



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 5 (66)

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, 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 Kisza, prof. dr hab. Helena Oberman

RADA KONSULTACYJNA: prof. dr Henryk Daun (USA), prof. dr Jerzy Jankun (USA),
dr Józef Korolczuk (Francja), prof. dr Marian Naczk (Kanada), prof. dr Jan Pokorný (Czechy),
prof. dr Roman Przybylski (Kanada), dr Andrzej Sośnicki (USA), dr Alina Surmacka-Szcześniak
(USA), dr John Wojciak (Kanada)

WYDAWCA:

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994-1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 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

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności

Nr 5 (66)

Kraków 2009

Rok 16

SPIS TREŚCI

Od Redakcji	3
RADOSŁAW DEMBCZYŃSKI, WOJCIECH BIAŁAS, TOMASZ JANKOWSKI: Wykorzystanie dwufazowej ekstrakcji wodnej do separacji lizozymu z białka jaja kurzego	5
ARTUR SZWENGIEL, MARIA CZARNECKA, LEONARDA GRUCHAŁA, ZBIGNIEW CZARNECKI: Właściwości i zastosowanie lewanu	18
AGNIESZKA DROŻDŻYŃSKA, DARIA SZYMANOWSKA, KATARZYNA CZACZYK: Optymalizacja procesu ekstrakcji trehalozy z komórek drożdży i określenie parametrów jej oznaczania techniką HPLC	30
IZABELA PRZETACZEK, TERESA FORTUNA: Wpływ ogrzewania mikrofalowego na właściwości reologiczne roztworów hydrolizatów skrobi o różnym stopniu depolimeryzacji	43
MAŁGORZATA PIECYK, MARTA KONARZEWSKA, IWONA SITKIEWICZ: Wpływ modyfikacji hydrotermicznej typu annealing na wybrane właściwości skrobi grochu (<i>Pisum sativum</i>)	58
ZBIGNIEW TAMBORSKI: Wpływ temperatury na przebieg izoterm sorpcji wody przez cukier	72
RENATA RÓŻYŁO, JANUSZ LASKOWSKI: Porównanie cech jakościowych chleba pszennego wypieczonego z ciasta prowadzonego jednofazowo i dwufazowo	83
GENOWEFA BONCZAR, AGATA REGUŁA-SARDAT, HENRYK PUSTKOWIAK, ANETA ŻEBROWSKA: Wpływ substytucji mleka owczego mlekiem krowim na właściwości bundzu	96
IZABELA CICHOCKA, TADEUSZ GRABIŃSKI: Psychograficzno-motywacyjna charakterystyka polskiego konsumenta żywności ekologicznej	107
ANNA STACHURA, PAWEŁ M. PISULEWSKI, ANETA KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA, RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ: Oszacowanie spożycia tłuszczów ogółem oraz kwasów tłuszczowych przez młodzież wiejską Beskidu Żywieckiego	119
ELŻBIETA SIKORA, MIROSŁAW PYSZ, TERESA LESZCZYŃSKA: Zmiany podaży podstawowych grup produktów spożywczych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989-2004	132
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	148
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Współczesny leksykon wiedzy o żywności	150
STANISŁAW POPEK: Nowe książki	152
ZBIGNIEW CZARNECKI, BOŻENA DANYLUK, JAN MICHNIEWICZ: XXXIX Sesja Komitetu Nauk o Żywności PAN „Postęp w Wytwarzaniu i Ocenie Żywności”	155
Technolog Żywności	158

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 5 (66)

Kraków 2009

Vol. 16

CONTENTS

From the Editor	3
RADOSŁAW DEMBCZYŃSKI, WOJCIECH BIAŁAS, TOMASZ JANKOWSKI: Application of aqueous two-phase extraction to separate lysozyme from hen egg white	5
ARTUR SZWENGIEL, MARIA CZARNECKA, LEONARDA GRUCHAŁA, ZBIGNIEW CZARNECKI: Properties and application of levan	18
AGNIESZKA DROŹDŻYŃSKA, DARIA SZYMANOWSKA, KATARZYNA CZACZYK: Optimizing the process of extracting trehalose from yeast cells and specifying parameters of its determination by HPLC technique.....	30
IZABELA PRZETACZEK, TERESA FORTUNA: Effect of microwave irradiation on rheological properties of starch hydrolysate solutions showing different degree of depolymerization	43
MAŁGORZATA PIECYK, MARTA KONARZEWSKA, IWONA SITKIEWICZ: Effect of hydrothermal modification of annealing type on some selected properties of starch pea (<i>Pisum sativum</i>)	58
ZBIGNIEW TAMBORSKI: Effect of temperature on water sorption isotherms of sugar	72
RENATA RÓŻYŁO, JANUSZ LASKOWSKI: Comparison quality features of wheat bread baked using straight and pre-fermented dough method	83
GENOWEFA BONCZAR, AGATA REGUŁA-SARDAT, HENRYK PUSTKOWIAK, ANETA ŻEBROWSKA: Effect of mixing of ewe's and cow's milk on bundz cheese properties.....	96
IZABELA CICHOCKA, TADEUSZ GRABIŃSKI: Psychographic – motivating profile of the Polish consumer of eco-food.....	107
ANNA STACHURA, PAWEŁ M. PISULEWSKI, ANETA KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA, RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ: Assessing the dietary intake level of total fats and fatty acids by high school students living in rural areas in the beskid żywiecki region.....	119
ELŻBIETA SIKORA, MIROSŁAW PYSZ, TERESA LESZCZYŃSKA: Changes in daily supply of basic groups of food products in households of pensioners in the years from 1989 to 2004 ...	132
GRAŻYNA MORKIS: Food Problems in Polish and EU Legislation.....	148
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Food Science Lexicon	150
STANISŁAW POPEK: Book reviews	152
ZBIGNIEW CZARNECKI, BOŻENA DANYLUK, JAN MICHNIEWICZ: The 39th Session of the Polish Committee on Food Sciences, Polish Academy of Science, "Progress in Food Manufacturing & Evaluation"	155
The Food Technologist.....	158

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 Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr 5 (66) naszego czasopisma. Zamieściliśmy w nim artykuły naukowe i materiały informacyjne, które, mamy nadzieję, spotkają się z Państwa uznaniem.

Powtarzamy nasz apel do Autorów, **cytujmy polskich autorów publikujących w „Żywności”** w artykułach kierowanych do czasopism zagranicznych, zwłaszcza z tzw. „listy filadelfijskiej”. Utrzymanie się naszego czasopisma na listach: **Science Citation Index Expanded** oraz **Journal Citation Reports/Science Edition** i otrzymanie Impact Factor (IF) będzie podstawą otrzymania odpowiedniej punktacji MNiSzW.

Kraków, październik 2009 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

RADOSŁAW DEMBCZYŃSKI, WOJCIECH BIAŁAS, TOMASZ JANKOWSKI

WYKORZYSTANIE DWUFAZOWEJ EKSTRAKЦИИ WODNEJ DO SEPARACJI LIZOZYMU Z BIAŁKA JAJA KURZEGO

Streszczenie

Wzrastające wymagania konsumentów sprawiają, że producenci żywności są coraz bardziej zainteresowani naturalnymi substancjami przeciwdrobnoustrojowymi, w miejsce powszechnie stosowanych chemicznych konserwantów. Spośród różnych, naturalnych substancji przeciwdrobnoustrojowych lizozym charakteryzuje się właściwościami hamującymi wzrost wielu bakterii chorobotwórczych, na przykład *Staphylococcus* i *Streptococcus*. W celu uzyskania handlowych preparatów lizozymu można stosować różne metody jego izolacji z białka jaja kurzego, choć nieliczne z nich wdrożono już do produkcji na skalę przemysłową. Należą do nich: wielokrotne wytrącanie za pomocą soli i krystalizacja, bezpośrednia ultrafiltracja i chromatografia jonowymienna. Ostatnio, w literaturze publikowane są informacje na temat badań nad ekstrakcją lizozymu z białka jaja kurzego w wodnych układach dwufazowych (ATPS) typu glikol polietylenowy (PEG)/roztwór soli. W porównaniu z innymi technikami separacji i oczyszczania białek, zastosowanie wodnych układów dwufazowych charakteryzuje się: krótkim czasem procesu separacji, niskim zużyciem energii, przebiegiem ekstrakcji w warunkach, które nie denaturują białek oraz stosunkowo łatwą możliwością powiększenia skali procesu. Jednak w układzie dwufazowym składającym się z glikolu polietylenowego (PEG) i roztworu soli, lizozym preferencyjnie migruje do fazy górnej wzbogaconej w PEG, co z kolei utrudnia dalszy odzysk tego enzymu. Proces separacji lizozymu w wodnych układach dwufazowych można uprościć i uczynić bardziej wydajnym poprzez zastosowanie zamiast glikolu polietylenowego (PEG) polimeru termoseparującego, zbudowanego z reszt oksyetylenu i oksypropylenu (EOPO), który tworzy fazę górną w układach dwufazowych z formującymi fazę dolną roztworami soli. W takim układzie dwufazowym, polimer EOPO zostaje oddzielony od wodnego roztworu oczyszczonego lizozymu w procesie termoseparacji polimeru, który, podobnie jak roztwór soli pozostały po pierwszym etapie procesu ekstrakcji dwufazowej, może być następnie wielokrotnie wykorzystywany.

Słowa kluczowe: lizozym, oczyszczanie białek, ekstrakcja dwufazowa, termoseparujące polimery

Lizozym i jego właściwości

Lizozym (N-acetylo-muramylohydrolaza, EC.3.2.1.17) jest białkiem enzymatycznym, które odkrył w drugiej dekadzie XX wieku A. Fleming. W organizmie czło-

Dr inż. R. Dembczyński, dr inż. W. Białas, prof. dr hab. T. Jankowski, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań

wieka enzym ten występuje głównie w ziarnistościach granulocytów wielojądrowych, monocytów oraz makrofagów. Znajduje się także w większości płynów tkankowych, oprócz: potu i płynu mózgowo-rdzeniowego. Wyizolowano go również z niektórych roślin, bakterii i bakteriofagów [40]. Bogatym i stosunkowo łatwo dostępnym źródłem tego enzymu jest białko jaj ptaków, w którym stanowi on około 3,5 % suchej substancji [10].

Lizozym wykazuje aktywność hydrolazy katalizującej rozrywanie wiązań β -1,4-glikozydowych pomiędzy cząsteczkami kwasu N-acetylmuraminowego i N-glukozaminą, dzięki czemu powoduje lizę ścian komórkowych bakterii, w tym częstych patogenów żywności, jak *Staphylococcus* i *Streptococcus*, oraz, zgodnie z ostatnimi doniesieniami literaturowymi, również patogenów grzybowych, wśród których wymienić można między innymi *Phytophthora nicotianae*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* czy *Candida albicans* [40]. W organizmie człowieka stanowi ponadto jeden z mechanizmów nieswoistej, humoralnej odpowiedzi immunologicznej [15]. Przypuszcza się, że stymuluje głównie produkcję limfocytów T obecnych w tkankach limfoidalnych związanych z układem pokarmowym (ang. gut-associated lymphoid tissue - GALT).

