcowym jego

etapie [10]. Moc mikrofal podczas suszenia istotnie wpływała na szybkość usuwania wody, przy zawartości wody 1,0 kg/kg s.s. i przy mocy 120 W przecier był suszony z prędkością o ~70 % i 30 % większą od szybkości uzyskanych odpowiednio przy mocy mikrofal 0 i 80 W. Wzrost o 15 % szybkości suszenia obserwowano przy zwiększeniu mocy z 180 do 250 W.



Rys. 1. Wpływ mocy mikrofal na przebieg: a) krzywych suszenia, b) krzywych szybkości suszenia spienionego przecieru jabłkowego.

Fig. 1. Effect of microwave power on: a) drying curves, b) drying rate curves of foamed apple pulp.

Wyznaczony parametr  $k$  modelu 5. (tab. 3) jest współczynnikiem charakteryzującym szybkość procesu usuwania wody. Zwiększenie mocy mikrofal wpływało na wzrost wartości stałej suszarniczej  $k$ . Analogiczną tendencję obserwowano podczas suszenia konwekcyjno-mikrofalowego materiałów biologicznych w warstwie. Znajomość parametru  $k$  posłużyła do wyliczenia energii aktywacji  $E_a$  na podstawie zmodyfikowanego równania Arrhenniusa, przedstawiającego zależność między kinetyką szybkości suszenia a mocą mikrofal ( $P$ ) w stosunku do masy ( $m$ ) suszonej próby [10]:

$$k = k_o \exp\left(\frac{-E_a \cdot m}{P}\right)$$

gdzie  $k_o$  – stała równania [ $\text{min}^{-1}$ ].

Przeprowadzając analizę regresji zależności między współczynnikiem  $k$  a mocą odniesioną do ilości próby wyznaczono energię aktywacji  $E_a = 6,89 \text{ W/g}$  i stałą  $k_o = 0,17 \text{ min}^{-1}$ . Energia aktywacji wskazuje na szybkość procesu, w przypadku innych materiałów biologicznych suszonych konwekcyjno-mikrofalowo obserwowano zbliżony poziom energii aktywacji w zakresie 5 - 13 W/g [1, 10].

Tabela 4

Wyniki pomiaru barwy pian suszonych konwekcyjno-mikrofalowo.

Measuring results of colour of foams dried using a convection-microwave proces

Moc [W] Power [W]	L*	a*	b*
0	82,83 ± 0,78	+2,37 ± 0,07	+13,86 ± 0,62
80	80,57 ± 0,15	+0,86 ± 0,08	+13,49 ± 0,77
180	80,94 ± 0,22	+0,85 ± 0,04	+13,64 ± 0,99
250	73,81 ± 0,34	+1,47 ± 0,02	+16,92 ± 1,22

Analiza statystyczna barwy materiału rozdrobnionego i powierzchni wysuszonej pian nie wykazała istotnych różnic, stąd w tab. 4. przedstawiono wyniki jasności i współczynników chromatycznych powierzchni suszu. Zastosowana moc mikrofal wpływała istotnie na parametr jasności; wraz ze wzrostem mocy powierzchnia materiału stawała się nieznacznie ciemniejsza. W zakresie mocy mikrofal od 80 do 180 W nie obserwowano istotnych statystycznie różnic barwy materiału. Przy czym największe zmiany parametrów barwy obserwowano przy wzroście mocy mikrofal ze 180 do 250 W. Rząca i Witrowa-Rajchert [16] podczas suszenia konwekcyjno-mikrofalowego obserwowały zmniejszenie parametru L wraz ze wzrostem mocy ze 150 do 300 W. Nieznaczne zmiany jasności podczas suszenia obserwowano również podczas suszenia borówek, również nasycenie barwy ulegało zmniejszeniu [12]. Podobną tendencję obserwowano podczas suszenia mikrofalowo-próżniowego truskawek, gdyż proces wpływał na pociemnienie barwy w porównaniu z owocami świeżymi przy niezmiennych parametrach a\* i b\* [13]. Piany suszone konwekcyjnie-mikrofalowo charakteryzowały się niższymi wartościami parametru a\* charakteryzującego barwę czerwoną. Zaremba i wsp. [22] podczas suszenia konwekcyjnego jabłek różnych odmian negatywnie oceniali owoce o zbyt wysokich wartościach a\*, co wskazywać mogło na zachodzące podczas suszenia procesy brunatnienia. Moc zastosowanych mikrofal nie wpływała istotnie na wartość parametru b\*.

## Wnioski

1. Proces suszenia konwekcyjnego, jak i konwekcyjno-mikrofalowego spienionego przecieru jabłkowego może być z powodzeniem opisany modelem Midilliego i wsp., który uwzględnia również opis krzywych suszenia przy różnej mocy generatora mikrofal.
2. Moc mikrofal istotnie wpływała na skrócenie czasu suszenia spienionego przecieru; 2,5-krotnie przy mocy 80 W i aż 5-krotnie przy 250 W. Proces suszenia, po krótkim 5-minutowym etapie nagrzewania przebiegał w okresie malejących szyb-

- kości suszenia, co związane było z redukcją wilgoci w materiale i mniejszą zdolnością pochłaniania energii mikrofalowej.
3. Szybkość suszenia przecieru była istotnie zależna od mocy mikrofal. Wzrost mocy generatora z 80 do 250 W wpływał na ponad 2-krotne zwiększenie szybkości suszenia przy zawartości wody 1,0 kg/kg s.s.
  4. Wyniki analizy barwy wskazują na obniżenie wartości parametru  $L^*$  materiału suszonego przy mocy mikrofal wynoszącej 250 W. Stosowanie zbyt wysokich mocy mikrofal, powyżej 250 W, może prowadzić do miejscowego przypalenia materiału.
  5. Ze względu na ciemnienie materiału, w trakcie suszenia konwekcyjno-mikrofalowego przy 250 W, wskazane jest stosowanie niższych mocy nieobniżających jakości suszu. Suszenie przy 180 W umożliwia otrzymanie produktu o jaśniejszej barwie, a jednocześnie szybkości suszenia przy średniej zawartości wody w materiale są tylko o 15 % niższe od wartości uzyskanych przy 250 W.

*Praca naukowa finansowana ze środków na naukę przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2007-2009 jako projekt badawczy nr N312 2478 33; była prezentowana podczas I Sympozjum Żywności z okazji 30-lecia powołania specjalizacji Inżynieria Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW, Warszawa, 5 - 6 czerwca 2008 r.*

### Literatura

- [1] Dadali G., Apar D. K., Özbek B.: Microwave drying kinetics of okra. *Drying Technol.*, 2007, **25**, 917-924.
- [2] Darewicz M., Dziuba J.: Struktura a właściwości funkcjonalne białek mleka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (43)**, 47-60.
- [3] Ertekin C., Yaldiz O.: Drying of eggplant and selection of a suitable thin layer drying model. *J. Food Eng.*, 2004, **63**, 349-359.
- [4] Henderson S. M., Pabis S.: Grain drying theory. II. Temperature effects on drying coefficients. *J. Agric. Eng. Res.*, 1961, **6**, 169-174.
- [5] Karim A.A., Wai C.C.: Foam-mat drying of starfruit (*Averrhoa carambola L.*) puree. Stability and air drying characteristics. *Food Chem.*, 1999, **64**, 337-343.
- [6] King C.J.: Nowe techniki odwadniania. W: Nowe metody zagęszczania i suszenia żywności – pod. red. A Spicera. WNT, Warszawa 1980, ss. 428-486.
- [7] Koch R., Noworyta A.: Procesy mechaniczne w inżynierii chemicznej. WNT, Warszawa 1998.
- [8] Komes D., Lovrić T., Kovačević Ganić K.: Aroma of dehydrated pear products. *LWT*, 2007, **40**, 1578-1586.
- [9] Midilli A., Kucuk H., Yapar Z.: A new model for single layer drying. *Drying Technol.*, 2002, **20**, 1503-1513.
- [10] Özbek B., Dadali G.: Thin-layer drying characteristics and modeling of mint leaves undergoing microwave treatment. *J. Food Eng.*, 2007, **83**, 541-549.




- [11] Pangavhane D.R., Sawhney R.L., Sarsavadia P.N.: Effect of various dipping pretreatment on drying kinetics of Thompson seedless grapes. *J. Food Eng.*, 1999, **39**, 211-216.
- [12] Paślawska M.: Zmiany barwy suszonych borówek i malin zachodzące podczas przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1 (46)**, 86-92.
- [13] Paślawska M., Pełka A.: Właściwości rekonstrykcyjne i barwa suszu truskawkowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1 (46)**, 93-99.
- [14] Rajkumar P., Kailappan R., Viswanathan R., Raghavan G.S.V.: Drying characteristics of foamed alphonso mango pulp in a continuous type foam mat dryer. *J. Food Eng.*, 2007, **79**, 1452-1459.
- [15] Ratti C., Kudra T.: Drying of foamed biological materials: opportunities and challenges. *Drying Technol.*, 2006, **24**, 1101-1108.
- [16] Rząca M., Witrowa-Rajchert D.: Wpływ techniki suszenia oraz warunków przechowywania na właściwości rekonstrykcyjne i higroskopijne suszu jabłkowego, *Acta Agrophys.*, 2007, **9 (2)**, 471-479.
- [17] Soysal Y.: Mathematical modeling and evaluation of microwave drying kinetics of mint. *J. Appl. Sci.*, 2005, **5 (7)**, 1266-1274.
- [18] Szarycz M., Jałoszyński K., Pełka A., Ostrowska M., Świerk B.: Wpływ parametrów mikrofalowo-próżniowego suszenia truskawek na przebieg procesu i skurcz suszarniczy. *Inż. Roln.*, 2006, **4 (79)**, 229-237.
- [19] Thuwapanichayanan R., Prachayawarakorn S., Soponronnarit S.: Drying characteristics and quality of banana foam mat. *J. Food Eng.*, 2008, **86**, 573-583.
- [20] Wang C.Y., Singh, R.P.: Use of variable equilibrium moisture content in modeling rice drying. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.*, 1978, **11**, 668-672.
- [21] Wang Z., Sun J., Chen F., Liao X., Hu X.: Mathematical modeling on thin layer microwave drying of apple pomace with and without hot air pre-drying. *J. Food Eng.*, 2007, **80**, 536-544.
- [22] Zaremba R., Biller E., Ekielski A.: Zmiany barwy jabłek w czasie przebiegu procesu suszenia konwekcyjnego. *Inż. Roln.*, 2007, **5 (93)**, 429-435.

## CONVECTION-MICROWAVE DRYING PROFILE OF FOAMED APPLE PULP

### Summary

The objective of this study was to determine the effect of output power of a microwave generator on the kinetics of convection-microwave drying process and on the colour of foamed apple pulp, as well as to suggest a model describing the drying process kinetics. The apple pulp was foamed with 2 % albumin and 0.5 % methylcellulose during a 5 minute period. A 4 mm thick layer of the foamed pulp produced was dried in a combined convection-microwave system at 60 °C, at an air speed of 1.8 m/s. The output power of the microwave generator was: 0, 80, 120, 180, and 250 W, respectively. After the drying process was completed, the moisture content and the surface colour of samples were determined in CIEL\*a\*b\* system using a Minolta chromameter. The analysis of kinetics of the convective-drying process showed that there was no period of a constant drying rate. For the most part, only a period of falling drying rate was found. The microwave output power significantly impacted the decrease in the drying period of foamed apple pulp. At a power of 250 W applied, the drying period was 5 times shorter compared to the drying using solely convection. When drying at 180 W, it was possible to obtain a product of a lighter colour, and, at the same time, the drying rate at a water content of 1.0 kg/kg d.m. was 15 % lower than the respective values obtained at 250 W.

**Key words:** foam drying, microwave power, drying kinetics, colour 

AGATA PEKOSŁAWSKA, ANDRZEJ LENART

## WPLYW RODZAJU I STĘŻENIA SUBSTANCJI OSMOTYCZNEJ NA PRZEBIEG ODWADNIANIA OSMOTYCZNEGO DYNIA

### Streszczenie

Celem pracy była próba wyjaśnienia zjawisk zachodzących w czasie odwadniania osmotycznego dynia z wykorzystaniem cukrów jako substancji osmotycznych. Określano wpływ substancji osmotycznej (glukoza i syrop skrobiowy) i stężenia jej roztworu (20 i 60 %) na kinetykę odwadniania. Proces odwadniania prowadzono przy stosunku masy surowca do roztworu osmotycznego 1 : 4 w ciągu 0 - 300 min. W celu opisu procesu obliczano zawartość wody i ubytek wody, przyrost masy suchej substancji oraz współczynnik efektywności odwadniania.

Uzyskane wyniki wskazują, że zarówno rodzaj substancji osmotycznej, jak i zmiany jej stężenia z 20 do 60 % w roztworach wpływają na kinetykę odwadniania osmotycznego dynia. Przy użyciu roztworów o stężeniu 60 % większą efektywność procesu uzyskano, stosując roztwór syropu skrobiowego, a przy stężeniu 20 % roztwór glukozy.

**Słowa kluczowe:** odwadnianie osmotyczne, wymiana masy, dynia

### Wprowadzenie

Jakość produktów spożywczych oraz koszt ich produkcji są najważniejszymi wskaźnikami uwzględnianymi przy wyborze metody utrwalania żywności [7]. Odwadnianie osmotyczne jest uważane za metodę utrwalania umożliwiającą uzyskanie produktu o bardzo dobrej jakości poprzez usuwanie wody bez przemiany fazowej.

Zastosowanie odwadniania osmotycznego umożliwia poprawę wielu cech żywności. W przypadku odwadniania osmotycznego owoców uzyskuje się między innymi: zmniejszenie ciepłego oddziaływania (ograniczenie negatywnych zmian barwy i substancji zapachowych), ograniczenie kontaktu owoców z powietrzem przez zanurzenie rozdrobnionego materiału w stężonym roztworze (ochrona surowca przed enzymatycznymi i nieenzymatycznymi zmianami barwy), częściowe wnikanie substancji osmo-

tycznej (łagodniejszy i słodszy smak niż wyjściowego surowca), skrócenie czasu suszenia i zwiększenie wydajności suszarki (20 - 30 % zmniejszenie zużycia energii w porównaniu z suszeniem konwekcyjnym) [6].

Stopień odwodnienia surowca oraz zmiany jego składu chemicznego zależą od stężenia i właściwości substancji osmotycznej, rodzaju i stopnia rozdrobnienia surowca, stosunku masy odwadnianego surowca względem roztworu osmotycznego, temperatury i czasu odwadniania oraz sposobu prowadzenia procesu [1, 10, 13]. Najczęściej stosuje się roztwory cukrów (sacharoza, glukoza, fruktoza, laktoza), soli (głównie chlorek sodu) bądź zagęszczone soki owocowe (jabłkowy, bananowy, brzoskwiński, winogronowy) [10]. Odwadnianie osmotyczne przy użyciu różnych substancji osmotycznych przebiega w sposób zależny od ich masy cząsteczkowej. Przy tych samych stężeniach wysokocząsteczkowe substancje wywołują niższe ciśnienie osmotyczne, a tym samym początkowa szybkość usuwania wody jest mniejsza niż przy substancjach o mniejszych masach cząsteczkowych. Jednocześnie w przypadku substancji wysokocząsteczkowych obserwuje się ich mniejsze wnikanie do wnętrza materiału [1, 5].

Odwadnianie osmotyczne może być stosowane jako obróbka wstępna przed suszeniem konwekcyjnym, próżniowym, liofilizacją, fluidyzacją, zamrażaniem czy smażeniem, prowadząc do uzyskania produktów o określonych właściwościach odżywczych i sensorycznych [2, 13, 16]. Metoda ta jest najczęściej używana do utrwalania owoców i warzyw.

Odwadnianie osmotyczne dyni może być przydatną techniką przetwarzania tego surowca i otrzymywania produktu interesującego dla konsumentów [9].

Owoce dyni są mało kaloryczne, gdyż zawierają do 90 % wody, natomiast ich wartość odżywcza jest dość duża. Warzywo to jest źródłem karotenoidów, które przeciwdziałają powstawaniu wolnych rodników, chronią przed skutkami miażdżycy, zacięciem, niektórymi nowotworami i zawałem serca [14]. Dostarcza również składników mineralnych – zwłaszcza fosforu, magnezu, żelaza i wapnia oraz witamin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C i PP [11]. Charakteryzując się niską zdolnością wiązania azotanów z gleby, dynia może stanowić w żywieniu ludzi lepsze od marchwi źródło karotenów. Dynia wzbudza coraz większe zainteresowanie wśród konsumentów i producentów żywności, dlatego istotne jest opracowanie metod przedłużania trwałości tego warzywa.