Zastosowanie lizozymu w przemyśle spożywczym

Stosownie do standardów FAO/WHO lizozym jest substancją dozwoloną do stosowania w niektórych artykułach żywnościowych [6]. Ze względu na wspomniane właściwości bakteriobójcze oraz bakteriostatyczne znajduje on zastosowanie przede wszystkim jako dodatek do żywności o charakterze substancji konserwującej [18, 26]. Dotyczy to głównie produkcji twardej serów dojrzewających, w których enzym ogranicza wzrost *Clostridium tyrobutyricum*, mikroorganizmu wytwarzającego znaczne ilości gazów odpowiedzialnych za technologicznie niekorzystne zjawisko tzw. wzdęcia sera. Dodatek lizozymu do przetworów rybnych, mięsnych oraz z mleka powoduje ponadto zahamowanie wzrostu niebezpiecznej dla człowieka bakterii *Listeria monocytogenes*, stanowiącej jedną z głównych przyczyn zakażeń żywności. Mleko wzbogacone w lizozym jest również używane w karmieniu wcześniaków cierpiących na różnego rodzaju infekcje [42]. Postęp, jaki dokonał się w ostatnich latach, w dziedzinie chemii polimerów pozwolił także na opracowanie nowych, biodegradowalnych i w pełni bezpiecznych dla konsumenta opakowań zawierających w swoim składzie lizozym [23]. Tego rodzaju opakowania umożliwiają znaczne przedłużenie trwałości produktów spożywczych, bez potrzeby stosowania dodatkowych zabiegów w postaci obróbki termicznej, radiacyjnej czy wysokociśnieniowej [11]. Obserwuje się także coraz większe zainteresowanie lizozymem ze strony przemysłu farmaceutycznego i kosmetycznego. Postuluje się wykorzystanie tego białka w terapii różnego rodzaju chorób, jak: zapalenie gardła, ucha środkowego, węzłów chłonnych, związanych

przede wszystkim z obecnością wyjątkowo niebezpiecznych bakterii zaliczanych do grupy gronkowców. Szczególnie interesujące wydają się być wyniki badań nad zastosowaniem preparatów farmaceutycznych zawierających lizozym oraz inne związki o właściwościach litycznych, produkowane przez owady określane mianem cekropin [3, 38]. Należy jednak zaznaczyć, że wyprodukowanie tego rodzaju preparatów przeznaczonych między innymi do zastosowań w warunkach klinicznych napotyka na pewne ograniczenia.

Największą aktywnością lityczną w stosunku do bakterii oraz wymienionych wyżej grzybów cechuje się lizozym typu c znajdujący się w komórkach ludzkich, bydłych oraz w białku jaj kurzych. W pierwszym przypadku brak jednak możliwości pozyskania tego enzymu w ilości, którą można by uznać za wystarczającą do zastosowań terapeutycznych, w drugim natomiast występuje poważne ryzyko zakażenia chorobami prionowymi, zaliczanymi do grupy pasażowalnych encefalopatii gąbczastych. Zdecydowanie najkorzystniej przedstawia się zatem idea pozyskiwania lizozymu z białka jaja kurzego i jak dotąd ten surowiec jest najczęściej wykorzystywany przemysłowo.

Tradycyjne metody separacji lizozymu

Ze względu na rosnące zainteresowanie przemysłu lizozymem jako naturalnym konserwantem, poszukuje się prostych i wydajnych metod jego separacji z białka jaja kurzego. Preparaty lizozymu można wytwarzać różnymi metodami, z których tylko kilka opracowano do stosowania w skali przemysłowej. Należą do nich kilkukrotne wysalanie i krystalizacja, bezpośrednia ultrafiltracja i chromatografia jonowymienna [5].

W Polsce, jak dotychczas, tylko jeden zakład wytwarza preparaty lizozymu z białka jaja kurzego przy użyciu technologii stanowiącej przedmiot ośmiu zastrzeżeń patentowych [17]. Technologia ta polega na procesie adsorpcji prowadzonej na wymienniczu jonowym o pH zbliżonym do naturalnego pH białka. Proces ten przebiega przy utrzymaniu stosunku wagowego suchego wymiennicza jonowego do białka lub jego roztworu od 1 : 10 do 1 : 3. Po procesie adsorpcji lizozymu, pozostałe składniki białka jaja są wmywane wodą ze złoża wymiennicza jonowego. W dalszej kolejności następuje desorpcja lizozymu ze złoża roztworami soli (NaCl) o stężeniu od 0,2 do 2,0 mol/dm³. W tym procesie, separowany enzym przechodzi do roztworu soli, który jest następnie zagęszczany metodą ultrafiltracji membranowej do uzyskania od 10 do 50 % wyjściowej objętości. Nadmiar soli usuwa się z użyciem dializy. Wartość liczbowa pH w zagęszczonym roztworze jest następnie ustalana na poziomie 3,5 do 7,0.

Istotną wadą tej technologii jest przede wszystkim duża liczba operacji jednostkowych wymaganych do przeprowadzenia pełnego cyklu produkcyjnego, co może niekorzystnie wpływać na końcową wydajność oraz aktywność wytwarzanego preparatu. Należy zauważyć, że wykorzystanie w procesie oczyszczania lizozymu wymienia-

czy jonowych o dużej wydajności jest związane z wysokimi nakładami inwestycyjnymi. Okres prawidłowego funkcjonowania złoża jest przy tym zależny od sposobu przygotowania surowca. Zgodnie z danymi przedstawionymi przez Guérin-Dubiard i wsp. [10], zastosowanie tradycyjnych wymienników jonowych pracujących w systemie upakowanego złoża wiąże się bowiem z koniecznością usunięcia z białka jaja podawanego oczyszczaniu owomucyny, glikoproteiny stanowiącej, podobnie jak lizozym, około 3,5 % wyjściowej masy surowca. Białko to, ze względu na skłonność do tworzenia struktur żelowych wytrąca się w kolumnie, co w rezultacie może prowadzić do jej zapychania i dużego spadku wydajności separacji. Usuwanie owomucyny jest zabiegiem wieloetapowym. W pierwszej kolejności ustala się pH białka jaja na poziomie 6,0, po czym poddaje się mieszaninę przez 24 h w celu wytrącenia owomucyny w postaci osadu, który następnie separuje się za pomocą wirowania lub filtracji. Etap ten można pominąć tylko wówczas, gdy stosuje się wymiennicze jonowe pracujące w systemie ekspansji złoża (ang. *expanded bed chromatography*, EBA), w którym surowiec przed przystąpieniem do oczyszczania podaje się jedynie dwu- lub trzykrotnemu rozcieńczeniu. Pomimo wielu zalet, system ten znajduje jak dotąd zastosowanie w produkcji substancji wykorzystywanych przez przemysł farmaceutyczny, w którym końcowa czystość jest kluczowym elementem decydującym o przydatności danego produktu. Wynika to przede wszystkim z wysokich kosztów zakupu odpowiednich wypełnień. Zakłada się, że wykorzystanie EBA jest zasadne wówczas, gdy separowana substancja jest bardzo droga, a jej zawartość w surowcu niewielka. Na całkowity koszt procesu mają także wpływ znaczne ilości wody oraz roztworów buforowych stosowanych podczas regeneracji i płukania złoża. Warto dodać, że proces desorpcji enzymu związanego z nośnikiem odbywa się poprzez elucję za pomocą roztworów o wysokim stężeniu chlorku sodu. W rezultacie stwarza to konieczność wykonania zabiegu odsalania uzyskanego eluatu za pomocą dializy, co również znacznie wydłuża proces i prowadzi do wzrostu kosztów wskutek zwiększonego zapotrzebowania na wodę. Uzyskany w wyniku tego zabiegu preparat poddaje się następnie procesowi zagęszczania na membranach ultrafiltracyjnych, których użyteczność, zgodnie z tym, co podkreślają autorzy omawianej technologii, wynika przede wszystkim z wysokiej selektywności, stosunkowo niskich nakładów inwestycyjnych wymaganych do uruchomienia instalacji oraz energetycznie korzystnych warunków prowadzenia procesu. Technika ta nie wymaga stosowania podwyższonej temperatury, separacja odbywa się bowiem z pominięciem przejść fazowych, charakterystycznych dla destylacji czy krystalizacji. Z przemysłowego punktu widzenia bardzo istotną zaletą tej metody jest również łatwość powiększania skali oraz możliwość integracji instalacji filtracyjnych z innymi urządzeniami pracującymi w danym ciągu technologicznym. Odpowiednia konstrukcja aparatury umożliwi również pracę w systemie ciągłym [30, 41]. Istotną niedogodnością, jaka pojawia się w przypadku stosowania ultrafiltracji w warunkach przemysłowych, jest

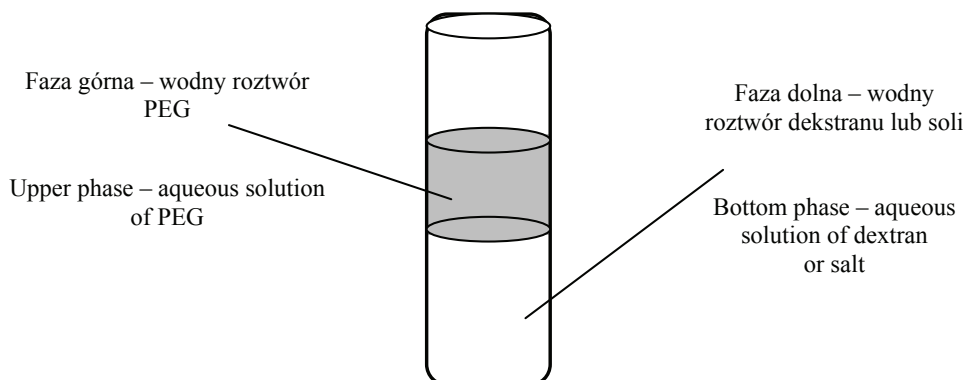
jednak postępujący w czasie spadek jej wydajności. Wielkość ta wyrażona jako strumień objętości filtratu jest bowiem ujemnie skorelowana z szybkością tzw. foulingu oraz tworzenia się warstwy polaryzacyjnej osadu (placka filtracyjnego) na powierzchni przegrody filtracyjnej. Jednocześnie warstwa ta tworzy się tym szybciej, im mniejsza jest szybkość przepływu stycznego nadawy nad membraną i wyższe ciśnienie transmembranowe oraz stężenie białek w zawiesinie [39]. Należy zatem przyjąć, że czas prowadzenia procesu bez przestojów przeznaczonych na regenerację membran jest funkcją stężenia białka w filtrowanym medium. Zgodnie z założeniem omawianej technologii ultrafiltracja ma na celu koncentrację produktu. Można przypuszczać, że w miarę wzrostu stężenia białka we frakcji docelowej zawierającej lizozym (retentat), wydajność procesu separacji będzie gwałtownie maleć, osiągając w chwili całkowitego zapchania stosowanych modułów ultrafiltracyjnych wielkość bliską zeru. Wobec tego prowadzenie produkcji w systemie ciągłym, będzie wymagało takiej konstrukcji układu separacyjnego, która pozwoli na jednoczesną regenerację membran i zagęszczanie produktu. Koszty stosowania procesów membranowych będą tym samym zależne od częstotliwości regeneracji modułów filtracyjnych, co skutkuje wzrostem zużycia wody oraz powstawaniem silnie zasadowego ścieku uciążliwego dla środowiska naturalnego, zawierającego znaczne ilości detergentów. W literaturze przedmiotu można również spotkać doniesienia na temat zastosowania ultrafiltracji do bezpośredniej separacji lizozymu z surowego białka jaja. Według opracowania Leśnierowskiego i Kijowskiego [18] metoda ta jest jednak mało skuteczna. Przy membranach o punkcie odcięcia (*ang. cut-off*) równym $30 \cdot 10^3$ Da odzysk enzymu oraz jego aktywność są zdecydowanie zbyt niskie, wynoszą bowiem odpowiednio 6,23 % oraz 7 408 U/mg. Wzrost wielkości porów w membranie, wyrażony w postaci wspomnianego punktu odcięcia z 30 do $100 \cdot 10^3$ Da, umożliwia zwiększenie stopnia odzysku do około 20 %, przy aktywności specyficznej wynoszącej 12 tys. U/mg. Uzyskany preparat zawiera znaczne ilości innych białek, co czyniło go całkowicie nieprzydatnym do celów komercyjnych, w tym również do zastosowań terapeutycznych.

Przedstawione powyżej problemy wskazują, że separacja lizozymu z białka jaja kurzego jest procesem złożonym, w którym bardzo istotną rolę odgrywają poszczególne operacje jednostkowe. O istotności zagadnień związanych z wyborem odpowiedniej metody separacji może świadczyć fakt, że szacowane koszty związane z izolacją i oczyszczaniem stanowią około 60 - 80 % nakładów ponoszonych na produkcję preparatu, przy czym wielkość ta nie uwzględnia kosztów zakupu surowców [9, 19, 25]. Uzasadnione wydaje się być zatem ciągle poszukiwanie nowych bądź udoskonalanie już istniejących metod.

Celem niniejszej pracy było przedstawienie możliwości jednej z nowych metod – ekstrakcji lizozymu w wodnych układach dwufazowych, w porównaniu z tradycyjnymi, już stosowanymi w praktyce.

Separacja lizozymu w wodnych układach dwufazowych

Wodne układy dwufazowe (ATPS) tworzone są najczęściej z niemieszających się ze sobą wodnych roztworów dwóch polimerów (np. glikol polietylenowy (PEG)/dekstran) lub roztworu polimeru i soli (np. PEG/fosforany lub siarczany), (rys. 1). W wodnych układach dwufazowych typu PEG/dekstran stężenie polimerów w obu fazach wynosi zazwyczaj 10 - 20 %. W układach składających się z PEG i soli, wodny roztwór glikolu polietylenowego (faza górna) ma zwykle stężenie 20 - 30 %, natomiast fosforany lub siarczany w fazie dolnej stężenie 10 - 15 % [27]. Z uwagi na to, że zawartość wody w ATPS wynosi zazwyczaj 80 - 95 %, układy te nie powodują denaturacji białek [18].



Rys. 1. Schemat tradycyjnych wodnych układów dwufazowych.

Fig. 1. The scheme of traditional aqueous two-phase systems.

Zachowanie się separowanych cząsteczek w ATPS podlega takim samym prawom, jak w ekstrakcji rozpuszczalnikami organicznymi. Obowiązuje więc tutaj zasada selektywnego rozpuszczania się separowanej substancji w fazach tworzących układ, wynikająca z jej różnego powinowactwa do określonej z faz, co wyraża się współczynnikiem podziału substancji pomiędzy fazy. W odniesieniu do białek, wielkość ta jest zależna od właściwości ekstrahowanego białka (hydrofobowość, ładunek elektryczny, kształt i masa cząsteczkowa), a także od rodzaju układu [2]. Zaletą wodnych układów dwufazowych jest duża łatwość modyfikacji współczynnika podziału separowanej substancji przez zmianę warunków separacji. Wielkość współczynnika podziału zależy m.in. od rodzaju polimeru zastosowanego do separacji, jego masy cząsteczkowej, pH i obecności soli w układzie. W przeciwieństwie do innych metod oczyszczania (np. chromatografii), skala separacji białek w wodnych układach dwufazowych łatwo się powiększa od objętości stosowanych w laboratorium do wielkości przemysłowych. Na przykład stwierdzono, że wydajność odzysku białek i wielkości współczynników

podziału były identyczne w układach o objętości 10 ml i 1200 litrów [31, 34]. Wodna ekstrakcja dwufazowa nie wymaga także inwestycji w bardzo kosztowną i skomplikowaną aparaturę. Proces oczyszczania białek tą metodą jest bardzo prosty i wygodny, dzięki czemu można uzyskać duże oszczędności nakładów pracy i zużytej energii. Pomimo tych niewątpliwych zalet, wodne układy dwufazowe nie są powszechnie stosowane w praktyce przemysłowej. Głównymi przyczynami są: brak wystarczających informacji na temat potencjalnych możliwości tej metody oraz niedostateczne zrozumienie mechanizmów związanych z formowaniem wodnych układów dwufazowych i podziałem separowanej substancji pomiędzy poszczególne fazy [31].

Podstawowy koszt ekstrakcji omawianą metodą stanowią odczynniki. W związku z tym, układy zawierające bardzo kosztowny dekstran (np. układ PEG/dekstran) stosowane są w procesach oczyszczania jedynie w skali laboratoryjnej [13, 20]. Dekstran próbuje się zastępować innymi, tańszymi polimerami, np. modyfikowaną skrobią i jej syntetycznymi pochodnymi [28, 37]. W literaturze przedmiotu podkreśla się jednak, że z powodu najniższych kosztów odczynników tworzących wodny układ dwufazowy, najkorzystniej jest stosować w dużej skali układy typu PEG/sól [1]. Najczęściej stosuje się ATPS typu PEG/fosforany [31]. Układ ten wykorzystano do separacji m.in. glukoamylazy, α -laktoalbuminy czy albuminy surowicy bydłowej [24, 32, 22]. Rzadziej są stosowane wodne układy dwufazowe typu PEG/siarczany czy PEG/cytryniany [12, 21].

Ratajczak i wsp. [29] zastosowali układ typu PEG/fosforany do separacji lizozymu z białka jaja kurzego. W trakcie ekstrakcji lizozym został zagęszczony 15-krotnie, a aktywność otrzymanego preparatu lizozymu wynosiła blisko 15 000 U/mg i była nieco wyższa od aktywności preparatu uzyskanego w trakcie ultrafiltracji na membranach o punkcie odcięcia $100 \cdot 10^3$ Da. Z kolei, Su i Chiang [35] do izolacji lizozymu z rozcieńczonego białka jaja kurzego wykorzystali układ typu PEG/siarczany. Wydajność procesu ekstrakcji wyniosła 70 %, a uzyskany preparat wykazywał aktywność 39 500 U/mg.

Lizozym zawiera stosunkowo dużo tryptofanu, dlatego podczas ekstrakcji w układach typu PEG/sól migruje on selektywnie do bardziej hydrofobowej fazy glikolu polietylenowego [20]. Po separacji, zagęszczony preparat lizozymu zawiera znaczną ilość glikolu polietylenowego, który można usunąć dopiero w kolejnych etapach oczyszczania za pomocą technik chromatograficznych lub membranowych. Zwiększa się jednak wtedy całkowity koszt procesu. Z tego powodu, ekstrakcja w wodnych układach dwufazowych typu PEG/sól jest często stosowana jako wstępna metoda zagęszczania i oczyszczania białek [16].

Obiecującym sposobem przezwyciężenia tych niedogodności może być zastosowanie do separacji lizozymu wodnych układów dwufazowych zawierających termoseparujące polimery. W ciągu ostatnich lat obserwuje się duży wzrost liczby prac badaw-

czych, w których wykorzystano termoseparujące polimery do izolacji białek w wodnych układach dwufazowych [31]. Najczęściej stosowano termoseparujące kopolimery oksyetylenu (EO) i oksypropylenu (PO). Wodne roztwory tych polimerów, po podgrzaniu powyżej tzw. temperatury mętnienia, rozdzielają się na dwie fazy: wodę i zagęszczony polimer. Na przykład, temperatura mętnienia popularnego EO50PO50, który zawiera 50 % oksyetylenu i 50 % oksypropylenu, wynosi ok. 50 °C. Można więc wykonać indukowaną termicznie separację lizozymu bez ryzyka utraty jego aktywności, ponieważ enzym ten jest termostabilny, nawet w znacznie wyższej temperaturze. Temperatura mętnienia tego rodzaju polimerów podlega jednak pewnym modyfikacjom. Zgodnie z danymi literaturowymi, jej wielkość jest odwrotnie proporcjonalna do zawartości reszt oksypropylenowych oraz stężenia niektórych soli rozpuszczonych w układzie dwufazowym [27].

W badaniach modelowych obserwowano migrację czystego lizozymu lub w mieszaninie z albuminą surowicy bydłowej w wodnych układach dwufazowych złożonych z EOPO o różnej zawartości oksyetylenu i oksypropylenu w cząsteczce oraz dekstranu lub modyfikowanej skrobi [14, 27, 36]. Ekstrakcja odbywała się w dwóch etapach. W pierwszym etapie, w tzw. pierwotnym układzie dwufazowym, lizozym selektywnie migrował do górnej fazy bogatej w EOPO. W drugim etapie oddzielano EOPO od dolnej fazy bogatej w dekstran lub skrobię, a następnie podwyższano temperaturę roztworu EOPO. W wyniku indukowanej termicznie separacji uzyskiwano wtórny układ dwufazowy złożony z wodnego roztworu lizozymu w górnej fazie i stężonego EOPO w dolnej (rys. 2). W cytowanych pracach szczegółowo opisano warunki formowania układów dwufazowych typu termoseparujący polimer - inny polimer. Stwierdzono m.in., że białka, które w trakcie separacji w pierwotnym układzie dwufazowym migrowały do fazy bogatej w termoseparujący polimer, po termoseparacji przechodziły w całości do fazy wodnej. Po termoseparacji, zagęszczony polimer nie zawierał więc żadnych białek i mógł być wielokrotnie użyty do wytworzenia pierwotnego układu dwufazowego [14].