Celem pracy była próba wyjaśnienia zjawisk zachodzących w czasie odwadniania osmotycznego dyni z wykorzystaniem glukozy i syropu skrobiowego, jako substancji osmotycznych. Określano wpływ wymienionych substancji i ich stężenia na kinetykę odwadniania.

### Material i metody badań

Do badań użyto dyni odmiany Justynka F1 wyhodowanej przez zespół z Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin SGGW w Warszawie. W okresie prowadzenia badań: listopad - styczeń surowiec przechowywano w warunkach chłodniczych w temperaturze 4 - 5 °C oraz wilgotności względnej 80 - 90 %. Przed każdym eksperymentem surowiec myto, obierano, drażono komory nasienne i krojono w kostki o boku 10 mm.

Odwadnianie osmotyczne prowadzono w roztworach syropu skrobiowego i glukozy o stężeniu 20 i 60 % (roztwór nasycony) w temp. 20 °C. Próbkę zanurzano w roztworze substancji osmotycznej przy stosunku masy surowca do roztworu 1:4. Proces odwadniania realizowano przez 0, 5, 10, 30, 60, 180 i 300 min. Po upływie określonego czasu kostki odsączano, przepłukiwano trzykrotnie wodą destylowaną i osuszano na bibule filtracyjnej. W czasie prowadzonych badań oznaczano zmiany masy próbki oraz zawartość suchej substancji. W celu przeprowadzenia analizy wymiany masy zachodzącej w dyni podczas odwadniania osmotycznego określano następujące wskaźniki technologiczne:

– ubytek masy (Mu) [%]:

$$Mu = \frac{(m_o - m_\tau)}{m_o} \cdot 100$$

gdzie:  $m_o$  - początkowa masa próbki [g];  $m_\tau$  - masa próbki po czasie  $\tau$  [g];

– zawartość wody (Wz) [g H<sub>2</sub>O /g s.s.]:

$$Wz = \frac{(100 - ss_\tau)}{ss_\tau}$$

gdzie:  $ss_\tau$  - zawartość suchej substancji po czasie  $\tau$  [%];

– ubytek wody (Wu) [g H<sub>2</sub>O /g p.s.s.]:

$$Wu = \frac{m_o \cdot (100 - ss_o) - m_\tau \cdot (100 - ss_\tau)}{m_o \cdot ss_o}$$

gdzie:  $ss_o$  - początkowa zawartość suchej substancji [%];

– przyrost suchej substancji (Sp) [g s.s. /g p.s.s.]:

$$Sp = \frac{m_\tau \cdot ss_\tau - m_o \cdot ss_o}{m_o \cdot ss_o}$$

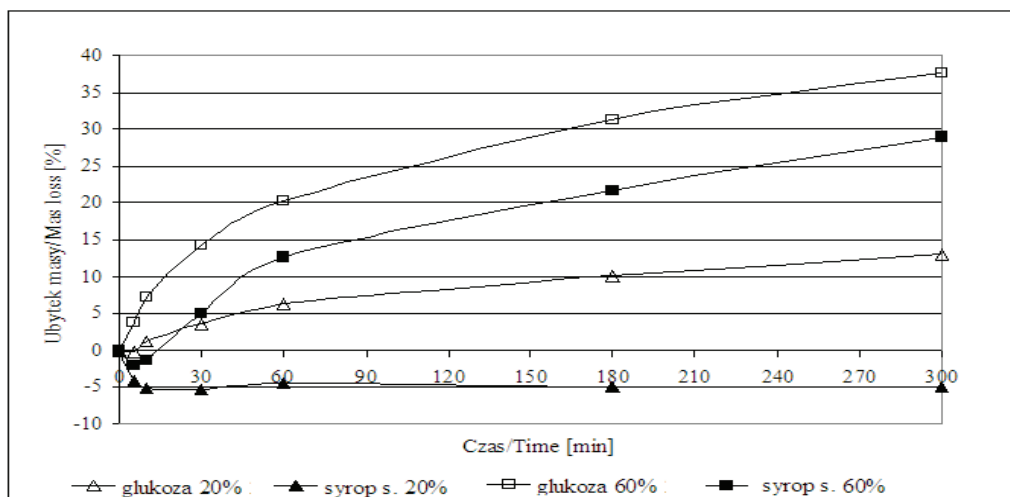
oraz współczynnik efektywności odwadniania wyrażany przez stosunek Wu/Sp [4, 12].

### Wyniki i dyskusja

W czasie odwadniania osmotycznego następowały zmiany masy dyni. W próbkach odwadnianych w roztworze syropu skrobiowego o stężeniu 20 % przyrost masy

utrzymywał się na stałym poziomie ok. 5 % (rys. 1). W pozostałych przypadkach zaobserwowano systematyczny wzrost ubytków masy w całym przedziale czasu prowadzenia procesu. Zmiany masy były większe w przypadku zastosowania roztworu glukozy niż syropu skrobiowego, przy stężeniu 20 % uzyskane wartości były ok. 3 razy wyższe, a przy stężeniu 60 % ok. 1,5 razy.

Wzrost stężenia z 20 do 60 % spowodował większe ubytki masy materiału (rys. 1). W przypadku roztworu glukozy ubytki masy uzyskane przy stężeniu 60 % w całym zakresie czasu były ok. 3 razy większe niż przy stężeniu 20 %. Podwyższenie stężenia roztworu syropu skrobiowego spowodowało 3,5 razy większe ubytki masy po 60 min i aż 7-krotnie większe po 300 min.



Rys. 1. Wpływ rodzaju i stężenia substancji osmotycznej na ubytek masy (Mu) w odwadnianej osmotycznie dyni.

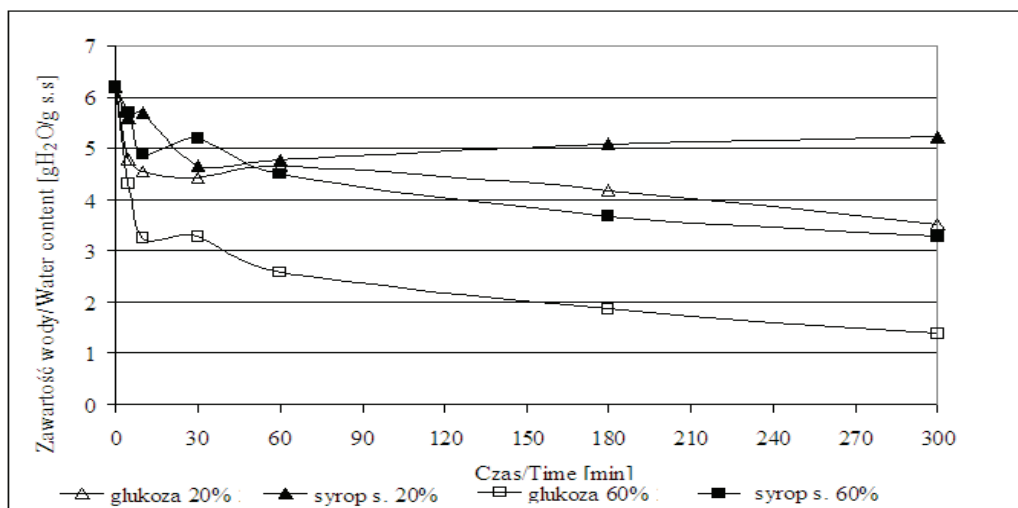
Fig. 1. Effect of kind and concentration of osmotic solution on mass loss (Mu) in osmodehydrated pumpkin.

Początkowa zawartość wody w dyni wynosiła około 6,2 g H<sub>2</sub>O/g s.s. W wyniku odwadniania osmotycznego następowało zmniejszenie jej zawartości. W dyni odwadnianej w roztworze syropu skrobiowego, charakteryzującego się większą masą cząsteczkową, zawartość wody została zmniejszona w mniejszym stopniu, w porównaniu z zastosowaniem roztworu glukozy (rys. 2). Po 300 min zawartość wody w próbkach odwadnianych w roztworach o stężeniu 20 % wynosiła 5,2 g H<sub>2</sub>O/g s.s przy użyciu roztworu syropu skrobiowego i 3,2 g H<sub>2</sub>O/g s.s w przypadku roztworu glukozy, a w roztworach o stężeniu 60 % odpowiednio 3,3 i 1,4 g H<sub>2</sub>O/g s.s.

Zwiększenie stężenia roztworu glukozy z 20 do 60 % wywołało większe zmniejszenie zawartości wody w porównaniu z użyciem roztworu o stężeniu 20 %. W przy-

padku roztworu syropu skrobiowego zależność taka wystąpiła dopiero po 60 min prowadzenia procesu (rys. 2).

Odwadnianie osmotyczne dyni w roztworze glukozy przebiegało korzystniej pod względem uzyskanych wartości ubytków wody (rys. 3). W porównaniu z zastosowaniem roztworu syropu skrobiowego wartości te były prawie dwukrotnie większe przy stężeniu 60 % i ponad sześciokrotnie większe przy stężeniu 20 %. Po 300 min prowadzenia procesu ubytek wody w próbkach odwadnianych w roztworze syropu skrobiowego wynosił przy stężeniu 20 % – -0,2 %, a przy użyciu roztworu o stężeniu 60 % – 2,1 % (rys. 3). Zwiększenie stężenia roztworów glukozy i syropu skrobiowego z 20 do 60 % znacznie zintensyfikowało proces usuwania wody z dyni. Największy ubytek wody uzyskano w materiale odwadnianym w roztworze glukozy o stężeniu 60 %.



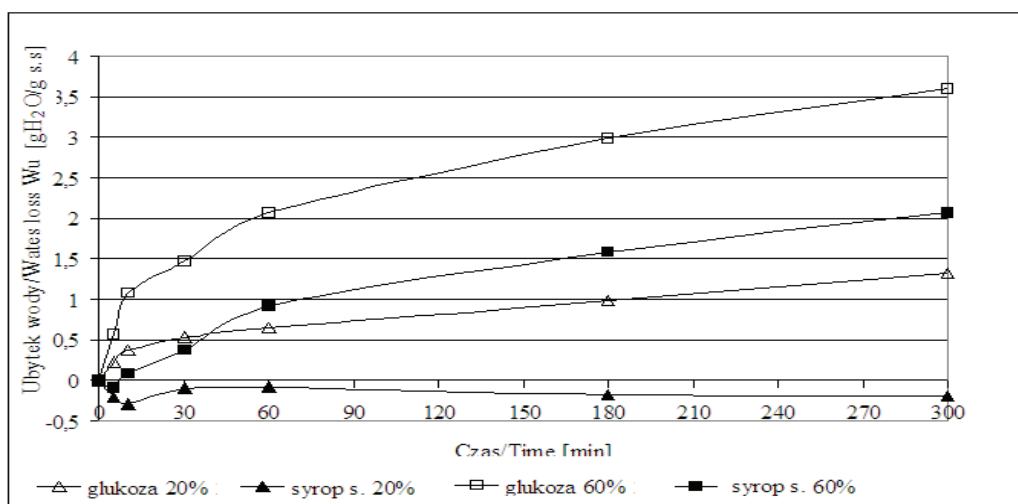
Rys. 2. Wpływ rodzaju i stężenia substancji osmotycznej na zawartość wody (Wz) w odwadnianej osmotycznie dyni.

Fig. 2. Effect of kind and concentration of osmotic solution on water content (Wz) in osmodehydrated pumpkin.

Wartości przyrostu masy suchej substancji w dyni odwadnianej w roztworach o stężeniu 60 % były ponad pięciokrotnie większe w próbkach odwadnianych w roztworze glukozy w porównaniu z roztworem syropu skrobiowego (rys. 4). W przypadku użycia roztworów o stężeniu 20 % nie zaobserwowano wpływu rodzaju substancji osmotycznej na przyrost masy suchej substancji.

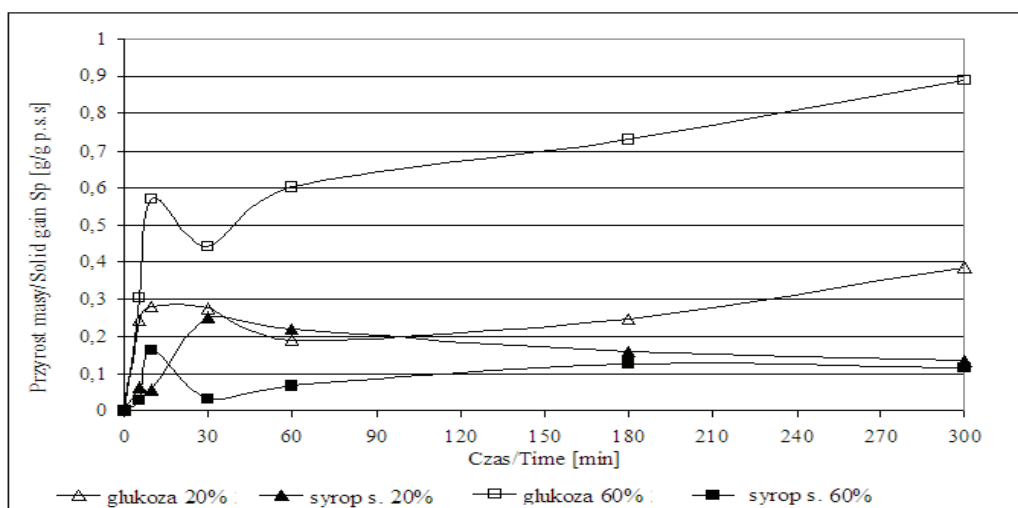
Zwiększenie stężenia roztworu syropu skrobiowego z 20 do 60 % nie wpłynęło znacząco na stopień przyrostu masy suchej substancji w odwadnianej dyni (rys. 4). W przypadku roztworu glukozy wzrost stężenia do 60 % wyraźnie wpłynął na przyrost

masy suchej substancji. Po 180 min prowadzenia procesu przyrost masy w próbkach odwadnianych w roztworze glukozy o stężeniu 20 % wyniósł 0,13 g/g p.s.s., a przy użyciu roztworu o stężeniu 60 % był ponad pięciokrotnie wyższy.



Rys. 3. Wpływ rodzaju i stężenia substancji osmotycznej na ubytek wody (Wu) z odwadnianej osmotycznie dyni.

Fig. 3. Effect of kind and concentration of osmotic solution on water loss (Wu) in osmodehydrated pumpkin.



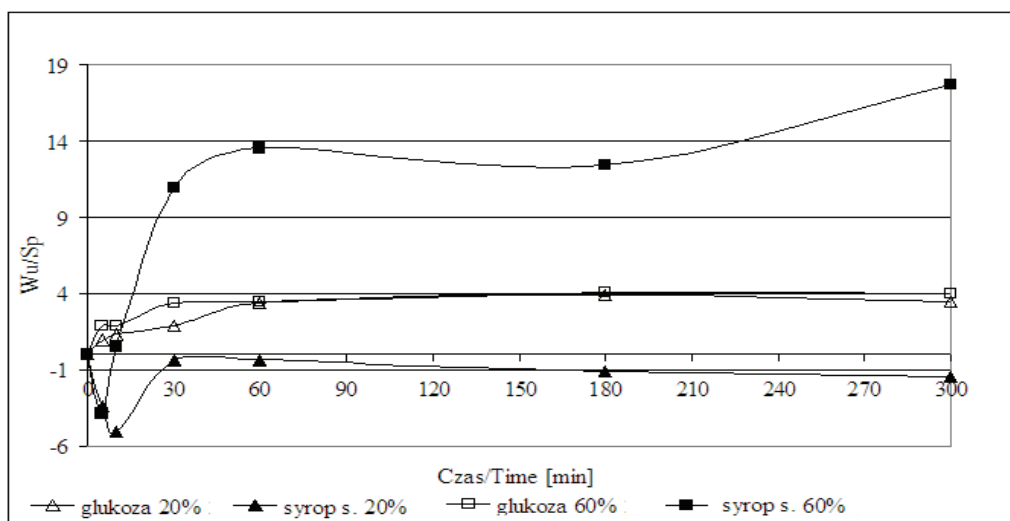
Rys. 4. Wpływ rodzaju i stężenia substancji osmotycznej na przyrost masy suchej substancji (Sp) w odwadnianej osmotycznie dyni.

Fig. 4. Effect of kind and concentration of osmotic solution on solid gain (Sp) in osmodehydrated pumpkin.