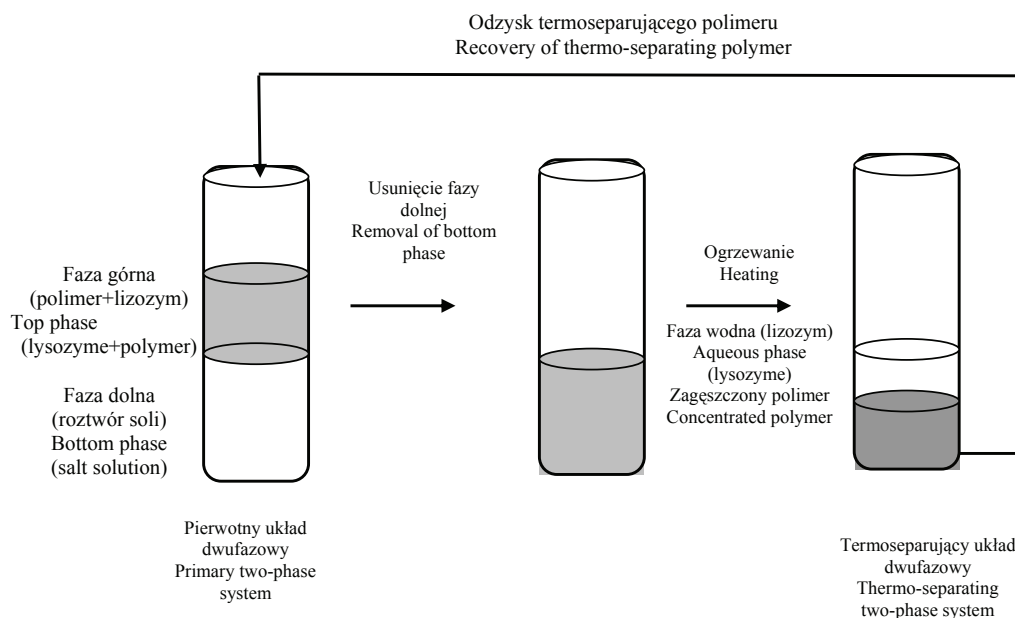
Separacja lizozymu jest więc skuteczna, jeśli współczynniki podziału tej substancji w pierwotnym układzie dwufazowym są bardzo wysokie. Oznacza to jego selektywną migrację do górnej fazy zawierającej EOPO. Tymczasem Johansson i wsp. [14] w układzie złożonym z dekstranu T500 oraz EO50PO50 lub EO30PO30 uzyskali współczynniki podziału lizozymu niewiele wyższe od jedności, co oznaczało prawie równomierny rozkład jego stężeń w obu fazach. Współczynniki podziału zwiększały się, gdy do omówionych układów wprowadzano różne sole (NaCl, NaI, NaClO₄). Najlepsze rezultaty uzyskano przy stosowaniu układów zawierających NaClO₄, w których współczynnik podziału osiągał 10. Svensson i wsp. [36] uzyskali podobne wyniki, gdy do pierwotnego układu dwufazowego o pH 3,1 dodano NaClO₄. Dolną fazę także tworzył dekstran T500, natomiast termoseparującym polimerem w górnej fazie był Pluro-

nic, kopolimer zbudowany z naprzemiennie ułożonych trzech bloków: poli-EO, poli-PO i ponownie poli-EO. Z kolei, dodatek do układu innych substancji (fosforan sodu, octan sodu, kwas glutaminowy, alanina) okazał się niecelowy, ponieważ współczynnik podziału lizozymu obniżał się poniżej jedności. W górnej fazie zawierającej Pluronic obserwowano więc niższe stężenie izolowanego enzymu w porównaniu z dolną fazą dekstranu. Można przypuszczać, że wydajność izolacji była niewielka, gdyż jedynie lizozym obecny w górnej fazie mógł być przeniesiony do fazy wodnej w trakcie indukowanej termicznie separacji polimeru. Podobną zależność w układzie EO50PO50-skrobia hydroksypropylova obserwowali Persson i wsp. [27]. W pierwotnym układzie z dodatkiem NaClO_4 , wyższe stężenie lizozymu występowało w fazie zawierającej termoseparujący polimer (współczynnik podziału około 6). Gdy jednak NaClO_4 zastąpiono innym związkiem (NaCl), lub do separacji zastosowano układ dwufazowy nie zawierający żadnych soli, lizozym migrował selektywnie do fazy dolnej zawierającej modyfikowaną skrobię. W żadnej z omawianych prac autorzy nie podali jednak, jaka była wydajność odzysku lizozymu w badanych próbach. Trudno więc ocenić, jaka jest praktyczna przydatność tego typu układów do ekstrakcji lizozymu ze złożonej mieszaniny białek w większej skali.

Białas i wsp. [4] zbadali separację lizozymu w dwufazowym układzie ekstrakcyjnym EOPO/fosforany w warunkach modelowych. Autorzy zastosowali statystyczną metodę płaszczyzny odpowiedzi w celu optymalizacji parametrów separacji, gdzie czynnikami optymalizowanymi były: stężenie EOPO, fosforanów oraz NaCl , a także pH roztworu fosforanów. Określono wpływ tych czynników na współczynnik podziału oraz wydajność odzysku lizozymu w układzie pierwotnym oraz po termoseparacji EOPO w fazie górnej układu pierwotnego.

Opracowane wcześniej optymalne warunki separacji lizozymu w układzie dwufazowym EOPO/fosforany [4], zostały wykorzystane do izolacji lizozymu z białka jaja kurzego [7, 8]. Aktywność właściwa uzyskanych preparatów lizozymu wynosiła 35 000 - 40 000 U/mg białka, zaś maksymalna wydajność odzysku białka nawet 90 %. Dodatkowo zwiększono skalę procesu ekstrakcji lizozymu w ten sposób, że objętość wprowadzanego do układu dwufazowego białka jaja kurzego wynosiła do 1/3 całkowitej objętości układu dwufazowego. Ogromną zaletą zastosowanego układu EOPO/fosforany była możliwość wielokrotnego wykorzystania zarówno polimeru EOPO (odzyskanego w trakcie termoseparacji), jak i fosforanów. Zwiększająca się w trakcie kolejnych ekstrakcji ogólna zawartość białka w ponownie wykorzystywanym roztworze fosforanów, wynikająca z gromadzenia się w nim innych białek jaja, nie była czynnikiem wpływającym negatywnie na proces ekstrakcji lizozymu. Wykorzystanie termoseparujących polimerów oraz tanich soli w miejsce często stosowanego, lecz kosztownego dekstranu, może więc w przyszłości umożliwić zastosowanie eks-

trakcji w wodnych układach dwufazowych do separacji i oczyszczania lizozymu oraz innych białek na skalę przemysłową.



Rys. 2. Schemat metody ekstrakcji lizozymu w wodnym układzie dwufazowym zawierającym termoseparujący polimer.

Fig. 2. Diagram of extraction method of lysozyme in aqueous two-phase system containing thermo-separating polymer.

Podsumowanie

Z punktu widzenia skuteczności separacji, łatwości powiększania skali procesu i biokompatybilności, dwufazowa ekstrakcja wodna jest prostą i wydajną metodą do separacji białek z układów złożonych. Ekstrakcja w dwufazowych roztworach wodnych jest w wielu przypadkach alternatywą dla istniejących technologii, szczególnie na początkowym etapie wielkoskalowej izolacji białek. Przy właściwej optymalizacji umożliwia jednoczesne separowanie, zagęszczanie i oczyszczanie, zmniejszając w ten sposób liczbę operacji jednostkowych i poprawiając wydajność i ekonomikę procesu. Niezależnie od tego, jej powszechne zastosowanie zależy od lepszego zrozumienia molekularnych mechanizmów rządzących zachowaniem się separowanych substancji w układzie dwufazowym oraz empirycznego ustalenia warunków operacyjnych.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2007-2009 jako projekt badawczy (projekt Nr N312 057 32/2844).

Literatura

- [1] Asenjo J.A., Chaudhuri J.W.: Innovative separation methods in bioprocessing. In: Separation processes in the food and biotechnology industries - ed. by A.S. Grandison, M.J. Lewis. Woodhead Publ. Ltd., Cambridge 1996, pp. 179-206.
- [2] Asenjo J.A., Turner R.E., Mistry S.L., Kaul A.: Separation and purification of recombinant proteins from *E. coli* using aqueous two-phase systems. *J. Chromatogr. A*, 1994, **668**, 129-137.
- [3] Baldridge G.D., Kurtti T.J., Munderloh U.G.: Susceptibility of *Rickettsia monacensis* and *Rickettsia peacockii* to cerropin A, ceratotoxin A and lysozyme. *Curr. Microbiol.*, 2005, **51**, 233-238.
- [4] Białas W., Dembczyński R., Regulski K., Jankowski T.: Optymalizacja warunków separacji lizozymu w układzie dwufazowym EOPO/fosforany. *Mat. III Krajowego Kongresu Biotechnologii nt. „Biotechnologia – człowiek i środowisko, Poznań 2007*, s. 167.
- [5] Chang H.-M., Yang C.-C., Chang Y.-C.: Rapid separation of lysozyme from chicken egg white by reductants and thermal treatment. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 161-164.
- [6] Codex General Standard for Food Additives, 2007, <http://www.codexalimentarius.net>
- [7] Dembczyński R., Białas W., Regulski K., Jankowski T.: Wielokrotne wykorzystanie składników układu dwufazowego EOPO/fosforany w procesie ekstrakcji lizozymu z białka jaja kurzego. *Mat. III Krajowego Kongresu Biotechnologii nt. „Biotechnologia – człowiek i środowisko”*, Poznań 2007, s. 166.
- [8] Dembczyński R., Białas W., Regulski K., Jankowski T.: Wykorzystanie termoseparujących polimerów do ekstrakcji białka z układów złożonych na przykładzie lizozymu. *Mat. I Sympozjum Inżynierii Żywności, Warszawa 2008*, s. 120.
- [9] Dyr J.E., Suttner J.: Separation used for purification of recombinant proteins. *J. Chromatogr. B*, 1997, **699**, 383-401.
- [10] Guérin-Dubiard C., Pasco M., Hietanen A., Quiros del Bosque A., Nau F., Croguennec T.: Hen egg white fractionation by ion-exchange chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2005, **1090**, 58-67.
- [11] Han J.H.: Antimicrobial food packaging. *Food Technol.*, 2000, **54**, 56-65.
- [12] Harris D.P., Andrews, A.T., Wright G., Pyle D.L., Asenjo J.A.: The application of aqueous two-phase systems to the purification of pharmaceutical proteins from transgenic sheep milk. *Bioseparation*, 1997, **7**, 31-37.
- [13] Johansson G., Reczey K.: Concentration and purification of β -glucosidase from *Aspergillus niger* by using aqueous two-phase partitioning. *J. Chromatogr. B*, 1998, **711**, 161-172.
- [14] Johansson H.-O., Lundth G., Karlstrom G., Tjerneld F.: Effects of ions on partitioning of serum albumin and lysosyme in aqueous two-phase systems containing ethylene oxide/propylene oxide copolymers. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996, **1290**, 289-298.
- [15] Jolle's P., Jolle's J.: What's new in lysozyme research? Always a model system, today as yesterday. *Mol. Cell. Biochem.*, 1984, **63**, 165-189.
- [16] Kepka C., Collet E., Roos F., Tjerneld F., Veide A.: Two-step recovery process for tryptophan tagged cutinase: Interfacing aqueous two-phase extraction and hydrophobic interaction chromatography. *J. Chromatogr. B*, 2005, **1075**, 33-41.
- [17] Kopeć W., Chrzanowska J., Karkoszka K., Lorenc J., Polanowski A., Szalak T., Trziszka T.: Sposób otrzymywania preparatu soli lizozymu. *BUP*, 2000, 15 (693).
- [18] Leśniewski G., Kijowski J.: Otrzymywanie lizozymu z białka jaja kurzego metodą bezpośredniej ultrafiltracji. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **2 (23)**, 60-69.
- [19] Lienqueo M.E. and Asenjo J.A.: Use of expert systems for the synthesis of downstream protein processes. *Comput. Chem. Engng.*, 2000, **24**, 2339-2350.


- [20] Lu M., Tjerneld F.: Interaction between tryptophan residues and hydrophobically modified dextran. Effect on partitioning of peptides and proteins in aqueous two-phase systems. *J. Chromatogr. A*, 1997, **766**, 99-108.
- [21] Marcos J.C., Fonseca L.P., Ramalho M.T. and Cabral J.M.S.: Variation of penicillin acylase partition coefficient with phase ratio in poly(ethyleneglycol)-sodium citrate aqueous two phase systems. *J. Chromatogr. B*, 1998, **711**, 295-299.
- [22] Mattiason B.: Applications of aqueous two-phase systems in biotechnology. *Trends in Biotechnol.*, 1983, **1** (1), 16-21.
- [23] Mecitoğlu C., Yemencioğlu A., Arslanoğlu A., Elmaci Z.S., Korel F., Çetin A.E.: Incorporation of partially purified hen egg white lysozyme into zein films for antimicrobial food packaging. *Food Res. Int.*, 2006, **39**, 12-21.
- [24] Minami N.M., Kilikian B.V.: Separation and purification of glucoamylase in aqueous two-phase systems by a two-step extraction. *J. Chromatogr. B*, 1998, **711**, 309-312.
- [25] Owen R.O., Chase H.A.: Direct purification of lysozyme using continuous counter-current expanded bed adsorption. *J. Chromatogr. A*, 1997, **757**, 41-49.
- [26] Panfil-Kuncewicz H.: Charakterystyka lizozymu i możliwości jego zastosowania w przemyśle spożywczym. *Żyw. Człow. Metab.*, 1988, **15**, 218-222.
- [27] Persson J., Kaul A., Tjerneld F.: Polymer recycling in aqueous two-phase extractions using thermoseparating ethylene oxide-propylene oxide copolymers. *J. Chromatogr. B*, 2000, **743**, 115-126.
- [28] Pietruszka N., Galaev I.Y., Kumar A., Brzozowski Z.K., Mattiasson B.: New polymers forming aqueous two-phase polymer systems. *Biotechnol. Prog.*, 2000, **16**, 408-415.
- [29] Ratajczak P., Białas W., Dembczyński R., Grajek W., Jankowski T.: Ekstrakcja dwufazowa lizozymu z białka jaja kurzego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3** (40), 40-52.
- [30] Ripperger S., Altmann J.: Crossflow microfiltration – state of the art. *Sep. Purif. Technol.*, 2002, **26**, 19-31.
- [31] Rito-Palomares M.: Practical application of aqueous two-phase partition to process development for the recovery of biological products. *J. Chromatogr. B*, 2004, **743**, 3-11.
- [32] Rito-Palomares M., Dale C., Lyddiat A.: Generic application of an aqueous two phase process for protein recovery from animal blood. *Process. Biochem.*, 2000, **35**, 655-673.
- [33] Rito-Palomares M., Hernandez M.: Influence of system and process parameters on partitioning of cheese whey proteins in aqueous two-phase systems. *J. Chromatogr. B*, 1998, **711**, 81-90.
- [34] Selber K., Tjerneld F., Collen A., Hyytia T., Setälä., Bailey M., Fagerstrom R., Kann J., van der Laan J., Penttilä M., Kula M.-R.: Large-scale separation and production of engineered proteins, designed for facilitated recovery in detergent-based aqueous two-phase extraction systems. *Process. Biochem.*, 2004, **39**, 889-896.
- [35] Su C.-K., Chiang B.H.: Partitioning and purification of lysosyme from chicken egg white using aqueous two-phase system. *Process. Biochem.*, 2006, **41**, 257-263.
- [36] Svensson M., Berggren K., Veide A., Tjerneld F.: Aqueous two-phase systems containing self-associating block copolymers. Partitioning of hydrophilic and hydrophobic biomolecules. *J. Chromatogr. A*, 1999, **839**, 71-83.
- [37] Venancio A., Almeida C., Teixeira J.A.: Enzyme purification with aqueous two-phase systems: comparison between systems composed of pure polymers and systems composed of crude polymers. *J. Chromatogr. B*, 1996, **680**, 131-136.
- [38] Veronesi P.A., Rodriguez P.E.A.: Use of modified lysozyme C to prepare medicinal compositions for the treatment of some serious diseases. United States Patent: 7,012,062, March 14, 2006.
- [39] Wakeman R.J., Williams C.J.: Additional techniques to improve microfiltration. *Sep. Purif. Technol.*, 2002, **26**, 3-18.

- [40] Wang S., Bung T., Chen T., Lin D., Wu J., Rao P., Ye X.: First report of a novel plant lysozyme with both antifungal and antibacterial activities. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, **327**, 820-827.
- [41] Yuen C.C., Santosh A., Gupta K., Ray A.K.: Multi-objective optimization of membrane separation modules using genetic algorithm. *J. Membr. Sci.*, 2000, **176**, 177-196.
- [42] Zimecki M., Artym J.: Właściwości terapeutyczne białek i peptydów z siary i mleka. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005, **59**, 309-323.

APPLICATION OF AQUEOUS TWO-PHASE EXTRACTION TO SEPARATE LYSOZYME FROM HEN EGG WHITE

S u m m a r y

The increasing demands of consumers cause the manufacturers of food to be more and more interested in replacing commonly used chemical preservatives with natural antimicrobial substances. Among various natural antimicrobial substances, the lysozyme is characterized by properties inhibiting the growth of many pathogenic bacteria, such as *Staphylococcus* and *Streptococcus*. Different methods can be applied to separate lysozyme from hen egg white in order to obtain its commercial preparations; however, only a few have been already implemented in the industrial-scale production. They are: repeated salt precipitation and crystallization, direct ultrafiltration and ion-exchange chromatography. Recently, in the expert literature, information has been published referring to researches into the lysozyme extraction from hen egg white using aqueous two-phase systems (ATPS) such as polyethylene glycol (PEG)/salt solution. As compared to other separation and purification techniques of egg white, the application of aqueous two-phase systems is characterized by the following: short time of separation process, low energy consumption, the extraction process progresses under the conditions causing no denaturation of proteins, and a possibility to relatively easily scale-up the entire process. However, in the system composed of polyethylene glycol (PEG) and salt solution, the lysozyme preferentially migrates to the PEG-rich top-phase, and, therefore, it is difficult to subsequently recover this enzyme. The process of separating lysozyme in ATPSs can be simplified and made more efficient if a thermo-separating polymer is used instead of polyethylene glycol (PEG). The thermo-separating polymer is composed of ethylene oxide-propylene oxide (EOPO) forming the top phase in the two-phase systems with salt solutions forming the bottom phase. In this two-phase system, the EOPO polymer is separated from the aqueous solution of the purified lysozyme during a thermo-separation process of the polymer, which can be repeatedly applied just as the salt solution left after the first stage of the two-phase extraction.

Key words: lysozyme, purification of proteins, two-phase extraction, thermo-separating polymers 

ARTUR SZWENGIEL, MARIA CZARNECKA, LEONARDA GRUCHAŁA,
ZBIGNIEW CZARNECKI

WŁAŚCIWOŚCI I ZASTOSOWANIE LEWANU

Streszczenie

Lewan jest wielkocząsteczkowym β -(2 \rightarrow 6)-fruktofuranosylo-fruktanem z β -(2 \rightarrow 1) terminalną resztą przyłączoną do α -glukopiranozy. Wiedza o występowaniu, biosyntezie i właściwościach tego fruktanu jest obszerna. Wyniki badań wskazują na duży aplikacyjny potencjał lewanu i produktów jego hydrolizy w obszarze żywności o właściwościach prozdrowotnych. Głównymi czynnikami ograniczającymi zastosowanie lewanu w żywieniu jest jego dostępność i brak jednoznacznych wyników dotyczących kompleksowego oddziaływania lewanu na organizm człowieka i/lub zwierząt doświadczalnych. Praca jest studium dotyczącym wskaźników prozdrowotnego działania lewanu i niektórych lewanooligosacharydów. Dokonano również przeglądu możliwości zastosowania lewanu.

Słowa kluczowe: lewan, prebiotyki, SCFA, przeciwnowotworowe właściwości, funkcjonalne cechy

Wprowadzenie

Polisacharydy powszechnie występują w świecie roślin i stanowią dla organizmu człowieka źródło energii i/lub błonnika pokarmowego. W produktach żywnościowych mogą być rozpatrywane jako składniki o określonej wartości odżywczej, a także o zdefiniowanych funkcjach technologicznych, które ściśle związane są z ich właściwościami fizykochemicznymi. Współcześnie obserwuje się, że część konsumentów oczekuje, aby żywność była nie tylko źródłem podstawowych składników odżywczych, ale by również zawierała naturalne prozdrowotne składniki. Postawy części konsumentów inspirują producentów do projektowania i wytwarzania produktów żywnościowych zawierających składniki prozdrowotne (i/lub składniki funkcjonalne).

Szczególnie interesującą grupą związków są krótko- i długołańcuchowe fruktany, czyli di- (inulobioza, lewanobioza), oligo- (1-kestoza, 6-kestoza, 6_G-kestoza) oraz polimery (inulina, lewan) fruktozy. Najpowszechniej znanym fruktanem, stymulującym

efekty prozdrowotne jest inulina – β -(2→1)-glikozyd, który obecnie stanowi składnik wielu produktów mlecznych oraz suplement diety.