Iloraz ubytku wody i przyrostu masy suchej substancji ( $Wu/Sp$ ) jest jednym ze wskaźników stosowanych do oceny efektywności odwadniania osmotycznego. Pożądane jest, aby dochodziło do dużego zmniejszenia zawartości wody przy niewielkim wnikaniu substancji osmotycznej. Wysokie wartości tego współczynnika wskazują na dobrą efektywność procesu odwadniania [11].

Najlepszą efektywność odwadniania osmotycznego uzyskano przy użyciu roztworu syropu skrobiowego o stężeniu 60 %, a najmniej efektywnie przebiegał proces przy zastosowaniu roztworu syropu skrobiowego o stężeniu 20 % (rys. 5). Po upływie 60 min wartość ilorazu  $Wu/Sp$  w przypadku próbek odwadnianych w roztworze syropu skrobiowego wynosiła -0,4 przy stężenia 20 %, a przy stężeniu 60 % – 13,6. W odniesieniu do roztworów glukozy wartości tego wskaźnika były pośrednie i utrzymywały się na poziomie ok. 4. W przypadku roztworów glukozy nie zaobserwowano wpływu stężenia na wartości ilorazu  $Wu/Sp$ .



Rys. 5. Wpływ rodzaju i stężenia substancji osmotycznej na stosunek  $Wu/Sp$  w odwadnianej osmotycznie dyni.

Fig. 5. Effect of kind and concentration of osmotic solution on ratio  $Wu/Sp$  in osmodehydrated pumpkin.

Wyniki wskazują, że przebieg procesu odwadniania osmotycznego dyni zależał od rodzaju i stężenia substancji osmotycznej. Marani i wsp. [8] badali wpływ zastosowania cukrów o różnych masach cząsteczkowych, jako substancji osmotycznych, na proces odwadniania kiwi, brzoskwiń i truskawek. Zauważyli, że przyrost masy jest znacząco większy przy użyciu glukozy w porównaniu z fruktozą, sacharozą i cukrami o dużej masie cząsteczkowej. Zalecają stosowanie jako substancji osmotycznych sa-

charozy i cukrów o dużej masie cząsteczkowej, gdyż powodują one duży stopień odwodnienia przy niewielkim wnikaniu substancji osmotycznej. Wpływem rodzaju substancji osmotycznej na przebieg odwadniania osmotycznego zajmowali się m.in. Kowalska i Lenart [1], którzy odwadniali jabłka oraz Kowalska i wsp. [3] odwadniając dynię. Podobnie uzyskali oni lepszą efektywność procesu przy użyciu syropu skrobiowego w porównaniu z sacharozą czy glukozą.

Wraz ze wzrostem stężenia roztworu syropu skrobiowego zwiększała się efektywność procesu. Podobną zależność uzyskali Mayor i wsp. [9], którzy odwadniali dynię w roztworze chlorku sodu w zakresie stężeń 5 – 15 % w temperaturze 25 °C. Z kolei Sereno i wsp. [15] odwadniali jabłka w roztworze sacharozy w zakresie stężeń 40 - 60 %. Wykazali oni, że ubytki wody oraz przyrosty masy suchej substancji rosły wraz ze wzrostem stężenia roztworu osmotycznego.

### **Wnioski**

1. Rodzaj badanej substancji osmotycznej (glukoza, skrobia) oraz zmiany jej stężenia w roztworach z 20 do 60 % wpływały na kinetykę odwadniania osmotycznego dyni.
2. Odwadnianie osmotyczne dyni w roztworze glukozy przebiegało korzystniej pod względem uzyskanych wartości ubytków wody w porównaniu z zastosowaniem roztworu syropu skrobiowego.
3. Wartości przyrostu masy suchej substancji w dyni odwadnianej w roztworach o stężeniu 60 % były ponad pięciokrotnie większe w próbkach odwadnianych w roztworze glukozy w porównaniu z roztworem syropu skrobiowego
4. Przy użyciu roztworów o stężeniu 60 % lepszą efektywność procesu uzyskano w przypadku roztworu syropu skrobiowego, a przy stężeniu 20 % w odniesieniu do roztworu glukozy. W przypadku roztworu glukozy nie odnotowano wpływu stężenia na efektywność odwadniania osmotycznego.

*Praca była prezentowana podczas I Sympozjum Żywności z okazji 30-lecia powołania specjalizacji Inżynieria Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW, Warszawa, 5 - 6 czerwca 2008 r.*

### **Literatura**

- [1] Kowalska H., Lenart A.: Ruch wody i substancji rozpuszczonych w jabłkach odwadnianych osmotycznie. ACTA Technica Agraria, 2003, **2** (1), 13-22.
- [2] Kowalska H., Lenart A.: Znaczenie wymiany masy w tworzeniu żywności nowej generacji. Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, 2003, **2**, 13-17.
- [3] Kowalska H., Lenart A., Leszczyk D.: The effect of blanching and freezing on osmotic dehydration of pumpkin. J. Food Eng., 2008, **86**, 30-38.


- [4] Kowalska H.: Kinetyka osmotycznego odwadniania dyni. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47), 134-142.
- [5] Lazarides H.N., Katsanidis E., Nicolaidis A.: Mass transfer kinetics during osmotic pre-concentration aiming at minimal solid uptake. *J. Food Eng.*, 1995, **25**, 151-165.
- [6] Lenart A., Lewicki P.P.: Owoce i warzywa utwalone sposobem osmotyczno owiewowym. *Przem. Spoż.*, 1996, **8**, 70-72.
- [7] Lenart A.: Osmotyczne odwadnianie jako obróbka wstępna przed suszeniem konwekcyjnym owoców i warzyw. *Przem. Spoż.*, 1990, **12**, 307-309.
- [8] Marani C.M., Agnelli M.E., Mascheroni R.H.: Osmo-frozen fruits: mass transfer and quality evaluation 2007, **79**, 1122-1130.
- [9] Mayor L., Moreira R., Chenlo F., Sereno A.M.: Kinetics of osmotic dehydration of pumpkin with sodium chloride solution. *J. Food Eng.*, 2006, **74**, 253-262.
- [10] Moreira R., Chenlo F., Pereira G.: Viscosities of ternary aqueous solutions with glucose and sodium chloride employed in osmotic dehydration operation. *J. Food Eng.*, 2003, **57**, 173-177.
- [11] Niewczas J., Szweda D., Mitek M.: Zawartość wybranych składników prozdrowotnych w owocach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2** (43) Supl., 147-154.
- [12] Ogonek A., Lenart A.: Wpływ selektywnych powłok jadalnych na odwadnianie osmotyczne truszkawek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **3** (28), 62-74.
- [13] Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S., Niranjana K., Knorr D.: Recent developments in osmotic dehydration: methods to enhance mass transfer. *Trends Food Sci. Technol.*, 2002, **13**, 48-59.
- [14] Seo J.S., Burri B.J., Quan Z., Neidlinger T.R.: Extraction and chromatography of carotenoids from pumpkin. *J. Chrom.*, 2005, **1073**, 371-375.
- [15] Sereno A.M., Moreira M., Martinez E.: Mass transfer coefficients during osmotic dehydration of apple in single and combined aqueous solution of sugar and salt. *J. Food Eng.*, 2001, **47**, 43-49.
- [16] Torreggiani D.: Osmotic dehydration in fruits and vegetable processing. *Food Res. Int.*, 1993, **26**, 59-68.

#### EFFECT OF KIND AND CONCENTRATION OF OSMOTIC SOLUTION ON THE KINETICS OF OSMOTIC DEHYDRATION OF PUMPKIN

##### Summary

The objective of this paper was an attempt to explain a phenomenon occurring during the osmotic dehydration of pumpkin in a solution of glucose and starch syrup. The effect was determined of the kind of osmotic substance (glucose, starch syrup) and the concentration (20 and 60 %) of its solution on the kinetics of osmotic dehydration of pumpkin. The dehydration process was carried out at a raw substance/osmotic solution ratio of 1:4 during a period from 0 to 300 min. In order to describe the process, the following parameters were calculated: water content, water loss, solid gain, and water loss/solid gain ratio.

The results obtained show that both the kind of osmotic substance and the changes in its concentration from 20 to 60 % in the solutions impact the kinetics of osmotic dehydration of pumpkin. With the 60 % solutions applied, the effectiveness of the process was higher for the starch syrup solution, and with the 20 % solutions – for the glucose solution.

**Key words:** osmotic dehydration, mass exchange, pumpkin 

EWA OSTROWSKA-LIGĘZA, MAGDALENA WIRKOWSKA,  
BOLESŁAW KOWALSKI

## TERMOKINETYCZNA ANALIZA TŁUSZCZU Z KUKURYDZY Z WYKORZYSTANIEM RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ

### Streszczenie

DSC, czyli różnicowa kalorymetria skaningowa jest jedną z metod termooanalitycznych, pozwalającą na oznaczenie parametrów utleniania bez udziału środków chemicznych. Celem pracy było określenie parametrów termokinetycznych tłuszczu wyekstrahowanego z ziaren kukurydzy, a także zbadanie stabilności oksydacyjnej z wykorzystaniem testu różnicowej kalorymetrii skaningowej. Badania przeprowadzono, wykorzystując dynamiczną opcję pracy aparatu, stosując następujące szybkości ogrzewania próbek: 4 K/min, 5 K/min, 7,5 K/min, 10 K/min, 12,5 K/min, 15 K/min. Wartości energii aktywacji i współczynnika przedpotęgowego  $Z$  wyznaczono, wykorzystując metodę Ozawy-Flynn-Walla.

Tłuszcz kukurydziany charakteryzuje się wysoką stabilnością oksydacyjną i wysokimi wartościami temperatur rozpoczęcia procesu utleniania. Wartość energii aktywacji temperatury maksymalnej jest niższa niż temperatury onset. Podobną prawidłowość zaobserwowano w przypadku wartości współczynnika przedpotęgowego  $Z$ .

**Słowa kluczowe:** DSC, energia aktywacji, kukurydza, stabilność oksydacyjna

### Wprowadzenie

Bardzo ważnym wskaźnikiem jakościowym olejów i tłuszczów jadalnych jest stabilność oksydacyjna. Często jest to czynnik determinujący przydatność produktów do celów spożywczych, które zawierają także małe ilości tłuszczu. Wyróżnik ten stał się w ostatnich latach szczególnie istotny ze względu na udokumentowanie przez licznych naukowców wpływu tworzących się rodników w powstawanie groźnych chorób nowotworowych i miażdżycowych. Liczba metod oznaczania stabilności olejów jadalnych, ich odporności na utlenianie stale rośnie i ulega nowym modyfikacjom [4].

Typowym przykładem procesu oznaczania czasu indukcji jest proces utleniania w fazie skondensowanego materiału [21]. Stabilność oksydacyjna jest to czas pomiędzy osiągnięciem przez próbkę temperatury pomiaru a gwałtownym wzrostem produkcji nadtlenków. Stabilność oksydacyjną wyraża się w godzinach [1, 22]. Jednakże w praktyce rzadko występują warunki izotermiczne, a większość materiałów jest wrażliwa na podwyższoną temperaturę [21].

DSC, czyli różnicowa kalorymetria skaningowa (Differential Scanning Calorimetry), jest jedną z metod termoanalitycznych, pozwalającą na oznaczenie parametrów utleniania bez udziału środków chemicznych. Polega ona na rejestracji efektów cieplnych zachodzących w badanej próbce, w porównaniu z próbką wzorcową znajdującą się w tych samych warunkach (w tej samej temperaturze) co próbka badana. Mogą być stosowane dwa rozwiązania metodyczne: badania izotermiczne i politermiczne. W badaniach izotermicznych próbka utrzymywana jest w stałej temperaturze – zwykle z zakresu od 100 do 150 °C (283,15 do 423,15 K). Rejestrowany jest przepływ ciepła od/do próbki w funkcji czasu. Parametrami charakteryzującymi są początek utleniania lub maksimum piku egzotermu utleniania. W badaniach politermicznych, umieszczoną w kalorymetrze DSC, próbkę otoczoną przez powietrze lub tlen ogrzewa się w liniowo zaprogramowany sposób wzrostu temperatury. Parametrami charakteryzującymi jest przepływ ciepła w funkcji temperatury lub maksymalnej szybkości wydzielania ciepła utleniania. Efekty cieplne są wyznaczone względem próbki wzorcowej, w której w danym zakresie temperatur nie zaszły żadne przemiany termiczne. Często jako próbkę wzorcową stosuje się puste naczynko aluminiowe identyczne z naczynkiem, w którym umieszcza się próbkę. Ciągły zapis ciepła przepływającego od lub do próbki w danym zakresie temperatur pozwala wykreślić linię zmian termicznych zachodzących w próbce [8, 12, 24].

Giuffrida i wsp. badali różne oleje roślinne (słonecznikowy, słonecznikowy wzbogacony, palmowy uwodorniony, nienasycone kwasy tłuszczowe) wykorzystując DSC i ESR (elektronowa, spinowa spektroskopia rezonansowa). Oznaczyli oni stabilność oksydacyjną poszczególnych tłuszczów z dodatkami antyutleniaczy. Termogramy DSC były wyznaczone dwoma metodami: dynamiczną (szybkość ogrzewania 2 i 5 K/min i izotermiczną w zakresach temperatur od 120 do 160 °C (393,15 do 433,15 K). Obydwie techniki DSC i ESR są metodami równorzędnymi w oznaczaniu stabilności oksydacyjnej tłuszczów [5].

Thurgood i wsp. [23] badali mieszaniny oleju sojowego i odwodnionego tłuszczu mlecznego, wykorzystując DSC. Posługiwali się metodą dynamiczną, badając odpowiednie mieszaniny przy różnych szybkościach ogrzewania 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 i 12,5 K/min. Stosując metodę Ozawa–Flynn–Wall określili energię aktywacji, współczynnik przedpotęgowy i stałą szybkości reakcji dla poszczególnych mieszanin.

Celem pracy było określenie parametrów termokinetycznych tłuszczu wyekstrahowanego z ziaren kukurydzy, a także zbadanie stabilności oksydatywnej z wykorzystaniem testu różnicowej kalorymetrii skaningowej.

### Material i metody badań

Przedmiotem badań był tłuszcz wyekstrahowany ze świeżych, całych ziaren kukurydzy, które pochodziły z Centrali Nasiennej w Warszawie. Na podstawie danych literaturowych [6, 8] ustalono warunki wykonywania doświadczenia. W tłuszczu wyekstrahowanym heksanem na zimno oznaczano: liczbę kwasową metodą miareczkową [20], liczbę nadtlenkową metodą miareczkową [18], zawartość frakcji polarnej metodą chromatografii kolumnowej (długość kolumny 45 cm, średnica wewnętrzna 2 cm, faza stała Silica gel 60 firmy Merck – wielkość ziaren 0,063 - 0,200 mm tj. 70 - 230 mesh ASTM) [19] Każde oznaczenie wykonywano w dwóch równoległych powtórzeniach. W przeprowadzonych badaniach utleniano tłuszcz tlenem (przepływ tlenu nad próbką wynosił około 6 dm<sup>3</sup>/min). Stosowano aparat firmy Mettler Toledo DSC 1/700/113. Aparat został skalibrowany przy użyciu czystego indu. Badania przeprowadzano, wykorzystując dynamiczną opcję pracy aparatu, stosując następujące szybkości ogrzewania próbek: 4 K/min, 5 K/min, 7,5 K/min, 10 K/min, 12,5 K/min, 15 K/min. Masa próbek użytych do badania wynosiła około 3 - 4 mg. Właściwe pomiary kalorymetryczne obejmowały umieszczenie aluminiowego naczynka z próbką badanego tłuszczu oraz pustego naczynka wzorcowego na odpowiednich stanowiskach platformy grzewczej w komorze kalorymetru. Rejestrowano powtarzalne parametry: temperaturę ekstrapolowanego początku utleniania – temperatura onset ( $T_{on}$ ) oraz maksymalną temperaturę utleniania, odpowiadającą wartości maksimum piku ( $T_{max}$ ). Na podstawie tych wartości oraz wartości  $\beta$  i  $1/T_{max}$  lub  $1/T_{on}$  uzyskano liniową korelację. Jeżeli szybkość ogrzewania  $\beta$  wzrasta w sposób liniowy tzn.  $\beta = dT/dt = \text{constans}$ , wtedy do wyznaczenia energii aktywacji  $E_a$  wykorzystuje się charakterystyczne wartości temperatury przemiany ( $T_{on}$  – onset,  $T_{max}$  – maksimum), wyznaczonych przy użyciu metody DSC i skorelowanych liniowo dla serii pomiarów przeprowadzonych w kilku szybkościach ogrzewania  $\beta$  z zakresu 4 - 20 K/min. Szczegóły postępowania publikowane są także w innych pracach [6, 10]. Wartości energii aktywacji i współczynnika przedpotęgowego  $Z$  wyznaczano wykorzystując metodę Ozawy-Flynn-Walla [3, 16]. W metodzie tej wyznaczana jest temperatura  $T_{on}$ , w której układ osiąga stały stopień przereagowania (jest to temperatura ekstrapolowanego początku utleniania) bądź  $T_{max}$  (temperatura maksimum wydzielania ciepła). Z szeregu eksperymentów, stosując różne szybkości ogrzewania, otrzymuje się serię wartości  $T_{on}$  i  $T_{max}$ .

W wyizolowanym tłuszczu określano również skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej [17], stosując aparat firmy Shimadzu GC 17A, wyposażony

w kolumnę kapilarną wypełnioną fazą stacjonarną BPX 70 o dł. 30 m,  $\varnothing$  wewnętrznej 0,22 mm i grubości filmu 0,25  $\mu\text{m}$ , jako gaz nośny stosowano azot. Warunki rozdziału estrów metylowych kwasów tłuszczowych: temp. początkowa 60 °C przez 1 min; przyrost temp. od 60 do 170 °C w tempie 10 °C/min; przyrost temp. od 170 do 230 °C w tempie 3 °C/min; temp. końcowa 230 °C przez 15 min; temp. injektora 225 °C, temp. detektora 250 °C, całkowity czas analizy 47 min. Na podstawie oznaczeń liczby kwasowej, zawartości frakcji polarnej i składu kwasów tłuszczowych obliczano zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (FFA).

### Wyniki i dyskusja

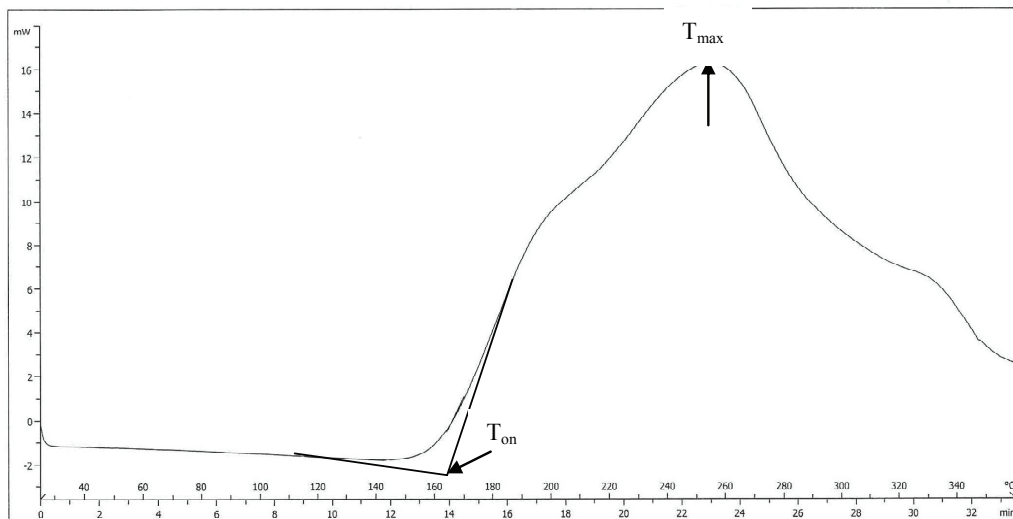
Tłuszcze są wieloskładnikową mieszaniną różnych lipidów, wśród których największy udział stanowią triacyloglicerole (ponad 90 %). Poza triacyloglicerolami w tłuszczach występują również mono- i diacyloglicerole oraz wolne kwasy tłuszczowe, a także inne związki o różnym charakterze chemicznym (między innymi: chlorofile, karotenoidy, aldehydy, ketony, węglowodory, woski, sterole, przeciwutleniacze, witaminy). Obecność wolnych kwasów tłuszczowych i niepełnych acylogliceroli jest najczęściej efektem lipolitycznego działania różnych enzymów [2].

Istnieje związek pomiędzy zawartością wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) i zawartością frakcji polarnej (FP). Związane jest to z obecnością wolnych kwasów tłuszczowych w składzie oznaczonych frakcji polarnych. W skład frakcji polarnej wchodzi bowiem mono- i diacyloglicerole, a także wolne kwasy tłuszczowe. Zawartość FFA w tłuszczu wyekstrahowanym ze świeżych ziaren kukurydzy wynosiła 5,99 %, natomiast frakcji polarnej 6,88 %. Oznaczono również liczbę nadtlenkową (LOO). Zawartość pierwotnych produktów utleniania kształtowała się na poziomie 3,96 mmol O<sub>2</sub>/kg.

Tłuszcz wyekstrahowany ze świeżych ziaren kukurydzy poddano ocenie stabilności oksydatywnej za pomocą testu różnicowej kalorymetrii skaningowej. Przykładowy termogram utleniania zamieszczono na rys. 1.

Rejestrowano powtarzalne parametry: temperaturę ekstrapolowanego początku utleniania ( $T_{\text{on}}$ ) oraz maksymalnej temperatury utleniania, odpowiadającej maksimum piku ( $T_{\text{max}}$ ). Uzyskane wartości zestawiono w tab. 1.





Rys. 1. Termogram DSC termoutleniającego rozkładu tłuszczu wyizolowanego z kukurydzy, szybkość ogrzewania 10 K/min.

Fig. 1. DSC Thermogram of thermal-oxidative decomposition of fat isolated from corn; heating rate: 10 K/min.

Tabela 1

Dane DSC  $T_{on}$  i  $T_{max}$  zmierzone przy sześciu szybkościach ogrzewania w procesach termoutleniania tłuszczów wyizolowanych z ziaren kukurydzy.

The parameters: DSC  $T_{on}$  and  $T_{max}$  as measured at six heating rates in the processes of thermo-oxidating fats isolated from corn grains.

Rodzaj tłuszczu Type of fat	Szybkość ogrzewania Heating rates [K/min]	$T_{on}$		$T_{max}$	
		[°C]	[K]	[°C]	[K]
Z ziaren kukurydzy From corn grains	4	149,36	422,51	216,93	490,08
	5	154,17	427,32	225,85	499,00
	7,5	158,01	431,16	239,70	512,85
	10	161,63	434,63	258,49	531,64
	12,5	164,05	437,20	268,66	541,81
	15	168,48	441,63	275,89	549,04

Jeżeli w ustalonych warunkach analizy szybkość ogrzewania układu była stała, to wymienione wartości temperatury były charakterystyczne dla danego układu doświadczalnego i mogły być w przypadku tłuszczów wykorzystane jako parametry różnicujące.

ce odporność tłuszczów na rozkład termoutleniający. Odporność ta, określana jako stabilność termoutleniająca, wzrastała ze wzrostem  $T_{on}$  i  $T_{max}$ . Szczególnie ważne są wartości  $T_{on}$ , których wyznaczenie może być przyspieszonym testem, zastępującym lub lepiej uzupełniającym oznaczenia normatywne (liczby: kwasowa, nadtlenkowa, anizydynowa) lub ich kombinacje, np. wartość Totox [8]. Zmieniając szybkość ogrzewania otrzymuje się inne wartości  $T_{on}$  i  $T_{max}$ .

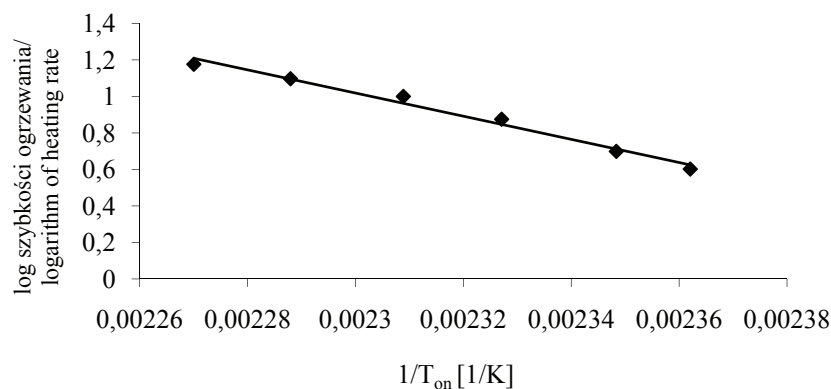
Wyniki uzyskane w teście DSC uwiaryściły wpływ szybkości ogrzewania próbek na wartości temperatury  $T_{on}$  i  $T_{max}$ . Wraz ze wzrostem szybkości ogrzewania rosła wartość temperatury rozpoczęcia procesu utleniania oraz temperatury maksymalnej utleniania. W badaniach przeprowadzonych przez Litwinienkę [11] temperatura rozpoczęcia procesu utleniania oleju kukurydzianego zmierzona przy szybkości ogrzewania 10 K/min kształtowała się na poziomie 129,35 - 148,25 °C (402,50 - 421,4 K). Wartości temperatury określone w niniejszej pracy, przy szybkości ogrzewania 10 K/min, były znacznie wyższe. Pomimo, że lipidy kukurydzy zawierały w składzie więcej kwasów nienasyconych, bardziej podatnych na utlenianie (85,46 %) (tab. 2), to temperatura rozpoczęcia procesu i temperatura maksymalnego utleniania kształtowały się na stosunkowo wysokim poziomie. Nie tylko skład kwasów tłuszczowych decydował o odporności tłuszczu na utlenianie. Duże znaczenie miała jakość i ilość frakcji nietriacyloglicerolowej. Obecne w tej frakcji tokoferole i karoteny wykazywały działanie przeciwutleniające, natomiast wolne kwasy tłuszczowe i niepełne acyloglicerole mogły obniżać stabilność oksydacyjną produktu [15, 25].

Tabela 2

Skład kwasów tłuszczowych tłuszczu wyizolowanego z ziaren kukurydzy.  
Fatty acids composition in fat isolated from corn grains.

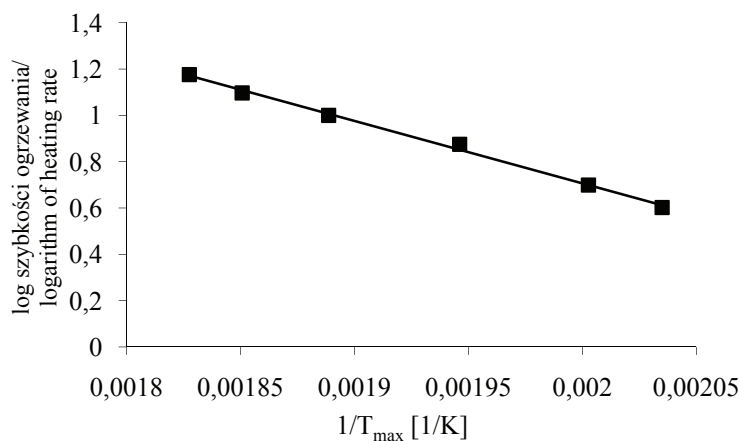
Kwas tłuszczowy Fatty acid	Procentowy udział poszczególnych kwasów ± odchylenie standardowe Per cent content of individual fatty acids ± standard deviation
14:0	<b>0,06 ± 0,01</b>
16:0	12,03 ± 0,03
16:1	0,14 ± 0,02
18:0	<b>2,38 ± 0,04</b>
18:1cis	<b>30,10 ± 0,05</b>
18:2cis	<b>53,56 ± 0,05</b>
18:3	1,17 ± 0,03
20:1	0,41 ± 0,02
22:1	0,11 ± 0,01
20:4	0,11 ± 0,01

Na podstawie uzyskanych wartości temperatury onset i maksimum tłuszczu wyekstrahowanego z ziaren kukurydzy, a także na podstawie szybkości ogrzewania sporządzono wykresy logarytmu szybkości ogrzewania od odwrotności uzyskanych temperatur absolutnych  $T_{on}$  oraz  $T_{max}$ . Zależności te przedstawiono na rys. 2 i 3.



Rys. 2. Temperaturowe przesunięcie onset (początku procesu utleniania) DSC w zależności od logarytmu szybkości ogrzewania termoutleniającego rozkładu tłuszczu z kukurydzy.

Fig. 2. Temperature shift at the onset (of the oxidation process) of DSC curves depending on the logarithm of heating rate of the thermo-oxidative decomposition of corn fat.



Rys. 3. Temperaturowe przesunięcie maximum piku DSC w zależności od logarytmu szybkości ogrzewania termoutleniającego rozkładu tłuszczu z kukurydzy.

Fig. 3. Temperature shift of peak maximum of DSC curves depending on the logarithm of heating rate of the thermo-oxidative decomposition of corn fat.

Zależności, które przedstawiono na rys. 2. i 3. można opisać równaniem regresji typu:

$$\log \beta = a(1/T_{\text{on}} \text{ lub } 1/T_{\text{max}}) + b \quad (1)$$

gdzie:  $\beta$  – szybkość ogrzewania,  $a$  – współczynnik kierunkowy prostej,  $b$  – współczynnik przesunięcia prostej.

Badanie termostabilności i termoutleniania tłuszczów jest ważnym problemem o znaczeniu teoretycznym i praktycznym. Parametry kinetyczne procesu rozkładu termoutleniającego obliczono, uwzględniając założenie, że ilość wydzielanej energii w danym czasie jest proporcjonalna do ilości zużytych reagentów. W ustalonych warunkach inicjacji reakcje utleniania tłuszczów, zachodzące w nadmiarze tlenu, były reakcjami pierwszego rzędu [7, 8]. Kinetyczne parametry procesu termoutleniania można opisać równaniem Arrheniusa:

$$k = Z \exp(-E_a/RT) \quad (2)$$

gdzie:  $Z$  – współczynnik przedpotęgowy,  $E_a$  – energia aktywacji,  $R$  – stała gazowa,  $T$  – temperatura absolutna.

Jeżeli temperatura maksymalna wzrasta w sposób liniowy, tak jak współczynnik ciepła, wtedy do wyznaczenia energii aktywacji  $E_a$  i współczynnika przedpotęgowego  $Z$  można użyć metody OFW (Ozawa–Flynn–Wall) [3, 12, 16]. Przez wykorzystanie temperatur stałych przemiany ( $T_{\text{max}}$  maksimum,  $T_{\text{on}}$  onset), wyznaczonych przy użyciu metody DSC, oblicza się przybliżoną wartość energii aktywacji:

$$E_a = -2,19 R \frac{d \log \beta}{d(1/T)} \quad (3)$$

Wartość współczynnika przedpotęgowego  $Z$  z równania Arrheniusa obliczono z zależności:

$$Z = \frac{\beta E e^{\frac{E}{RT}}}{RT^2} \quad (4)$$

Rejestracja wydzielonego ciepła pozwalała na śledzenie postępu reakcji, a uzyskiwane dane energetyczne mogły być wykorzystane do wyznaczenia kinetyki procesu [7, 24].

Wartości  $a$  i  $b$  wyznaczono metodą regresji liniowej, natomiast wartości energii aktywacji i współczynnika przedpotęgowego obliczono wykorzystując równania (3) i (4). Uzyskane wyniki zestawiono w tab. 3. Wysokie współczynniki determinacji wykazują, że otrzymane linie trendu pokrywają się prawie w 100 % z punktami otrzymanymi podczas badań. Równie wysoki współczynnik determinacji uzyskali w badaniach Kowalski [8, 9], Litwinienko [11] oraz Kasprzycka-Guttman i wsp. [6].