Lewan jest fruktanem syntetyzowanym przez wiele bakterii, u których stanowi egzośluz, występuje także w niewielkich ilościach w roślinach jednoliściennych, w skali laboratoryjnej pozyskiwany jest w procesach biotechnologicznych. Zbudowany jest z reszt fruktozy połączonych wiązaniami β -(2→6)-glikozydowymi, które nie są rozkładane przez enzymy trawienne w organizmie człowieka, dlatego przypuszcza się, że może on stanowić czynnik bifidogenny. Brak wystarczających danych doświadczalnych nie pozwala jednoznacznie zaklasyfikować ten polimer jako prebiotyku. Lewan w przeciwieństwie do inuliny nie tworzy struktury żelu, cechuje się wysoką masą cząsteczkową i m.in. dlatego poza wzmiankowanym aspektem bifidogennym rozważa się także szereg potencjalnych aplikacji w zakresie modyfikacji konsystencji, przyczepności i spójności produktów spożywczych.

Prebiotyki i probiotyki, żywność funkcjonalna – pojęcia podstawowe

Prebiotyki to niestrawne składniki żywności, które korzystnie wpływają na gospodarza przez selektywną stymulację wzrostu i/lub modyfikację aktywności metabolicznej jednego lub określonej liczby gatunków bakterii obecnych w okrężnicy [24]. Z prebiotykami powiązane są probiotyki, czyli niepatogenne mikroorganizmy, głównie pochodzenia ludzkiego, których przyjmowanie w odpowiednich ilościach skutkuje korzyściami zdrowotnymi dla gospodarza i umożliwia przeciwdziałanie określonym schorzeniom lub też polepsza stan chorego przy niektórych dolegliwościach zdrowotnych [19]. Synbiotykiem natomiast jest kombinacja probiotyku z prebiotykiem, w ogólnym założeniu korzystnie modyfikuje mikroflorę jelitową i jej metabolizm. Sugeruje się, że prebiotyki mogą podwyższać przeżywalność bakterii probiotycznych podczas przejścia przez górne odcinki przewodu pokarmowego i tym samym wzmagać pozytywne efekty w jelicie grubym, a indywidualne zalety pre- i probiotyków mogą być addytywne lub też działać synergistycznie [5]. Często utożsamia się pojęcie prebiotyku z czynnikiem bifidogennym i w pewnym zakresie są to zagadnienia zbieżne z zastrzeżeniem, że czynnik bifidogenny stymuluje jedynie wzrost bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* zatem jest zawężonym znaczeniowo prebiotykiem [38]. W obrębie tych pojęć funkcjonują tzw. składniki prozdrowotne, które obejmują ogół zdefiniowanych składników oddziałujących pośrednio lub też bezpośrednio na organizm człowieka, wywołując w efekcie poprawę stanu zdrowia/samopoczucia. Zwięzły termin obejmujący produkty żywnościowe o działaniu prozdrowotnym stanowi pojęcie żywności funkcjonalnej, czyli produktów, których prozdrowotne oddziaływanie i/lub zmniejszenie ryzyka chorób zostało udowodnione naukowo. W tym kontekście pro- i prebiotyki stanowią jeden z obszarów badań nad funkcjonalnymi składnikami żywności [19].

Celem niniejszej pracy jest przybliżenie odpowiedzi na pytanie – czy lewan ze względu na swoje potencjalnie korzystne oddziaływanie na organizm człowieka może w przyszłości stanowić wartościowy składnik żywności funkcjonalnej?

Należy zatem przybliżyć pokrótce docelowe funkcje powiązane z fizjologią przewodu pokarmowego i wskaźnikami, które je wyznaczają. I tak, niestrawnym sacharydom, w tym i prebiotykom, przypisuje się wpływ na: optymalizację perystaltyki jelit i formowanie stolca (wskaźnikami są masa, konsystencja i forma stolca, częstotliwość wypróżniania oraz czas przejścia masy kałowej), skład mikroflory okrężnicy (wyznacznikiem jest skład mikroflory i jej aktywność enzymatyczna/metaboliczna), funkcjonowanie tkanki limfatycznej w obrębie przewodu pokarmowego (GALT) (obiektywnymi markerami są immunoglobuliny A i cytokiny), procesy fermentacyjne (określa się jakościowo i ilościowo profil krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) oraz produkcję takich gazów, jak H_2 , H_2S), ciągłość błon śluzowych jelit (wskaźnikami są markery komórkowe, enzymy błony śluzowej, status redox) [16]. Tylko niektóre ze wzmiankowanych aspektów zgłębiono dotychczas w badaniach nad lewanem. Prezentowane w literaturze dane eksperymentalne często nie dają wystarczającej i jednoznacznej odpowiedzi, która pozwoliłaby wskazać na kierunek i efekty, jakie może przynieść dieta zawierająca lewan. Poniżej przybliżono stan wiedzy na temat właściwości i potencjalnych aplikacji lewanu.

Właściwości lewanu

Fruktany są szeroko rozpowszechnione w królestwie roślin i mogą być dostarczane do organizmu człowieka z pszenicą, cebulą, czosnkiem, bananami, topinamburem, karczochami, szparagami [44]. Inulina pozyskiwana jest głównie z korzeni cykorii (*Cichorium intybus*) i topinamburu (*Helianthus tuberosus*) [22]. Często β -(2,1)-glikozydowe sacharydy są nazywane dietetycznymi fruktanami, FOS lub też oligofruktozą. Polisacharydy te różnią się jednak zarówno stopniem polimeryzacji, jak i typem wiązań chemicznych. Znane są również fruktany typu *graminan* (o wiązaniach mieszanych), występujące najpowszechniej w rodzinie *Gramineae* (wiechlinowate). Do rodziny tej należą również rośliny uprawne, w tym zboża [10]. Zawierają one zarówno wiązania β -(2,1)- i β -(2,6)-glikozydowe, podczas gdy lewan to fruktan, jak wzmiankowano powyżej, zawierający w łańcuchu głównym wiązania β -(2,6)-glikozydowe, a w rozgałęzieniach β -(2,1)-glikozydowe [30].

Liniowe i rozgałęzione fruktany serii 1-kestozy (β -(2,1)-FOS) oraz serii 6-kestozy (β -(2,6)-FOS) występują w wielu produktach żywnościowych. Zidentyfikowano 6_G-kestozę i 6-kestozę oraz tetra- i pentasacharydy jako główne ekstrahowane fruktany z mąki pszennej [33]. Komercyjne preparaty inuliny z cykorii oraz *Dahlia juarezzii* zawierają również wiązania β -(2,6)-glikozydowe (około 2 %) [10]. Dlatego lewan pozyskiwany z podłoży hodowlanych bakterii [40] lub też w wyniku syntez *in vitro* [39]

nie stanowi dla organizmu człowieka obcego strukturalnie związku i nie powinien wzbudzać u konsumentów żadnych uprzedzeń.

Szczegółowe studium odnośnie syntezy i właściwości fizykochemicznych lewanu, łącznie z charakterystyką mas cząsteczkowych jest przedmiotem pracy przeglądowej Szwengiel i innych (2009) [41]. Jakkolwiek należy nadmienić, że lewan jest związkiem, którego potencjalne właściwości prozdrowotne są zdecydowanie w większym zakresie eksponowane w literaturze, aniżeli jego właściwości fizykochemiczne. Korporacja Montana Biotech SE (Inc. Rock Hill, USA) w przeciągu kilku najbliższych miesięcy planuje rozpocząć produkcję lewanu na drodze biosyntezy z udziałem szczepu bakterii z rodzaju *Bacillus* (produkcja – Shanhai, Chiny). Produkt dostępny ma być w postaci białych płatków i zgodnie z deklaracją producenta cieszy się dużym zainteresowaniem ze strony przemysłu kosmetycznego. Zdefiniowane właściwości fizykochemiczne produktu to niska lepkość wodnych roztworów o stężeniu poniżej 20 %. W przedziale od 20 do 40 % tworzy gęstą pastę, mieszaniny o stężeniu powyżej 50 % mają konsystencję gumy. Punkt topnienia tego lewanu to temp. 225 °C, a zeszklenia 138 °C. Polimer ten jest stabilny podczas autoklawowania i degradowany w warunkach kwasowych. Nie jest cytotoksyczny – zawartość endotoksyn poniżej 615 U/ml – co stanowi zaledwie 50 % ogólnej puli endotoksyn zawartych w handlowym preparacie gumy ksantanowej [34].

Lewan wykazuje niskie wartości lepkości granicznej w odniesieniu do innych polimerów o porównywalnie wysokiej masie cząsteczkowej. Lepkość graniczna wodnych roztworów lewanu mieści się w zakresie od 0,07 do 0,18 dl/g [2]. Typowe natomiast komercyjne polisacharydy, jak: κ -karragen, galaktomannan, ksantan, celuloza hydroksypropylometylenowa, guma guarowa wykazują lepkość graniczną w zakresie od 5 do 50 dl/g [2, 7, 11, 18, 25].

Prozdrowotne właściwości lewanu

Prebiotyki, jak wspomniano wyżej, mogą selektywnie stymulować szczególną florę jelita grubego, w tym przede wszystkim bakterie fermentacji mlekowej należące do rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, które wywierają pozytywny wpływ na gospodarza [13]. Związki te powinny również hamować wzrost niepożądanych mikroorganizmów (*Clostridium* i *Bacteroides*). Przypisuje się prebiotycznym węglowodanom często wciąż nie do końca potwierdzony wpływ na organizm człowieka, tj. ochronę przed infekcjami jelitowymi, modulację reakcji (odpowiedzi) systemu immunologicznego, przeciwdziałanie nowotworowi okrężnicy, redukcję poziomu cholesterolu w surowicy krwi oraz poprawę biodostępności składników żywności [23]. Obecnie powszechnie promuje się metody selektywnej stymulacji wzrostu i aktywności bifidobakterii w jelicie poprzez suplementację diety gospodarza specyficznymi, tzw. czynnikami bifidogennymi. Bifidogenne oligosacharydy to m.in. β -galaktozo-oligosacharydy

[6], α -D-galaktozo-oligosacharydy [43] oraz jedne z ważniejszych – fruktooligosacharydy (FOS) typu inuliny [14, 15, 20].

Znane są dotychczas jedynie rezultaty badań *in vitro* dotyczących oporności lewanu na proces trawienny w wyższych odcinkach przewodu pokarmowego. Inkubacja β -(2,6)-FOS kolejno z różnymi amylazami (amylazą ślinową, trzustkową oraz amyloglukozydazą) i proteazami (pepsyną, pankreatyną, trypsyną) dowodzi wysokiej biooporności tego polimeru w górnych odcinkach przewodu pokarmowego – odzyskiwano powyżej 80 % β -(2,6)-FOS [30].