Tabela 3

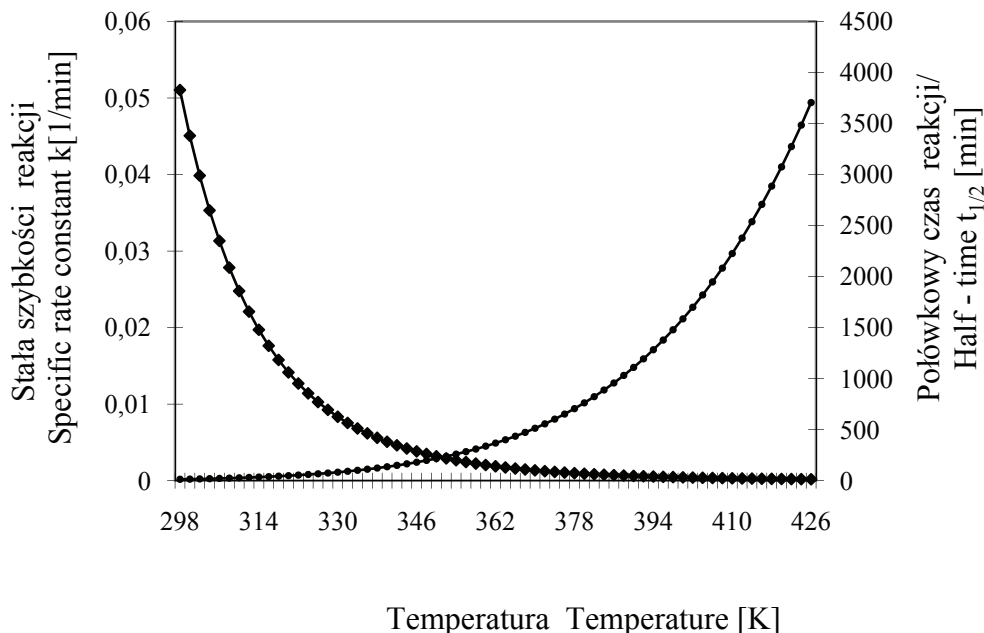
Statystyczne i kinetyczne parametry charakteryzujące termoutleniający rozkład tłuszczu z kukurydzy.  
Statistical and kinetic parameters characterizing the thermal-oxidative decomposition of corn fat.

Parametr Parameter	Wartość liczona z $T_{on}$ $T_{on}$ -based calculated value	Wartość liczona z $T_{max}$ $T_{max}$ -based calculated value
A	- 6341,0	- 2695,3
B	15,6	6,1
$R^2$	0,98	0,99
Energia aktywacji Activation energy $E_a$ [kJ/mol]	109,84	46,25
Współczynnik przedpotęgowy Z ' Z ' - Pre-exponential factor	$1,14 \cdot 10^{13}$	$2,31 \cdot 10^4$

Energia aktywacji obliczona przy uzyskaniu temperatury onset miała dużo wyższą wartość niż przy uzyskaniu temperatury maksymalnej, podobną prawidłowość wykazywały też współczynniki przedpotęgowe. Kowalski [8], w badaniach oleju kukurydzianego przy użyciu metody PDSC (ciśnieniowa różnicowa kalorymetria skaninowa), podaje wartość energii aktywacji, przy uzyskaniu temperatury maksymalnej, 98,6 kJ/mol. W niniejszej pracy badano tłuszcz kukurydziany wyekstrahowany bezpośrednio z ziaren kukurydzy, stąd tak duża różnica w podanych wartościach. Litwinienko, Daniluk i Kasprzycka-Guttman [13, 14] badali nasycone i nienasycone kwasy tłuszczowe (np. laurynowy, palmitynowy, oleinowy, linolenowy) oraz ich estry. Energia aktywacji obliczona przy uzyskaniu temperatury onset miała wyższą wartość niż przy uzyskaniu temperatury maksymalnej. Na przykład energia aktywacji kwasu laurynowego wynosiła przy uzyskaniu  $T_{on}$  118,7 kJ/mol, natomiast przy uzyskaniu  $T_{max}$  80,2 kJ/mol; natomiast kwasu oleinowego odpowiednio 88,4 i 74,5 kJ/mol. Różnice pomiędzy wartościami energii aktywacji przy uzyskaniu temperatury rozpoczęcia procesu termoutleniania ( $T_{on}$ ) i temperatury maksymalnej ( $T_{max}$ ) mogły wynikać z mechanizmu reakcji autooksydacji. W procesach inicjacji i propagacji zaczynają tworzyć się pierwsze produkty autooksydacji i potrzebny jest duży wydatek energetyczny [13].

Po uzyskaniu wartości  $E_a$  i Z wyliczono stałe szybkości reakcji  $k$ , wykorzystując równanie (2) oraz połówkowe czasy reakcji  $t_{1/2}$  odnoszące się do danego zakresu temperatur. Wyniki przedstawiono na rys. 4. Połówkowy czas reakcji obliczono w przypadku każdego  $k$  z równania (5):

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (5)$$



Rys. 4. Wykres zmian stałej szybkości reakcji ( $k$ ) i połówkowego czasu reakcji ( $t_{1/2}$ ) od temperatury termoutleniającego rozkładu tłuszczu z kukurydzy.

Fig. 4. Diagram of changes in ( $k$ ) specific rate constant and in ( $t_{1/2}$ ) half – time depending on the temperature of thermal-oxidative decomposition of corn fat.

Stała szybkości reakcji  $k$  przy uzyskaniu temperatury  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $373,15\text{ K}$ ) wynosi  $7,71 \cdot 10^{-3}\text{ 1/min}$ . Kowalski [6], badając olej kukurydziany otrzymał  $k$  na poziomie  $7,85 \cdot 10^{-3}\text{ 1/min}$ ,  $k$  oleju rzepakowego wyniosło  $1,04 \cdot 10^{-2}\text{ 1/min}$ , oleju słonecznikowego  $1,98 \cdot 10^{-2}\text{ 1/min}$ .

Wartości  $k$  świadczą o tym, że utlenianie tłuszczu wyekstrahowanego z kukurydzy jest reakcją pierwszego rzędu. Metoda DSC rejestruje wypadkowy efekt energetyczny, eksperymenty przeprowadzono celowo w wysokiej temperaturze.

### Wnioski

1. Tłuszcz otrzymany z kukurydzy charakteryzuje się bardzo wysokimi wartościami energii aktywacji i wysokimi wartościami współczynnika przedpotęgowego  $Z$  przy uzyskaniu temperatury onset, czyli temperatury początkowej procesu utleniania.
2. Wartość energii aktywacji przy uzyskaniu temperatury maksymalnej jest niższa niż przy uzyskaniu temperatury onset. Podobną prawidłowość zaobserwowano przy wartości współczynnika przedpotęgowego  $Z$ .

3. Pomimo, że tłuszcz kukurydziany charakteryzuje się wysoką zawartością kwasów nienasyconych, to temperatury początkowe procesu utleniania (onset) są stosunkowo wysokie i tłuszcz ten charakteryzuje się wysoką stabilnością oksydacyjną.
4. Metoda DSC pozwala na szybkie scharakteryzowanie stabilności oksydacyjnej badanego tłuszczu.

*Praca była prezentowana podczas I Sympozjum Żywności z okazji 30-lecia powołania specjalizacji Inżynieria Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW, Warszawa, 5 - 6 czerwca 2008 r.*

### Literatura

- [1] Coppin E. A., Pike O.A.: Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in light – exposed soy – bean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2001, **47**, 229-230.
- [2] Drozdowski B. Lipidy. W: *Chemia żywności – pod red. Z.E.Sikorskiego*. WNT, Warszawa 2007, 73-142.
- [3] Flynn J.H., Wall L.A.: A quick direct method for determination of activation energy from thermogravimetric data. *J. Polym. Sci. B, Polym. Lett.*, 1966, **4**, 323-328.
- [4] Frankel E.N.: In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in foods lipids. *T. Food Sci. Tech.*, 1993, **4**, 220-225.
- [5] Guiffrida F., Destailats F., Egart M., Hug B., Golay P.-A., Skibsted L., Dionisi F.: Activity and thermal stability of antioxidants by differential scanning calorimetry and electron spin resonance spectroscopy. *Food Chem.*, 2007, **101**, 1108-1114.
- [6] Kasprzycka-Guttman T., Jarosz-Jarszewska M., Litwinienko G.: Specific heats and kinetic parameters of thermo – oxidative decomposition of peanut oil. *Thermochim. Acta*, 1995, **250**, 197-205.
- [7] Kowalski B.: Thermoanalytical investigations of edible oils and fats. I. Kinetics of thermal – oxidative decomposition of rapeseed oil. *Acta Alimen. Pol.*, 1988, **XIV** (2), 195-206.
- [8] Kowalski B.: Termokinetyczna analiza utleniania olejów i tłuszczów jadalnych. Praca habilitacyjna, Wyd. SGGW, Warszawa 1994, ss. 24-59.
- [9] Kowalski B.: Oxidative stabilities of engine oil contaminated by vegetable oil. *Thermochim. Acta*, 1995, **250**, 55-63.
- [10] Kowalski B., Ratusz K., Kowalska D., Bekas W.: Determination of the oxidative stability of vegetable oils by Differential Scanning Calorimetry and Rancimat methods. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2004, **106**, 165-169.
- [11] Litwinienko G.: Autoxidation of unsaturated fatty acids and their esters. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2001, **65**, 639-646.
- [12] Litwinienko G.: Analysis of lipid oxidation by differential scanning calorimetry. In: *Analysis of Lipid Oxidation*, AOCS Press, Champaign, IL, 2005, s. 152-193.
- [13] Litwinienko G., Daniluk A., Kasprzycka-Guttman T.: Study on autoxidation kinetics of fats by differential scanning calorimetry. 1. Saturated C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> fatty acids and their esters. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2000, **39**, 7-12.
- [14] Litwinienko G., Kasprzycka-Guttman T.: Study on autoxidation kinetics of fat components by differential scanning calorimetry. 2. Unsaturated fatty acids and their esters. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2000, **39**, 13-17.

- [15] Małecka M.: Składniki frakcji nietriacyloglicerolowej olejów roślinnych jako przeciwutleniacze. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30 (3)**, 123-130.
- [16] Ozawa T.: Kinetic analysis of derivative curves in thermal analysis. *J. Therm. Anal.*, 1970, **2**, 301-324.
- [17] PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [18] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej.
- [19] PN-EN ISO 8420:1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości związków polarnych.
- [20] PN-ISO 660: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [21] Simon P., Kolman L.: DSC study of oxidation induction periods. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2001, **64**, 813-820.
- [22] Tan C.P., Che Man Y.B., Selamat J., Yusoff M.S.A.: Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. *Food Chem.*, 2002, **76**, 385-389.
- [23] Thurgood J., Ward R., Martini S.: Oxidation kinetics of soybean oil/anhydrous milk fat blends: differential scanning calorimetry study. *Food Res. Intern.*, 2007, **40**, 1030-1037.
- [24] Ulkowski M., Musialik M., Litwinienko G.: Use of differential scanning calorimetry to study lipid oxidation. 1. Oxidative stability of lecithin and linolenic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 9073-9077.
- [25] Wirkowska M., Bryś J., Ratusz K., Kowalski B.: Stabilność przeciwutleniająca lipidów kukurydzy. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47)**, 356-362.

#### THERMO-KINETIC ANALYSIS OF CORN GRAIN FAT USING DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY

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

DSC (Differential Scanning Calorimetry) is one of the thermo-analytical methods, which allow to measure parameters of oxidation with no chemical substances used. The objective of this study was to measure thermo-kinetic parameters of fat extracted from corn grains, as well as to research into oxidative stability by a differential scanning calorimetry test. Whilst carrying out the research, a dynamic option of the apparatus was used, and the following rates of heating the samples were applied: 4 K/min, 5 K/min, 7,5 K/min, 10 K/min, 12,5 K/min, and 15 K/min. The values of activation energy and of pre-exponential factor were calculated by the Ozawa-Flynn-Wall method.

Fat from corn grains is characterized by a high oxidative stability and high starting (onset) temperatures of oxidation process. The value of activation energy at the maximum temperature is lower than at the onset temperature. The same regularity was found in the case of pre-exponential factor.

**Key words:** DSC, activation energy, corn, oxidative stability ☒



AGNIESZKA LATOCH

## WŁAŚCIWOŚCI MIOFIBRYLI SONIFIKOWANEGO MIĘSA WIEPRZOWEGO O OBNIŻONEJ JAKOŚCI

### Streszczenie

Celem badań było określenie zmian właściwości białek miofibrili sonifikowanego mięsa wieprzowego o cechach PSE podczas 96-godzinnej przechowywania. Surowiec badawczy stanowiło mięso wieprzowe (*m. biceps femoris*) wychłodzone do temp. 7 °C, o jasnej barwie i  $\text{pH}_{24} \leq 5,6$ , który pobierano z rzeźni po 24 h od uboju. Mięsień dzielono na 3 części o zbliżonej masie. Jedną stanowiła próba kontrolną (KP), dwie pozostałe sonifikowano falami o częstotliwości 25 kHz (próba UP) i 45 kHz (próba ZP) oraz natężeniu 2 W·cm<sup>-2</sup>. Czas ekspozycji w polu ultradźwiękowym wynosił 2 min. Próby przechowywano w warunkach chłodniczych. Po upływie określonego czasu przechowywania tj. po: 24, 48, 72 i 96 h od uboju w próbach mierzono: indeks fragmentacji miofibrili, ogólną zawartość reaktywnych grup –SH, oraz po 24, 48 i 72 h wyciek termiczny i zdolność wiązania wody przez żele miofibrili.

Stwierdzono, że sonifikacja mięsa wieprzowego o cechach PSE falami o częstotliwości 25 kHz powoduje zmianę kierunku poubojowych przemian biochemicznych białek mięsa skutkujących wzrostem zawartości reaktywnych grup –SH. Obróbka falami o częstotliwości 45 kHz nie różnicowała poziomu zawartości reaktywnych grup –SH i indeksu fragmentacji miofibrili w porównaniu z próbą kontrolną. Nie stwierdzono wpływu sonifikacji mięsa na poziom wycieków termicznych i zdolności utrzymywania wody przez zżelowane homogenaty mięsa. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy zawartością reaktywnych grup –SH i ubytkami termicznymi w próbach sonifikowanych oraz pomiędzy indeksem fragmentacji miofibrili i zdolnością utrzymywania wody przez zżelowane homogenaty mięsa w próbach: kontrolnej i sonifikowanej falami o częstotliwości 45 kHz. Stwierdzono ujemną zależność pomiędzy zawartością reaktywnych grup –SH i ubytkami termicznymi w próbie kontrolnej oraz pomiędzy MFI i ubytkami termicznymi w próbie ZP.

**Słowa kluczowe:** sonifikacja, mięso PSE, MFI, grupy sulfhydrylowe, żele miofibrili

### Wprowadzenie

Występowanie surowca rzeźnego o obniżonej jakości, nazywanego mięsem PSE, może być wynikiem oddziaływania wielu czynników, zarówno przed- jak i poubojowych. Do najistotniejszych zaliczyć można: zmiany w genotypie zwierząt i w warun-

kach chowu, w tym w sposobie żywienia, niewłaściwe postępowanie ze zwierzęciem przed ubojem oraz nieodpowiednie warunki uboju i niewłaściwe wychładzanie póltsz [7, 15]. Mięso PSE cechuje się między innymi jasną barwą, niskim odczynem pH i małą wodochłonnością [22, 23]. Białka miofibrylarne izolowane z tego typu mięsa mają słabsze właściwości funkcjonalne niż białka izolowane z mięsa „normalnego” [3, 24, 26]. Znajomość różnic we właściwościach białek miofibrylarnych mięsa „normalnego” i mięsa PSE może umożliwić stworzenie optymalnych warunków przetwarzania wieprzowiny o obniżonej jakości [21, 27]. Jedną z metod optymalizacji procesu przetwarzania wieprzowiny o obniżonej jakości może być stosowanie obróbki ultradźwiękowej o niskiej częstotliwości i średnim natężeniu drgań. Sonifikacja wpływa na procesy dojrzewalnicze, zwłaszcza na przemiany białek miofibrylarnych po uboju, rozluźnienie struktur między- i wewnątrz włókienkowych oraz uwalnianie jonów wapnia [6, 12, 14, 22, 23].

Celem badań było określenie wpływu niskoczęstotliwościowej sonifikacji mięsa wieprzowego o obniżonej jakości (PSE) w stanie *rigor mortis* na wybrane właściwości miofibryli w aspekcie interakcji białko – woda.

### Material i metody badań

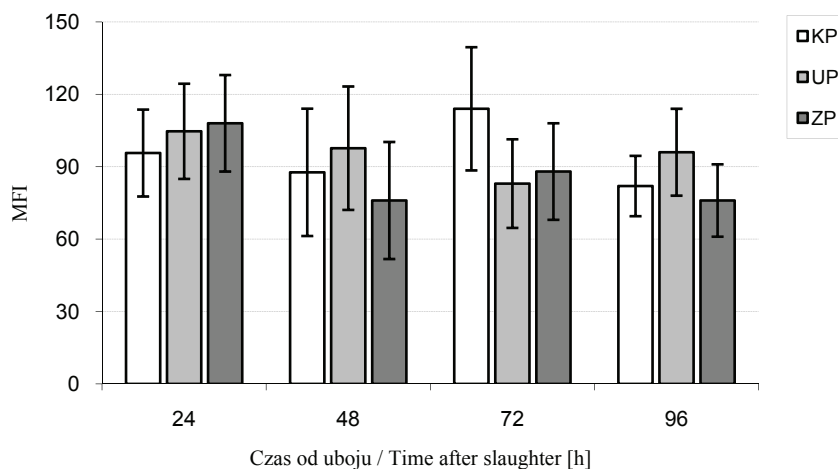
Material badawczy stanowiło mięso wieprzowe (*m. biceps femoris*) pozyskiwane ze świń rasy wielka biała polska o masie 110 - 120 kg. Wychłodzony do temp. 7 °C surowiec pobierano z rzeźni po 24 h od uboju. Do badań wybierano mięśnie o jasnej barwie i  $\text{pH}_{24} \leq 5,6$  [26]. Mięsień dzielono na 3 części o zbliżonej masie. Jedną stanowiła próbę kontrolną (KP), dwie pozostałe sonifikowano falami o częstotliwości 25 kHz (próba UP) i 45 kHz (próba ZP) oraz natężeniu 2 W·cm<sup>-2</sup>. Czas ekspozycji w polu ultradźwiękowym wynosił 2 min. Próby przechowywano w warunkach chłodniczych. Po upływie określonego czasu przechowywania tj. po: 24, 48, 72 i 96 h od uboju, z poszczególnych prób izolowano frakcję białek miofibrylarnych [16] zaś po 24, 48 i 72 h przygotowywano homogenaty mięsa w 0,6 M NaCl (pH = 6,2).

W wyizolowanej frakcji białek miofibrylarnych oznaczono indeks fragmentacji miofibryli (MFI) [10, 17] oraz ogólną zawartość reaktywnych grup –SH (R-SH) [2, 8, 19]. Żele homogenatów mięsa przygotowywano ogrzewając umieszczony w szklanych rurkach homogenat mięsa (w 0,6 M NaCl, 0,1 M bufor fosforanowy, pH = 6,2) od temp. początkowej  $T_p = 20$  °C do osiągnięcia w środku geometrycznym próby  $T_k = 55, 60, 70$  lub  $80$  °C ( $\Delta T = 1$  °C·min<sup>-1</sup>). Zawartość białka w homogenacie wynosiła 6 %. Żele przechowywano w temp. 4 °C przez 18 h. Po tym czasie obliczano ubytki termiczne [25] oraz zdolność wiązania wody przez żele homogenatów mięsa metodą polegającą na oznaczeniu ilości otrzymanego po wirowaniu (1000×g, 15 min) supernatantu w stosunku do masy żelu pobranego do wirowania.

Oznaczenia wykonano w 4 seriach po 3 repliki. Przy wykorzystaniu programu komputerowego Microsoft Excel obliczono wartości średnie ( $\bar{x}$ ), odchylenie standardowe (SD) oraz współczynnik korelacji liniowej Pearsona ( $r$ ) pomiędzy indeksem fragmentacji miofibrili i zawartością reaktywnych grup –SH a wielkością ubytków termicznych i zdolnością utrzymywania wody przez żele homogenatów mięsa.

### Wyniki i dyskusja

Dynamika zmian indeksu fragmentacji miofibrili w próbach KP i ZP była podobna (rys. 1). Po 24 h od uboju wartość MFI wynosiła w próbie KP - 95,67, zaś w próbie ZP – 108, po 48 h obniżyła się odpowiednio do poziomu 87, 67 i 76. W kolejnej dobie badań wzrosła do 114 w próbie KP i do 88 w próbie ZP, następnie po 96 h ponownie obniżyła się do 82 w próbie KP i do 76 w próbie ZP. Inaczej przedstawiała się dynamika zmian indeksu fragmentacji miofibrili w próbie poddanej działaniu ultradźwięków o częstotliwości 25 kHz (UP). Najwyższą wartość MFI w próbie UP odnotowano bezpośrednio po sonifikacji (104,67), najniższą po 72 h od uboju (83). Po upływie 48 i 96 h od uboju wartość badanego parametru kształtowała się na podobnym poziomie i wynosiła około 97.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

KP - próba kontrolna / CS - control sample,

UP - próba sonifikowana falami o częstotliwości 25 kHz / US - sample sonicated at a frequency of 25 kHz,

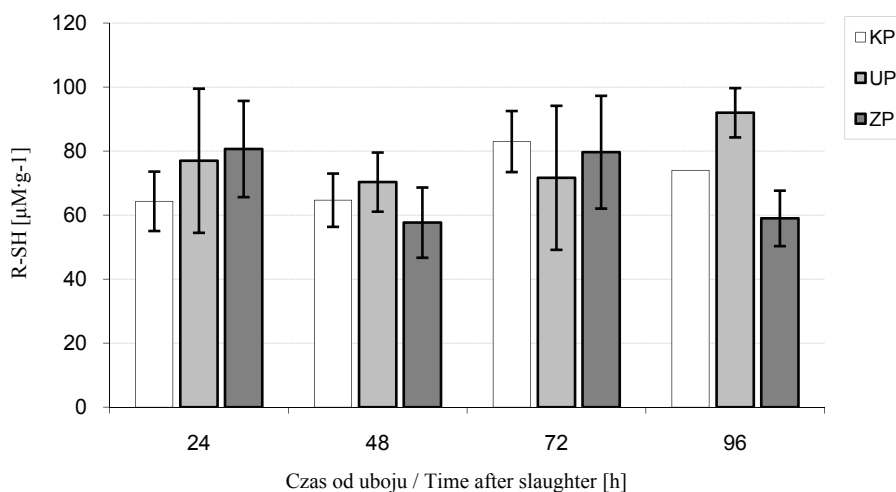
ZP - próba sonifikowana falami o częstotliwości 45 kHz / ZS - sample sonicated at a frequency of 45 kHz.

Rys. 1. Wartość indeksu fragmentacji miofibrili (MFI) sonifikowanego mięsa wieprzowego PSE.

Fig. 1. Value of myofibrillar fragmentation index (MFI) of the PSE pork meat treated by ultrasounds.

Zmiany indeksu fragmentacji miofibrili podczas kilkudniowego dojrzewania wieprzowiny są powodowane przez zmiany strukturalne w dyskach Z skutkujące osłabieniem struktur włókienek mięśniowych, włókien pośrednich i śródmięśniowej tkanki łącznej [1, 20]. Pośmiertna proteoliza, zwłaszcza białek cytoszkieletowych prowadzi do degradacji kompleksowych wiązań miofibrili między sobą i z błoną komórkową [4]. Procesy proteolityczne zachodzące w mięsie bezpośrednio po uboju wpływają na interakcje białko – woda i białko – białko. Oddziaływania te odzwierciedlają strukturalne zależności między elementami miofibrilarnymi i płynami komórkowymi cytoplazmy tkanki mięśniowej [11].

Analizując wyniki badań zawartości reaktywnych grup –SH (R-SH) (rys. 2) stwierdzono, że ich ilość w mięsie wieprzowym PSE wynosiła od 57,70 do 92,00  $\mu\text{M}\cdot\text{g}$  białka<sup>-1</sup>. W próbie UP zawartość R-SH obniżyła się z 77,00  $\mu\text{M}\cdot\text{g}$  białka<sup>-1</sup> po 24 h do 70,33  $\mu\text{M}\cdot\text{g}$  białka<sup>-1</sup> po 48 h od uboju. Największą zawartość R-SH w próbie sonifikowanej drganiami o częstotliwości 25 kHz stwierdzono po 96 h od uboju (92  $\mu\text{M}\cdot\text{g}$  białka<sup>-1</sup>). W próbach KP i ZP, zmiany zawartości R-SH podczas dojrzewania mięsa miały podobny przebieg. Badany parametr miał wyższą wartość po 24 i 72 h niż po 48 h od uboju (rys. 2). Przykładowo w próbie ZP po 24 h od uboju (bezpośrednio po sonifikacji) zawartość R-SH wynosiła 80,67  $\mu\text{M}\cdot\text{g}$  białka<sup>-1</sup>, po 48 h zmniejszyła się do 57,67  $\mu\text{M}\cdot\text{g}$  białka<sup>-1</sup>, następnie wzrosła do 79,67  $\mu\text{M}\cdot\text{g}$  białka<sup>-1</sup>.



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

Rys. 2. Zawartość reaktywnych grup -SH (R-SH) w sonifikowanym mięsie wieprzowym PSE.

Fig. 2. Content of –SH reactive groups (R-SH) in the PSE pork meat treated by ultrasounds.

Odmienne efekty sonifikacji mięsa drganiami o częstotliwości 25 kHz i brak widocznych skutków oddziaływania drganiami 45 kHz (ZP) w porównaniu z wynikami uzyskanymi z próby kontrolnej były obserwowane we wcześniejszych badaniach dotyczących oddziaływania sonifikacji na proces dojrzewania i właściwości mięsa wołowego [12, 13, 22, 23]. Nie znana jest przyczyna odmiennego działania fal o różnej częstotliwości drgań. Nadal trwają badania dotyczące wyjaśnienia mechanizmów tego zróżnicowanego oddziaływania.

Na podstawie analizy wyników poziomu wycieków termiczny w żelach homogenatów mięsa wieprzowego PSE podczas 72-godzinnej okresu badań (tab. 1) nie stwierdzono wpływu czasu dojrzewania i sposobu sonifikacji na badany parametr w próbach ogrzewanych w temp. 55 °C. Obróbka w temp. powyżej 55 °C spowodowała znacznie większy wyciek w homogenatach otrzymanych z mięsa po 24 h od uboju niż w homogenatach otrzymanych z mięsa po 48 i 72 h przechowywania. Szczególnie było to widoczne po obróbce w temp. 70 °C. Nie stwierdzono wpływu sonifikacji na zróżnicowanie poziomu wycieku termicznego w badanych zakresach temperatur.

Tabela 1

Wielkość wycieku termicznego w żelach homogenatów mięsa wieprzowego PSE.  
Quantity of cooking loss in gels of PSE pork homogenates.

Temperatura Temperature [°C]	Próba Sample	Czas od uboju / Time after slaughter [h]		
		24	48	72
		$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
55	KP	4,35 ± 1,48	4,10 ± 0,14	2,3 ± 0,85
	UP	4,55 ± 1,77	4,45 ± 1,20	2,85 ± 0,49
	ZP	4,15 ± 1,48	3,00 ± 1,84	3,35 ± 1,48
60	KP	15,10 ± 3,54	4,90 ± 3,54	4,10 ± 0,14
	UP	14,70 ± 2,69	8,25 ± 0,64	5,15 ± 0,78
	ZP	12,35 ± 2,19	3,75 ± 0,21	6,25 ± 1,48
70	KP	39,80 ± 5,23	16,45 ± 2,05	16,70 ± 4,95
	UP	42,05 ± 1,91	19,60 ± 0,28	17,70 ± 1,13
	ZP	34,95 ± 0,21	16,20 ± 0,14	18,55 ± 0,35
80	KP	25,55 ± 4,03	22,60 ± 2,97	20,80 ± 0,42
	UP	29,70 ± 4,10	24,40 ± 2,55	22,35 ± 1,48
	ZP	29,00 ± 3,25	23,50 ± 0,14	28,75 ± 5,02

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

Największą zdolnością utrzymywania wody (tab. 2) cechowały się żele otrzymane w temp. 55 °C, przy czym żele otrzymane w tej temperaturze po 48 h od uboju charakteryzowała mniejsza zdolność utrzymywania wody w stosunku do żeli otrzymanych po 24 i 72 h od uboju. Nie stwierdzono wpływu sonifikacji mięsa bezpośrednio po uboju na zdolność utrzymywania wody przez zżelowane homogenaty mięsa.

Tabela 2

Zdolność utrzymywania wody w żelach homogenatów mięsa wieprzowego PSE.  
Water binding ability of PSE pork homogenates.

Temperatura Temperature [°C]	Próba Sample	Czas od uboju / Time after slaughter [h]		
		24	48	72
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
55	KP	5,10 ± 1,84	26,05 ± 1,25	13,02 ± 2,75
	UP	12,85 ± 3,15	28,26 ± 3,47	17,95 ± 1,48
	ZP	9,90 ± 1,27	21,77 ± 2,86	10,51 ± 1,27
60	KP	32,70 ± 0,39	39,01 ± 1,66	33,90 ± 4,53
	UP	33,28 ± 2,18	36,75 ± 2,19	23,32 ± 1,95
	ZP	38,50 ± 0,85	37,85 ± 1,06	23,74 ± 3,21
70	KP	32,75 ± 3,24	40,95 ± 3,61	29,85 ± 1,34
	UP	35,40 ± 1,13	37,90 ± 0,42	29,75 ± 6,01
	ZP	35,90 ± 2,69	30,35 ± 1,53	33,45 ± 1,06
80	KP	26,19 ± 4,65	34,09 ± 0,38	24,31 ± 1,74
	UP	32,90 ± 5,23	26,70 ± 2,83	30,80 ± 0,00
	ZP	30,15 ± 1,95	27,12 ± 1,33	18,93 ± 2,16

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

Żelowanie białek mięśniowych, zwłaszcza białek miofibrylarnych, podczas obróbki termicznej determinuje charakterystyczną budowę, spójność i stabilność rozdrobnionych produktów mięsnych. [5]. W tworzeniu żelu oddziaływania hydrofobowe, w tym oddziaływania z grupami -SH i wiązania wodorowe odgrywają bardzo istotną rolę [19]. Niektórzy autorzy [18, 19] stwierdzili, że ilość reaktywnych grup -SH zależy od temperatury obróbki. W temperaturze 20 °C ilość ta zwiększa się, zaś pomiędzy temperaturą 30 - 50 °C zmniejsza się wskazując, że odsłonięte pod wpływem ogrzewania grupy -SH zostają utlenione do wiązań S-S [18, 19]. Tworzenie wiązań dwusiarczkowych nie determinuje procesu żelowania. Ich rola w żelowaniu wiąże się ze zdolno-

ścią do zwiększania średniego ciężaru cząsteczkowego, a tym samym długości łańcucha. Zwiększenie ilości grup R-SH i tym samym grup S-S podczas denaturacji wzmacnia wobec tego międzycząsteczkową sieć. Podczas ogrzewania następuje rozpad wiązań dwusiarczkowych i „aktywacja” ukrytych grup sulfhydrylowych w wyniku rozwijania łańcuchów polipeptydowych białka. Reaktywne grupy -SH mogą utworzyć nowe międzycząsteczkowe wiązania dwusiarczkowe [9].

Pomiędzy zawartością reaktywnych grup -SH a wyciekami termicznymi w próbach UP i ZP wystąpiła silna, dodatnia korelacja wyrażona współczynnikami korelacji  $0,99 \geq r \geq 0,6$  oraz wysoka ujemna korelacja  $0,99 \geq r \geq 0,5$  w próbie kontrolnej KP (tab. 3). Stwierdzono także wysoką ujemną zależność pomiędzy indeksem fragmentacji miofibrili i wyciekami termicznymi w próbie ZP ( $r = -0,72$ ). Nie stwierdzono wpływu indeksu fragmentacji miofibrili na poziom wycieku termicznego w próbie KP ( $r = -0,29$ ) i w próbie UP ( $r = 0,3$ ). Zdolność utrzymywania wody przez żele homogenatów mięsa była wysoce zależna od indeksu fragmentacji miofibrili ( $r > 0,5$ ). Przy czym w próbie UP była to zależność ujemna, a w pozostałych próbach dodatnia.

Tabela 3

Współczynniki korelacji liniowej Pearsona ( $r$ ) pomiędzy indeksem fragmentacji miofibrili (MFI) i zawartością reaktywnych grup -SH (R-SH) a wielkością ubytków termicznych i zdolnością utrzymywania wody przez żele homogenatów mięsa wieprzowego PSE.

Pearson's correlation coefficients ( $r$ ) between myofibrillar fragmentation index (MFI) & the content of -SH reactive groups, as well as between cooking losses & water binding ability of PSE pork meat homogenates.