Szczepy z rodzaju *Bifidobacterium* wykorzystują β -(2,6)-FOS w zróżnicowanym stopniu. Spośród pięciu testowanych szczepów jedynie *Bifidobacterium adolescentis* był zdolny wykorzystywać zarówno krótko-, jak i długołańcuchowe formy lewanu [30]. Wcześniejsze badania [30, 32] dowodziły, że bifidobakterie nie metabolizują lewanu o wysokiej masie cząsteczkowej. Badania pozaustrojowe nad wpływem lewanu z *Erwinia herbicola* na skład flory jelitowej z użyciem ludzkich fekaliiów nie dowiodły bifidogenego działania lewanu. Użyty fruktan nie powodował wzrostu liczby bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, natomiast w nieznacznym stopniu stymulował wzrost *Enterococcus* i *Clostridium*, a hamował wzrost *Bacteroides* [3]. Również oligomery lewanu o zmodyfikowanym stopniu polimeryzacji nie były fermentowane przez szczepy *Bifidobacterium* [46]. Rozbieżności te tłumaczy się różnicami w masie cząsteczkowej zastosowanych lewanów. Określono, że masa cząsteczkowa około 3200 Da jest czynnikiem limitującym wykorzystanie lewanu przez testowane szczepy bakteryjne [30]. Wcześniej odnotowywane obserwacje wydają się być tym bardziej słuszne, że i polimery inuliny o masach cząsteczkowych wyższych niż 4500 Da nie były wykorzystywane przez *Bifidobacterium infantis* [48]. Obserwacje niezależnych autorów potwierdzają, że stopień wykorzystania inuliny przez bifidobakterie zależy od stopnia polimeryzacji i czystości preparatów [5]. Głównymi czynnikami decydującymi o podatności sacharydów na procesy fermentacyjne są: struktura, rodzaj monomerów tworzących cząsteczkę, stopień polimeryzacji oraz prawdopodobnie stopień rozgałęzienia, jak również rozpuszczalność w wodzie [4]. W tym kontekście sugestia, że masa cząsteczkowa lewanu decyduje o jego degradacji przez bakterie, a nie rodzaj wiązań pomiędzy podjednostkami fruktozowymi, wydaje się być uzasadniona. Słuszną wydaje się być również hipoteza, że hydroliza długołańcuchowych cząsteczek może stanowić przeszkodę przestrzenną dla centrum aktywnego enzymów hydrolitycznych [30]. Zatem dane literaturowe o potencjale degradacyjnym i specyficzności substratowej poszczególnych szczepów bifidobakterii są niezmiernie ważne, ponieważ w przyszłości pozwolą zaprojektować produkty o synbiotycznych cechach.

Jednym z głównych czynników decydujących o właściwościach zdrowotnych związanych ze wzrostem bifidobakterii jest produkcja SCFA (*short chain fatty acids* – krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych) w trakcie fermentacji. SCFA limitują

wzrost bakterii gnilnych i patogennych oraz są znaczącym źródłem energetycznym dla gospodarza. Ilość i proporcje poszczególnych SCFA syntetyzowanych w trakcie fermentacji determinuje wiele czynników – jednym z nich jest dostępność i rodzaj substratu energetycznego.

Testowane szczepy bakterii *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *B. pseudocatenuatum*, które słabo metabolizowały β -(2,6)-FOS, produkowały przede wszystkim kwas octowy i kwas mrówkowy; stosunek kwasu octowego do mlekowego dla poszczególnych kultur wynosił kolejno 76 : 1; 4,1 : 1 oraz 4,2 : 1. Szczep *B. adolescentis*, który fermentował lewan o wysokim stopniu polimeryzacji wytwarzał jako główne produkty kwas octowy i mlekowy w proporcji 2,6 : 1, natomiast fruktoza metabolizowana była głównie do kwasu octowego i mlekowego [30]. Porównując uzyskane wyniki z badaniami żywieniowymi prowadzonymi z inuliną można zauważyć duże podobieństwo. Inulina jako substrat o wysokim stopniu wykorzystania przez pożądaną florę bakteryjną, szczególnie bifidobakterie, jest metabolizowana do kwasu octowego i mlekowego w proporcji 3 : 2, tj. najkorzystniejszej dla przewodu pokarmowego człowieka [12]. W przypadku lewanu nie odnotowano, jak dotychczas tak korzystnych proporcji, każdorazowo obserwując znaczną przewagę kwasu octowego nad mlekowym. Prowadzono także badania modelowe, które miały określić wpływ suplementacji żywności lewanem na metabolizm tłuszczu. Wykorzystano wysokocząsteczkowy lewan z *Zymomonas mobilis* w badaniach *in vivo* prowadzonych na szczurach karmionych wstępnie dietą, w której 40 % podaży energii stanowił łój wołowy. Dowiedziono, że fruktan ten wykazuje hipolipidemiczne oddziaływanie. Sugerowany dietetyczny efekt lewanu, polegający na przeciwdziałaniu otyłości i obniżeniu poziomu lipidów, może być rezultatem odnotowanej w tych badaniach inhibicji lipogenezy i wzmożeniu lipolizy [26]. O korzystnym wpływie lewanu na poziom triacylogliceroli w serum krwi wzmiankowano również w pracy Yamamoto i wsp. [47]. Fruktan ten wykazuje również działanie hipocholesterolemiczne [29].

Aktywność przeciwnowotworowa lewanu

Badania *in vitro* dotyczące aktywności przeciwnowotworowej lewanów (dawka w przedziale 200 – 1000 $\mu\text{g/ml}$ hodowli komórkowej) prowadzono na fruktanach pozyskanych z *Gluconoacetobacter xylinus* (G-lewan, o masie cząsteczkowej $M_w = 40000$ Da), *Microbacterium laevaniformans* (M, $M_w = 710000$ Da), *Rahnella aquatilis* (R, $M_w = 380000$ Da) i *Zymomonas mobilis* (Z, $M_w = 570000$ Da). Lewany te wykazywały relatywnie wysoką aktywność w stosunku do dwóch spośród ośmiu testowanych linii komórek rakowych, tj. do: SNU-1 (odpowiednika ludzkiej linii komórek raka wątroby – KCLB 58065) i HepG2 (odpowiednika komórek rakowych żołądka – KCLB 00001). Znacząco wyższa inhibicja wzrostu 52,54 – 62,05 % i 52,15 – 58,58 % odpowiednio w przypadku M- i R-lewanu została wykazana względem SNU-1, pod-

czas gdy M-lewan wykazywał wyższą aktywność inhibującą w stosunku do HepG2 (49,93 – 61,82 %). Testy *in vivo* prowadzone na myszach (testowano stopień zahamowania Sarcoma-180 – *med.* mięsak) wykazały około 66 % przeciwnowotworową aktywność M-, R- i Z-lewanów (zastosowana dawka 200 mg lewanu na 1 kg masy ciała myszy). Stwierdzono ponadto, że nie dawka lewanu, a masa cząsteczkowa może mieć znaczący wpływ na silniejsze właściwości przeciwnowotworowe testowanych lewanów [49]. Wpływ masy cząsteczkowej lewanu na inhibicję Sarcoma-180 zaobserwowano już we wcześniejszych badaniach dotyczących przeciwnowotworowej aktywności różnych frakcji lewanu. Badano lewan o średnich masach cząsteczkowych (\overline{M}_w) z przedziału od 353500 do 769500 Da, pozyskany z podłoży wzrostowych *Zymomonas mobilis*. Najwyższe zahamowanie komórek rakowych uzyskano stosując frakcję o $\overline{M}_w = 456900$ Da (72 % inhibicja), ze względu na dużą polidispersyjność prób użytych w badaniach (>14), trudno jednak wskazać na masę cząsteczkową, która predysponowałaby w sposób szczególnie aktywność przeciwnowotworową lewanu [8].

Modyfikacja struktury lewanu produkowanego przez bakterie *Microbacterium laevaniformans* na drodze rozkładu wiązań β -(2,1)-glikozydowych wykazała, że stopień rozgałęzienia cząsteczki ma wpływ na zakres inhibicji wzrostu komórek rakowych SNU-1 oraz HepG2. Autorzy pracy wskazują, że struktura rozgałęziona biomolekuł odgrywa znaczącą rolę w ekspresji biologicznej aktywności lewanu i powinna być brana pod uwagę podczas oznaczania aktywności przeciwnowotworowej lewanów [50]. Dysproporcje odnośnie cech jakościowych lewanu, jak przedstawiono wyżej, determinują badania nad modyfikacją pozyskiwanego β -(2,1)-fruktanu lub też doбором pozostałych czynników pozwalających wykorzystać natywny polimer. Selekcja szczepów probiotycznych o odpowiednio wysokim potencjale degradacyjnym pozwoliłaby z jednej strony wykorzystać wysoko spolimeryzowany lewan jako źródło węgla dla mikroflory bakteryjnej, a z drugiej strony ten sam polimer mógłby oddziaływać inhibująco w kierunku zmian nowotworowych jelit. Konieczne są jednak szeroko zakrojone badania *in vitro*, których wyniki zostaną potwierdzone w badaniach klinicznych.

Potencjalne zastosowanie lewanu

Rosnące zainteresowanie fruktanami wynika przede wszystkim z ich potencjalnie funkcjonalnych właściwości jako składników żywności [36]. Często sugerowana możliwość zastosowania FOS (fruktooligosacharydów, $3 \leq DP \leq 9$) jako słodzików, zamienników sacharozy jest kontrowersyjna [22]. Wynika to z faktu, że np. słodkość trisacharydu – kestozy wynosi 31 % słodkości sacharozy i zmniejsza się wraz z rosnącym łańcuchem fruktanu [37]. Ponadto, kaloryczność fruktanów nie powinna być pomijana, tj. stosownie po uwzględnieniu fermentacji bakteryjnej i resorpcji produktów fermentacji, dostępna energia wniesiona z fruktanem to 1 kcal/g kestozy, co stanowi około 40 %

energii odpowiadającej trzem heksozom [36]. Z niniejszych powodów porównywanie krótkołańcuchowych fruktanów ze słodzikami, takimi jak acesulfam K, aspartam, sacharyna i inne substancje intensywnie słodzące jest niewłaściwe, a odniesienie tych substancji do lewanu będącego polimerem nieuprawnione. Ze względu na niższe natężenie słodkości FOS mogą być stosowane w produkcji żywności jako składniki strukturotwórcze (efekt pęcznienia) w kombinacji ze słodzikami, czy też jako zamienniki tłuszczu. FOS analogicznie, jak poliole, np. mannitol (50-60 % słodkości sacharozy, 1,9 kcal/g) są tzw. wypełniaczami w pierwszej kolejności, a w drugiej można rozpatrywać je jako substytuty naturalnych substancji słodzących [51]. Lewan nie może być również rozpatrywany jako zamiennik sacharozy ze względu na wysoki stopień polimeryzacji, ponadto nie żeluje i rozważany jest generalnie jako polimer niepęczniący w wodzie, w temperaturze pokojowej [2]. Właściwości te zawężają zatem spektrum aplikacyjne natywnego lewanu. Jednakże produkcja nowych oligosacharydów z udokumentowanymi prebiotycznymi, fizjologicznymi i technologicznymi właściwościami wzrasta [37]. Wysoka masa cząsteczkowa lewanu predysponuje go w szczególności jako składnik żywności o strukturze emulsji, czynnik zagęszczający oraz stabilizujący [21].