Parametry Parameters	Temp. [°C]	Zawartość R-SH [ $\mu\text{M} \cdot \text{g białka}^{-1}$ ] Content of R-SH [ $\mu\text{M} \cdot \text{g proteins}^{-1}$ ]			MFI		
		KP	UP	ZP	KP	UP	ZP
Wyciek termiczny Cooking losses [%]	55	-0,99	0,38	0,76	0,55	-0,36	-0,73
	60	-0,57	0,87	0,75	-0,29	0,30	-0,72
	70	-0,51	0,97	0,63	-0,29	0,30	-0,72
	80	-0,80	0,89	0,99	-0,29	0,30	-0,72
Zdolność utrzymywania wody Water binding ability [%]	55	-0,09	-0,63	-0,91	0,85	-0,87	0,92
	60	-0,53	0,29	-0,38	0,95	-0,43	0,41
	70	-0,88	0,09	0,85	0,90	-0,64	0,83
	80	-0,71	0,87	-0,41	0,94	-0,97	0,38

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

## Wnioski

1. Zmiany przebiegu procesu dojrzewania mięsa wywołane sonifikacją wpływają na właściwości białek miofibrylarnych. Prawdopodobnie zachodzące w mięsie procesy dojrzewalnicze, przyspieszone działaniem ultradźwięków na tkankę mięśniową bezpośrednio po uboju, powodują zmiany w cząsteczkach białka odpowiedzialne za interakcje typu białko – woda i białko – białko. Stwarza to możliwość wykorzystania tego zjawiska w przetwórstwie mięsa.
2. Sonifikacja mięsa wieprzowego PSE falami ultradźwiękowymi o częstotliwości 25 kHz i średnim natężeniu drgań inicjuje przemiany struktury białek miofibrylarnych włókienka mięśniowego. Zmianie ulegają ich właściwości powierzchniowe, skutkując zwiększeniem zawartości reaktywnych grup -SH. Zastosowanie ultradźwięków o częstotliwości 45 kHz nie wywołuje podobnego efektu.
3. Zmiany w strukturze białek miofibrylarnych wywołane działaniem ultradźwięków powodują ekspozycję hydrofobowych obszarów, zwiększając interakcje białko – białko podczas obróbki termicznej. Zmiany te potwierdza wysoka dodatnia korelacja pomiędzy zawartością reaktywnych grup -SH i ubytkami termicznymi w próbach sonifikowanych.
4. Działanie ultradźwięków na mięso bezpośrednio po uboju przyspiesza fragmentację wyrażoną indeksem MFI. Przyczyn tego zjawiska należy upatrywać w nieznanym mechanizmie przyspieszenia przemian struktur białkowych włókienka po uboju pod wpływem sonifikacji. Możliwe, że jest to efekt zwiększonego poziomu jonów  $Ca^{+2}$  w cytozolu i ich wpływu na proces dojrzewania mięsa. Wykazano, że wartość indeksu fragmentacji miofibryli koreluje ze zdolnością utrzymywania wody przez zżelowane homogenaty mięsa w próbie kontrolnej i w próbie sonifikowanej falami o częstotliwości 45 kHz.

*Praca była prezentowana podczas I Sympozjum Żywności z okazji 30-lecia powołania specjalizacji Inżynieria Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW, Warszawa, 5 - 6 czerwca 2008 r.*

## Literatura

- [1] Ahn D.-H., Shimada K., Takahashi K.: Relationship between weakening of Z-disks and liberation of phospholipids during postmortem aging of pork and beef. *J. Food Sci.* 2003, **68** (1), 94-98.
- [2] Badyal J.P., Cameron A.M., Cameron N.R., Coe D.M., Cox R., Davis B.G., Oates L.J., Oye G., Steel P.G.: A simple method for the quantitative analysis of resin bound thiol groups. *Tetrahedron*, 2001, **42**, 8531- 8533.
- [3] Channon H.A., Payne A.M., Warner R.D.: Halothane genotype, preslaughter handling and stunning method all influence pork quality. *Meat Sci.*, 2000, **56** (3), 291-299.



- [4] Grajewska S, Bocian M. : Plastyczność surowego mięsa wieprzowego jako wskaźnik jego jakości z uwzględnieniem genotypu świń *RYR 1*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44) Supl.**, 38-47.
- [5] Gordon A., Barbut S.: Mechanism of meat batter stabilization. A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1992, **32**, 299-332.
- [6] Got F., Culioli J., Berge P., Vignon X., Astruc T., Quideau J.M., Lethiecq M.: Effects of high-intensity high-frequency ultrasound on ageing rate, ultrastructure and some physico-chemical properties of beef. *Meat Sci.*, 1999, **51**, 35.
- [7] Gajewczyk P., Madejek-Świątek E., Kowalska K.: Właściwości fizykochemiczne świeżego i mrożonego mięśnia *longissimus lumborum* tuczników mieszańców. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44) Supl.**, 28-37.
- [8] Ellman G.L.: Tissue sulfhydryl groups. *Archives Biochem. Biophys.*, 1959, **82**, 70-77.
- [9] Hettiarachchy N.S., Ziegler G.R. (red.): Protein functionality in food system. Wyd. Marcel Dekker, Ift Basic Symposium Series, New York 1994.
- [10] Hoopkins D.L., Littlefield P.J., Thompson J.M.: A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. *Meat Sci.*, 2000, **56**, 19-22.
- [11] Kristensen L., Purslow P.P.: The effect of ageing on the water-holding capacity of pork: role of cytoskeletal proteins. *Meat Sci.*, 2001, **58**, 17-23.
- [12] Latoch A., Dolatowski Z.J.: Właściwości reologiczne białek miofibrylarnych sonifikowanego mięsa wołowego. *Inż. Rol.* 2004, **5 (60)**, 205-210.
- [13] Latoch A., Dolatowski Z.J.: Wpływ sonifikacji mięsa wołowego na lepkość homogenatów. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tł.*, 2005, **XLII/XLIII**, 171-177.
- [14] Lyng J.G., Allen P., McKenna B.M.: The effect on aspects of beef tenderness of *pre-* and *post-rigor* exposure to a high intensity ultrasound probe. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, **78**, 308.
- [15] Łyczyński A., Pospiech E., Urbaniak M., Rzościńska E., Bartkowiak Z., Mikołajczak B., Grześ B.: Meat quality depending on pig genotype. *Ann. Anim. Sci.*, 2002, **Suppl 2**, 53-56.
- [16] MacBride M.A., Parrish F.C.: The 30 000 dalton component of tender bovine *longissimus* muscle. *J. Food Sci.*, 1977, **42**, 1627.
- [17] Olson D.G., Parrish Jr. F.C., Stromer M.H.: Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during *post mortem* storage. *J. Food Sci.*, 1976, **41**, 1036.
- [18] Sano T., Ohno T., Otsuka-Fuchino H., Matsumoto J.J., Tsuchiya T.: Carp natural actomyosin: thermal denaturation mechanism. *J. Food Sci.*, 1994, **59**, 102-108.
- [19] Smyth A.B., Smith D.M., O'Neill E.: Disulfide bonds influence the heat - induced gel properties of chicken breast muscle myosin. *J. Food Sci.*, 1998, **63 (4)**, 584-588.
- [20] Takahashi K.: Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem aging of meat: The non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.*, 1996, **43 (S)**, S67-80.
- [21] Torley P.J., D'Arcy B.R., Trout G.R.: The effect of ionic strength, polyphosphates type, pH, cooking temperature and preblending on the functional properties of normal and pale, soft, exudative (PSE) pork. *Meat Sci.*, 2000, **55**, 451-462.
- [22] Twarda J., Dolatowski Z.J.: The effect of sonication on the colour and WHC of normal and PSE pork. *Animal Sci.*, 2006, **1 (s)**, 184-185.
- [23] Twarda J., Dolatowski Z.J.: Zmiany struktury tkanki mięśniowej i wodochłonności wodnisteo mięsa wieprzowego po sonifikacji. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tł.*, 2005, **XLII/XLIII**, 161- 169.
- [24] Wang H., Pato M.D., Phyllis J. Shand P.J.: Biochemical properties of natural actomyosin extracted from normal and pale, soft, and exudative pork loin after frozen storage. *J. Food Sci.*, 2005, **70**, 313-320.
- [25] Wang B., Xiong Y.L: Functional stability of antioxidant-washed, cryoprotectant-treated beef heart surimi during frozen storage. *J. Food Sci.*, 1998, **63**, 293.

- [26] Warner R.D., Kauffman R.G., Greaser M.L.: Muscle protein change post mortem in relation to pork quality traits. *Meat Sci.*, 1997, **45**, 339-352.
- [27] Warriss P.D., Brown S.N., Paściak P.: The colour of the adductor muscle as a predictor of pork quality in the loin. *Meat Sci.*, 2006, **73**, 565-569.

### PROPERTIES OF MYOFIBRILS IN PORK MEAT OF A REDUCED QUALITY SUBJECTED TO SONIFICATION

#### Summary

The objective of the present study was to determine changes in the properties of myofibrillar proteins in PSE pork meat treated using ultrasounds and stored for 96 hours.

The raw material studied was pork meat (*m. biceps femoris*) chilled for 24 hours at 7 °C; its colour was pale and its pH<sub>24</sub> was ≤5.6. The pork meat investigated was delivered from a slaughterhouse, 24 hrs after slaughter. The muscle was divided into three parts of a similar weight. One part constituted a control sample (CS), the other two were treated by ultrasounds of a frequency of 25 kHz (sample US) and 45 kHz (sample ZS), respectively. The intensity of ultrasound waves was 2 W·cm<sup>-2</sup>. The exposition time in the ultrasound field was 2 minutes. The meat samples were stored under the chilling conditions. After the storage lasting: 24, 48, 72, and 96 hours after slaughter, the myofibrillar fragmentation index (MFI) of and a total content of -SH reactive groups in the meat samples were measured, whereas cooking losses and water binding ability of myofibrillar gels were measured 24, 48, and 72 hours after slaughter.

It was found that the sonication of meat using 25 kHz ultrasounds caused a change in the direction of the *post mortem* biochemical metabolism of the meat proteins, and the result of those changes was the increase in the content of -SH reactive groups. When the meat was treated by 45 kHz ultrasounds, no significant differences were found in the content level of -SH reactive groups and in the MFI compared to the control sample of meat. Furthermore, there was found no effect of the sonification of meat on the cooking losses in and water binding ability of the gelated meat homogenates. A positive correlation was found between the content of -SH reactive groups and the cooking losses in the samples treated by ultrasounds; MFI and water binding ability were positively correlated in the gelated homogenates of the control sample and the sample (ZS) sonicated by 45kHz waves. A negative correlation exists between the content of -SH reactive groups in it and water binding ability of the control sample, in the ZS sample: between MFI and the cooking losses in it.

**Key words:** sonication, PSE meat, MFI, sulphhydryl groups, myofibrillar gels ☒

GRAŻYNA MORKIS

## PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na 26 lutego 2009 r.

1. Ustawa z dn. 20 kwietnia 2004 r. o organizacji rynku mleka i przetworów mlecznych (tekst jednolity) (Dz. U. 2009 r. Nr 11, poz. 65).  
Akt prawny zawiera jednolity tekst ustawy z dn. 20 kwietnia 2004 r. o organizacji rynku mleka i przetworów mlecznych.  
W ustawie zostały określone:
  - zadania i właściwość jednostek organizacyjnych oraz organów w zakresie organizacji rynku mleka i przetworów mlecznych określonej przepisami Unii Europejskiej wymienionymi w załączniku,
  - organizacja i kompetencje Komisji Porozumiewawczej do Spraw Mleka i Przetworów Mlecznych,
  - zasady działania Funduszu Promocji Mleczarstwa.
2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 14 stycznia 2009 r. w sprawie metod analiz związanych z dokonywaniem oceny miodu (Dz. U. 2009 r. Nr 17, poz. 94).  
Zostały określone następujące metody związane z dokonywaniem oceny miodu:
  - metody analiz – w zakresie oznaczania:
    - a) zawartości w miodzie: wody, substancji nierozpuszczalnych w wodzie, fruktozy, glukozy i sacharozy, 5-hydroksymetylofurfuralu, proliny,
    - b) udziału pyłku przewodniego w miodzie,
    - c) przewodności elektrycznej właściwej miodu,
    - d) pH i wolnych kwasów w miodzie,
    - e) liczby diastazowej w miodzie;

- metoda sprawdzania spełniania wymagań organoleptycznych miodu określonych w przepisach w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu;
  - metoda sprawdzania występowania oznak fermentacji miodu;
  - metody wykrywania obecności dekstryn skrobiowych, melasu, skrobi, sztucznych barwników i rozkruszka w miodzie;
  - metody wykrywania miodu sfermentowanego lub z zatrzymaną fermentacją.
3. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 14 stycznia 2009 r. w sprawie wprowadzenia do obrotu i stosowania w żywności na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej określonych substancji dodatkowych (Dz.U. 2009 r., Nr 17, poz. 96).
- Rozporządzenie określa:
- substancje dodatkowe niezamieszczone w wykazie, o którym mowa w art. 10 pkt 3 ustawy z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia, zwane dalej "substancjami dodatkowymi", które mogą być wprowadzone do obrotu i stosowane w żywności na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej,
  - warunki stosowania substancji dodatkowych;
  - rodzaj środków spożywczych, w których mogą być stosowane substancje dodatkowe;
  - maksymalne dopuszczalne poziomy substancji dodatkowych. ☒

**XXXIX SESJA KOMITETU  
NAUK O ŻYWNOŚCI  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK**

**„POSTĘP W WYTWARZANIU I OCENIE ŻYWNOŚCI”**

**UNIwersytet PRZYRODniczy w POZNANIU**

**POZNAŃ 29.06 - 01.07.2009**

Adres do korespondencji:  
Sekretarz Komisji  
dr hab. Bożena Danyluk  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
Instytut Technologii Mięsa  
60-624 Poznań, ul. Wojska Polskiego 31  
tel. 061 848 75 07; fax 061 848 72 54  
e-mail: [sesja09@up.poznan.pl](mailto:sesja09@up.poznan.pl)

## NOWE KSIĄŻKI

### **Dictionary of Food and Nutrition**

[Słownik żywności i żywienia]

Bender D.A.

Wydawnictwo: Oxford University Press, 2009, ISBN 978-0-19-923487-5, stron 608, cena 114,20 €

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

Słownik zawiera ponad 6150 haseł obejmujących wszystkie aspekty żywności, odżywiania, diety i zdrowia. W książce zamieszczono definicje, które przejrzysto wyjaśniają fachowe terminy dot. żywności (obejmują wszystkie typy żywności) oraz żywienia. W słowniku znajdują się też informacje o wartości odżywczej, zawartości witamin, składników mineralnych i innych składników w żywności. Do niniejszego opracowania dołączono rozszerzone opracowanie dotyczące nowych obszarów naukowych, w tym genomiki, proteomiki i metabolomiki, a przy wielu hasłach podano odnośniki do stron internetowych, które są stale aktualizowane. Wraz z użytecznym materiałem zawartym w aneksie, obejmującym m.in. wykazy RDA (ZDS), książka stanowi cenne źródło informacji dla naukowców, studentów, nauczycieli bądź osób zawodowo zajmujących się żywnością i odżywianiem.

### **Extracting Bioactive Compounds for Food Products**

[Ekstrakcja bioaktywnych składników z produktów żywnościowych]

Meireles M. A.

Wydawnictwo: CRC Press Inc., 2008, ISBN 978-1-4200-6237-3, stron 520, cena 113,40 €

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

Zapotrzebowanie na związki bioaktywne w przemyśle spożywczym wzrasta, gdyż firmy prześcigają się w opracowywaniu nowych typów żywności funkcjonalnej i odżywek. Od tradycyjnych procesów, jak destylacja z parą wodną, do nowo opracowywanych technik, jak technologia płynów nadkrytycznych – w książce szczegółowo omówiono techniczne aspekty procesów stosowanych do ekstrahowania związków bioaktywnych z surowców żywnościowych. W każdym rozdziale przedstawiono pod-

stawy termodynamiki w odniesieniu do opisywanych procesów, przegląd literatury i przykłady zastosowania. Najważniejsze tematy ujęte w tekście obejmują nisko- i wysokociśnieniową ekstrakcję rozpuszczalnikową z matryc warzywnych oraz ekstrakcję i absorpcję typu ciecz-ciecz.

### **Food Contaminants and Residue Analysis**

[Zanieczyszczenia żywności i analiza pozostałości]

Pico Y.

Wydawnictwo: Elsevier Science Publishers, 2008, ISBN 978-0-444-53019-6, stron 848,

cena 228,40 €

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

W książce omówiono różne aspekty analizy zanieczyszczeń i pozostałości substancji obcych w żywności. Zamieszczono rozważania autora na temat obaw zdrowotnych związanych z tą dziedziną. Podano przegląd informacji dotyczących bezpieczeństwa żywności, celów i znaczenia oznaczania substancji obcych i pozostałości w żywności, a także problemów związanych z analizą tych związków. Przytoczono szczegółowe informacje na temat przepisów prawnych obowiązujących w UE i USA. Omówiono konwencjonalne metody chromatograficzne oznaczania zanieczyszczeń i pozostałości, jak i nowe techniki analityczne, które zostały opracowane, w ciągu kilku ostatnich lat, np.: mikroekstrakcję do fazy stałej, chromatografię cieczową, spektrometrię masową, testy immunologiczne i czujniki biologiczne (biosensory). Szczegółowo omówiono takie substancje szkodliwe i pozostałości, jak: pestycydy, mikotoksyny, dioksyny, polichlorowane bifenyle, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, N-nitrozoaminy, aminy heterocykliczne, akryloamid, semikarbazyd, ftalany oraz substancje migrujące z opakowań do żywności. Książka może być praktyczną wskazówką, jak wybierać najskuteczniejsze techniki oznaczania tych związków. Dzięki logicznej strukturze i licznym przykładom, książka *Zanieczyszczenia żywności i analiza pozostałości* jest wartościową pozycją encyklopedyczną i podręcznikiem, jak również praktycznym narzędziem dla szerokiej rzeszy specjalistów: biologów, biochemików, mikrobiologów, chemików żywności, toksykologów, chemików, agronomów, specjalistów od higieny i każdego, kto musi korzystać z technik analitycznych do oceny bezpieczeństwa żywności.

Opracował: *Stanisław Popek*

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR

## WSPÓŁCZESNY LEKSYKON WIEDZY O ŻYWNOSCI

Prezentujemy 35. część haseł *Współczesnego leksykonu wiedzy o żywności*. Druk leksykonu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 3 (28), 2001.

**AGROCHEMIKALIA / AGRO-FINE-CHEMICALS** – substancje roślinne o prozdrowotnych właściwościach i szerokich możliwościach aplikacyjnych związanych z potencjalnie wysoką opłacalnością uprawy i przetwórstwa roślin, w których są zawarte

**ANERGIA / ANERGY** – w immunologii, niedobór odpowiedzi immunologicznej reakcji na czynnik, który normalnie indukuje tę odpowiedź

**HABITUACJA / HABITUATION** – zanikanie reakcji organizmu na powtarzający się bodziec, który nie niesie istotnych konsekwencji dla jednostki

**PARABENY / PARABENS** – grupa związków chemicznych szeroko stosowana jako konserwanty w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym. Parabeny są skutecznymi konserwantami w wielu preparatach. Składniki te, ich sole, są stosowane przede wszystkim ze względu na ich przeciwbakteryjne i przeciwgrzybowe właściwości. Można je odnaleźć w szamponach, handlowych nawilżaczach, żelach do golenia, osobistych środkach nawilżających, typowych parenteralnych farmaceutykach, pastach do zębów i aerozolach do opalania. Są one także używane jako dodatki do żywności. Ich skuteczność jako konserwantów, w połączeniu z niskimi kosztami, ich długa historia stosowania jako środków zapobiegawczych i nie udowodniona skuteczność naturalnych konserwantów takich jak ekstrakt z grapefruita (GSE), prawdopodobnie wyjaśnia dlaczego parabeny są tak popularne. Stają się jednak one coraz bardziej kontrowersyjne i

---

*Prof. dr hab. H. Kostyra, dr A. Wociór, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Oddział Nauki o Żywności, 10-747 Olsztyn, ul. Tuwima 10, prof. dr hab. E. Kostyra, Wydział Nauk o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, 10-957 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 7*

znajdują przeciwników, którzy sprzeciwiają się powszechnemu ich stosowaniu. Parabeny są estrami kwasu parahydroksybenzeosowego, od czego pochodzi ich nazwa. Pospolitymi parabenami są: metyloparaben (E218), etyloparaben (E214), propyloparaben (E216) i butyloparaben.

**SWOISTA IMMUNOTERAPIA / SPECIFIC IMMUNOTHERAPY** – leczenie mające na celu obniżenie objawów związanych z ekspozycją na alergen przyczynowy poprzez systematyczne podawanie stopniowo wzrastających dawek szczepionki alergenowej. Jest to jedyna forma leczenia, która może wpływać na naturalny przebieg choroby

**WITRYFIKACJA / VETRIFICATION** – przemiana fazowa przejścia ze stanu ciekłego w stan szklisty. Jest to przemiana fazowa II rzędu, związana z nagłą zmianą lepkości i zmianą pojemności cieplnej, ale nie towarzyszą jej energetyczne efekty cieplne. Proces nitryfikacji może zachodzić pod wpływem szybko dostarczonego bądź usuniętego ciepła lub też przy obecności dodatków go wspomagających. Zestalenie ciała amorficznego zachodzi w temperaturze zeszklenia, która jest niższa od temperatury topnienia z powodu efektu przechłodzenia. Kiedy początkowo substancja jest ciałem stałym, nitryfikacja polega zwykle na jej podgrzaniu do bardzo wysokich temperatur, a następnie szybkiego schłodzenia poniżej temperatury zeszklenia. W ten sposób wyrabia się ceramikę. Innymi przykładami są: przy powolnym schładzaniu roztopionej sacharozy powstaje cukier „kryształ”, lecz gdy ochłodzić ją gwałtownie może uformować syropowatą, niekryształiczną „watę cukrową”; przy produkcji lodów używa się glikolu etylenowego i glikolu propylenowego, by zredukować powstawanie kryształów lodu, co czyni lody bardziej „gładkimi”. ❖



## Z ŻAŁOBNEJ KARTY

### **PROF. DR HAB. HENRYK GAŚIOROWSKI 1922 - 2009**

Z głębokim smutkiem przyjęliśmy wiadomość o śmierci prof. dr hab. Henryka Gaśiorowskiego, prof. zw. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, pracownika Zakładu Technologii Zbóż Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego.

Prof. dr hab. Henryk Gaśiorowski urodził się w 1922 roku w Łowinku pod Bydgoszczą. Tam skończył szkołę podstawową, a następnie podjął naukę w Liceum Ogólnokształcącym w Bydgoszczy. Gdy rozpoczęła się II wojna światowa, jako ochotnik, mając 17 lat wstąpił do polskiego wojska i w batalionie przysposobienia wojskowego uczestniczył w obronie Warszawy. Po kapitulacji wraz z innymi żołnierzami trafił do obozu jenieckiego pod Grudziądem, gdzie przebywał do końca 1939 roku.

W okresie okupacji pracował jako robotnik rolny, a następnie robotnik w hucie Stalowa Wola. Głęboko zakorzenione poczucie patriotyzmu sprawiło, że po wyzwoleniu spod okupacji hitlerowskiej terenów, na których przebywał, wstąpił do Drugiej Armii Wojska Polskiego i w jej szeregach uczestniczył w walkach o Nysę.

Jako wojskowy ukończył szkołę średnią w Jeleniej Górze, zdając w 1946 roku maturę. Następnie podjął studia na Wydziale Rolniczo-Leśnym Uniwersytetu Poznańskiego. Specjalizację i pracę dyplomową, której tematem była charakterystyka przemian biochemicznych i technologicznych mąki przechowywanej w zróżnicowanych warunkach, wykonywał pod kierunkiem tak znanych w technologii żywności autorytetów, jak prof. prof. Józef Janicki i Stanisław Jankowski. Po obronie, na ocenę celującą, pracy magisterskiej otrzymał od profesora Janickiego propozycję podjęcia pracy na Uczelni i przez rok pracował jako asystent w Katedrze Technologii Rolnej.

Trudne warunki mieszkaniowe i funkcjonujący w tamtym okresie nakaz pracy sprawiły, że w 1951 roku był zmuszony podjąć pracę jako technolog, a następnie kierownik laboratorium analitycznego w Zespole Młynów w Lesznie. Stąd został skierowany do pracy w delegaturze Najwyższej Izby Kontroli, zespół do spraw przemysłu spożywczego.

Na Uczelnię powrócił w 1957 roku i kontynuował pracę naukową pod kierunkiem prof. Stanisława Jankowskiego. Praca doktorska, którą obronił w 1962 roku, dotyczyła

„Wpływu temperatury przechowywania pieczywa na jego przydatność konsumpcyjną i zmiany niektórych jego składników”. Po doktoracie wyjechał na staż naukowy w znanym w branży zbożowej ośrodku naukowym w Detmold, a następnie przebywał w Moskiewskim Technologicznym Instytucie Przemysłu Spożywczego, gdzie miał możliwość pracy pod kierunkiem najwybitniejszych autorytetów w zakresie przetwórstwa zbóż: prof. Kretowicza – późniejszego doktora h.c. Akademii Rolniczej w Poznaniu, profesora Auermana oraz profesora Kazakowa. W 1966 roku obronił w SGGW w Warszawie (w tym czasie Wydział Technologii Rolno-Spożywczej w Poznaniu jeszcze nie miał praw habilitowania) pracę habilitacyjną. Praca habilitacyjna dotyczyła „Wpływu niektórych czynników fizycznych i chemicznych na reologiczne własności ciasta pszennego”. Dalsza aktywna praca naukowa, wyrażana licznymi publikacjami oraz pracami o charakterze wdrożeniowym, sprawia, że w 1976 roku otrzymuje tytuł naukowy profesora nauk rolniczych a w 1984 roku stanowisko profesora zwyczajnego.

Obok pracy naukowej prof. Henryk Gąsiorowski znany był także z szerokiej działalności organizacyjnej. Był współtwórcą zakładu doświadczalnego technologii zbóż, popularnie nazywanego piekarnią doświadczalną, gdzie testowano różne metody produkcji pieczywa i jego nowe sortymenty. Po powstaniu Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego prof. Gąsiorowski został wicedyrektorem Instytutu ds. dydaktycznych. Funkcję tę pełnił przez dwie kadencje aż do 1978 roku. W latach 1981 - 1984 sprawował także funkcję kierownika Zakładu Technologii Zbóż.

W latach 1968 - 1970 prof. Gąsiorowskiemu powierzono funkcję prodziekana do spraw dydaktycznych Wydziału Technologii Rolno-Spożywczej, a w 1970 r. został wybrany dziekanem tego Wydziału. Funkcję dziekana Wydziału powierzono Mu jeszcze raz w latach 1981 - 1984.

Zainteresowania naukowe Profesora były bardzo szerokie. W pierwszym okresie dotyczyły nowych, jak na okres lat 60. ub. wieku, zagadnień związanych z reologią ciasta chlebowego i makaronowego. Szczególnie bliska była Profesorowi technologia piekarstwa, ale też prowadził szerokie badania związane z wykorzystaniem krajowych odmian pszenicy do produkcji makaronu. Niezwykle interesujące były też prace Profesora poświęcone ocenie właściwości fizycznych ziarna pszenicy, w szczególności jej twardości i mikrotwardości. Z czasem zainteresowania Profesora objęły także problemy pozyskiwania i wykorzystania z ziarna różnych zbóż substancji określanych ogólnie mianem błonnika pokarmowego i jego wpływem na cechy technologiczne i żywieniowe produktów zbożowych. Efektem tej pracy jest ponad 300 publikacji, drukowanych nie tylko w czasopiśmie naukowych o zasięgu międzynarodowym, ale i krajowych, adresowanych do kadry inżyniersko-technicznej przemysłu spożywczego. O bliskim kontakcie działalności badawczej Profesora z praktyką przemysłową świadczą liczne wdrożenia w zakładach zbożowo-młynarskich, piekarskich i makaro-

nowych. Niektóre z produktów i technologie ich wytwarzania stosowane są do chwili obecnej.

Przejście prof. dr hab. Henryka Gąsiorowskiego, w 1993 roku, na emeryturę nie spowodowało zaprzestania Jego aktywności naukowej. Swój czas, wiedzę i energię poświęcił napisaniu monografii: „Żyto – chemia i technologia”, „Owies – chemia i technologia”, „Jęczmień – chemia i technologia” oraz wydanej w 2004 roku „Pszenica – chemia i technologia”. Do ostatnich chwil pracował nad kolejną monografią poświęconą kukurydzy. Książki te stanowią ogromnie wartościowy i bogaty materiał zarówno dla studentów, praktyków, naukowców zajmujących się dziedziną przetwórstwa zbóż, a także szerokiego grona konsumentów, dietetyków i żywieniowców.

Profesor Henryk Gąsiorowski był nie tylko doskonałym naukowcem, ale i dydaktykiem. Pod Jego opieką zostało wykonanych ponad 200 prac inżynierskich i magisterskich. Niektórzy z jego dyplomantów pełnili i pełnią ważne funkcje zawodowe bądź prowadzą własne przedsiębiorstwa, a doktoranci pracują naukowo.

Działalność naukowa, dydaktyczna i organizacyjna Profesora, lecz przede wszystkim postawa społeczna i życzliwość wobec innych, zostały wielokrotnie docenione licznymi medalami: za udział w walce wywolenczej, Krzyżem Kawalerskim i Krzyżem Oficerskim Orderu Odrodzenia Polski za działalność naukową, społeczną i dydaktyczną, nagrodami Ministra Nauki, Szkolnictwa Wyższego i Techniki I i III stopnia za osiągnięcia naukowe.

Prof. dr hab. Henryk Gąsiorowski był od 1998 r. Członkiem Honorowym Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności.

Prof. dr hab. Henryk Gąsiorowski zmarł 25 lutego 2009 roku w Poznaniu. Śmierć przerwała bogate plany i zamierzenia, jednak Jego dokonania i osoba pozostaną na zawsze w naszej pamięci.

*Jan Michniewicz, Wiktor Obuchowski*

## TECHNOLOG ŻYWNOSCI

### INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 19 Nr 7

marzec 2009

---

#### DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

##### Zarząd Główny

1. W dniu 12.03 br. odbyło się w Warszawie posiedzenie Prezydium ZG PTTŻ, na którym omówiono sprawy dotyczące działalności Towarzystwa w 2008 r., przygotowania do zebrania Zarządu Głównego i bieżące sprawy Towarzystwa.
2. W dniu 26.03. br. odbyło się w Warszawie zebranie Zarządu Głównego Towarzystwa, na którym przedstawione zostały sprawozdania z działalności ZG w roku 2008 (sprawozdania merytoryczne i finansowe), a także sprawozdania z działalności Oddziałów i Sekcji. Omówiono także plany działania w roku 2009. W związku z kończącą się kadencją, ZG podjął uchwałę o zwołaniu Walnego Zebrania Delegatów w czwartym kwartale 2009 r.
3. Pod egidą PTTŻ został uruchomiony portal na temat żywności zmodyfikowanej genetycznie. Portal można znaleźć pod adresem: <http://zywnosc-gmo.pl/>
4. 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  
Contact: e-mail: lupac2009@fasiweb.com

##### Maj

- 21 – 22 GDYNIA = XIV Sesja Naukowa SMKN PTTŻ nt.: „Jakość i bezpieczeństwo żywności – wyzwania XXI wieku”. Organizatorzy: Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni, Oddział Gdański PTTŻ, Zarząd Główny PTTŻ;  
kontakt: <http://wpit.am.gdynia.pl>

##### Czerwiec

- 18-19 KRAKÓW = IX Konferencja Naukowa z cyklu “Żywność XXI wieku” pt.: „Żywność wzbogacona i nutraceutyki”. Organizator Oddział Małopolski PTTŻ.

29.06. - 01.07. **POZNAŃ = XXXIX Sesja Komitetu Nauk o Żywności PAN nt. „Postęp w wytwarzaniu i ocenie żywności”**

**Kontakt: dr hab. Bożena Danyluk**

**tel. 061 848 75 07; fax 061 848 72 54; e-mail: sesja09@up.poznan.pl**

#### Lipiec

26 - 30 FLORENCE, Italy = The 8<sup>th</sup> Pangborn sensory science symposium - Call for papers  
- final reminder

[www.pangborn2009.com](http://www.pangborn2009.com)

#### Sierpień

16 – 21 COPENHAGEN, Denmark = 55th International Congress of Meat Science and Technology “Meat – Muscle, Manufacturing and Meals”

[www.ICoMST2009.dk](http://www.ICoMST2009.dk); Contact: e-mail: [congress@IMc.dk](mailto: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 1 (62)/2009 Biuletynu podano według stanu informacji do 10 lutego 2009 r. Materiały do Nr 2(63) /2009 prosimy nadsyłać do 1 maja 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)