Lewan jest surowcem, który według rozeznania autorów nie został jak dotychczas wdrożony do praktyki przemysłowej. Prowadzone są jednak prace aplikacyjne, uwzględniające m.in. potencjalne prozdrowotne oddziaływanie na organizm człowieka, jak i jego potencjał związany z cechami fizykochemicznymi.

Egzopolisacharydy produkowane w czasie fermentacji ciasta przez bakterie fermentacji mlekowej zakwasu chlebowego wpływają pozytywnie na reologiczne właściwości i końcową jakość chleba [1]. Bezpośrednią syntezę lewanu w fermentującym cieście chlebowym (zawierającym 9 % sacharozy) przeprowadzono z użyciem szczepu *Lactobacillus sanfranciscensis* TMW, który wytwarzał 10,5 g kestozy oraz 2 g lewanu [42]. Jest to pierwsza jak dotychczas znana celowa synteza lewanu bezpośrednio w produkcji spożywczej.

Lewan wykorzystano m.in. do immobilizacji asparaginazy w skali laboratoryjnej. Założono, że naturalnie występujące glikoproteiny wykazują niezwykle wysoką stabilność dzięki niskiej wrażliwości na inaktywację cieplną i inne czynniki denaturujące. Charakteryzują się również wyższą stabilnością w płynach biologicznych w porównaniu z białkami nie zawierającymi grupy sacharydowej. Właściwości te wykorzystano w celu stabilizacji L-asparaginazy (E.C. 3.5.1.1.) z *Erwina carotovora*. Enzym ten wykorzystywany jest w leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej. Przeprowadzono immobilizację L-asparaginazy, stosując lewan z *Zymomonas mobilis* o zróżnicowanej masie cząsteczkowej. Uzyskano wzrost aktywności enzymu w zakresie pH od 4,5 do 10, znacząco wyższą stabilność w podwyższonej temperaturze (40 i 50 °C) i jednocześnie wydłużono o miesiąc stabilność enzymu w wodnych roztwo-

rach, w porównaniu z jego formą natywną. Niekorzystny był natomiast wzrost stałej Michaelisa-Menten (1,5 – 4-krotny), szczególnie widoczny przy wykorzystaniu lewanu o wysokiej masie cząsteczkowej (200000 Da) [45].

Lewan ze względu na swoje właściwości, przede wszystkim fizyczne, może być szczególnie atrakcyjny jako surowiec do produkcji kosmetyków. Fruktan ten uważany jest za substancję nietoksyczną – dawki w przedziale od 50 do 3200 mg/kg nie wykazywały oznak toksyczności, czyniąc niemożliwym ustalenie wartości LD_{50} [9] – a ponadto jest łatwo zmywalny wodą. Główną zaletą lewanu w produkcji kosmetyków jest rozwiązanie problemu związanego z koniecznością długotrwałej adhezji kosmetyku do powierzchni skóry, ewentualnie włosów i jednocześnie z możliwością usunięcia z ciała najlepiej za pomocą ciepłej wody [34]. Wykazano także, że polimer ten wykazuje nawilżające i przeciwzapalne właściwości, a także działa podobnie jak kwas hialuronowy – pobudzając ludzkie fibroblasty i proliferację keranocytów [28].

Interesującą aplikacją, a wpisującą się w zakres prozdrowotnego oddziaływania lewanu na organizmy żywe są wstępne badania, w których zastosowano lewan jako immunomodulator w żywieniu narybku karpia (*Cyprinus carpio*). Lewan w stężeniu 0,5 % w masie paszy znacząco podwyższał liczbę erytrocytów i poziom hemoglobiny, natomiast liczba leukocytów, białka całkowitego, stosunek albumin do globulin nie różnił się istotnie od próby odniesienia. Fagocyty krwi i aktywność lizozymu były także wyższe. Przeżywalność narybku w kontakcie z *Aeromonas hydrophila* była najwyższa w hodowlach, w których stosowano w żywieniu lewan, co sugeruje, że fruktan ten ma działanie immunostymulacyjne dla *Cyprinus carpio* [35].

Indukowano również syntezę lewanu w tkankach roślinnych, aby uodpornić transgeniczne rośliny na niekorzystne warunki środowiskowe. W tym celu przeprowadzono ekspresję genu *SacB* w tytoniu. Syntetyzowany lewan miał przeciwdziałać czynnikom abiotycznym, głównie deficytowi wody wywołanemu suszą bądź niską temperaturą. Wydajny zbiór tytoniu zależy bowiem przede wszystkim od strategii adaptacyjnych roślin, włączając w to nagromadzenie substancji osmochronnych [27]. Podejmowano również próby akumulacji lewanu w transgenicznym tytoniu w celu produkcji tego wysokocząsteczkowego fruktanu w roślinach, jako alternatywy w kosztownej produkcji fruktozy na drodze izomeryzacji hydrolizatów skrobiowych, uzyskując zawartość lewanu między 3 a 8 % s.m. [17].

Podsumowanie

Lewan jako związek polisacharydowy o specyficznej strukturze, cechach fizycznych i chemicznych, a jednocześnie wciąż niedostatecznie udokumentowanym oddziaływaniu na organizmy żywe jest interesującym materiałem w zakresie zarówno badań podstawowych, jak i aplikacyjnych. Fruktan ten, zdaniem autorów, może stanowić alternatywę dla handlowych polisacharydów, przede wszystkim jako składnik żywno-

ści o znaczeniu prozdrowotnym. Zastosowanie lewanu w produktach żywnościowych lub w postaci suplementu diety wymaga wielu badań, które pozwolą ściśle określić jego atrybuty i wady. Zasadniczo rozwiązanie trzech głównych problemów pozwoliłoby zastosować lewan w produkcji żywności – wydajna synteza, udowodnione działanie prozdrowotne i wytyczony kierunek aplikacyjny.

Literatura

- [1] Arendt E.K., Ryan A.M., Bello F.D.: Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiol.*, 2007, **24**, 165-174.
- [2] Arvidson S.A., Rinehart B.T., Gadala-Maria F.: Concentration regimes of solution of levan polysaccharide from *Bacillus* sp. *Carbohydr. Polym.*, 2006, **65**, 144-149.
- [3] Bello F.D., Walter J., Hertel C., Hammes W.P.: *In vitro* study of probiotic properties of levan-type exopolysaccharides from *Lactobacilli* and non-digestible carbohydrates using denaturing gradient gel electrophoresis. *Systematic Appl. Microbiol.*, 2001, **24**, 232-237.
- [4] Biedrzycka E., Bielecka M.: Prebiotic effectiveness of fructan of different degrees of polymerization. *Trends Food Sci. Tech.*, 2004, **15**, 170-175.
- [5] Bielecka M., Biedrzycka E., Majakowska A.: Selection of probiotic and prebiotic for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. *Food Res. Int.*, 2002, **35**, 125-131.
- [6] Bouhnik Y., Flourie B., D'Agay-Abensour L., Pochari P., Gramet G., Durand M., Rambaud J.-C.: Administration of trans-galacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies clonic fermentation metabolism in healthy humans. *J. Nutr.*, 1997, **127**, 444-448.
- [7] Bresolin T.M.B., Sander P.C., Reicher E., Sierakowski M.R., Rinaudo M., Ganter J.L.M.S.: Viscometric studies on xanthan and galactomannan systems. *Carbohydr. Polym.*, 1997, **33**, 131-138.
- [8] Calazans G.M.T., Lima R.C., de França F.P., Lopez C.E.: Molecular weight antitumour activity of *Zymomonas mobilis* levans. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2000, **27**, 245-247.
- [9] Calazans G.M.T., Lopes C.E., Lima R.M.O.C., França F.P.: Antitumour activities of levans produced by *Zymomonas mobilis* strains. *Biotechnol. Lett.*, 1997, **1**, 19-21.
- [10] Carpita N.C., Housley T.L., Hendrix J.E.: New features of plant-fructan structure revealed by methylation analysis and carbon-13 NMR spectroscopy. *Carbohydr. Res.*, 1991, **217**, 127-136.
- [11] Chronakis I.S., Doublier J.-L., Piculell L.: Viscoelastic properties for kappa- and iota-carrageenan in aqueous NaCl from the liquid-like to the solid-like behavior. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2000, **28**, 1-14.
- [12] Cieślak E., Proszak A., Pisulewski P.M.: Funkcjonalne właściwości fruktanów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **1 (26)**, 5-13.
- [13] Cummings J.H., Macfarlane G.R., Englyst H.N.: Prebiotic digestion and fermentation. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, **73 (Suppl.)**, 415S-420S.
- [14] Davis C.D., Milner J.A.: Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. *J. Nutr. Biochem.*, 2009, **20**, 743-752.
- [15] De Souza Oliveira R.P., Perego P., Converti A., De Oliveira M.N.: Growth and acidification performance of probiotic in pure culture and co-culture with *Streptococcus thermophilus*: The effect of inulin. *Food Sci. Technol.*, 2009, **42**, 1015-1021.
- [16] Diplock A.T., Aggett P.J., Ashwell M., Bornet F., Fern E.B., Roberfroid M.B.: Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *Br. J. Nutr.*, 1999, **81 (Suppl)**, S1-S27.
- [17] Ebskamp M.J.M., Van der Meer I.M., Spronk B.A., Weisbeek P.J., Smeekens S.C.M.: Accumulation of fructose polymers in transgenic tobacco. *Bio/Technol.*, 1994, **12**, 272-275.

- [18] Funami T., Kataoka Y., Omoto T., Goto Y., Asai I., Nishinari K.: Food hydrocolloids control the gelatinization and retrogradation behavior of starch. 2a. Functions of guar gums with different molecular weights on the gelatinization behavior of corn starch. *Food Hydrocol.*, 2005, **19**, 15-24.
- [19] Fric P.: Probiotic and prebiotics – renaissance of a therapeutic principle. *Central Eur. J. Med.*, 2007, **2** (3), 237-270.
- [20] Gibson G.R., Roberfroid M.B.: Dietary modulation of the human clonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 1995, **125**, 1401-1412.
- [21] Han Y.W.: Microbial levan. *Adv. Appl. Microbiol.*, 1990, **35**, 171-194.
- [22] Heyer A.G., Lloyd J.R., Kossmann J.: Production of modified polymeric carbohydrates. *Curr. Opin. Biotechn.*, 1999, **19**, 169-174.
- [23] Holzapfel W.H., Schillinger U.: Introduction to pre- and probiotics. *Food Res. Int.*, 2002, **35**, 109-116.
- [24] Howlett J.: Functional foods – from science to health and claims. ILSI Europe, Belgia 2009.
- [25] Jumel K., Harding S.E., Mitchell J.R., To K.-M., Hayter I., O'Mullane J.E., Ward-Smith S.: Molar mass and viscometric characterisation of hydroxypropylmethyl cellulose. *Carbohydr. Polym.*, 1996, **29**, 105-109.
- [26] Kang S.A., Hong K., Jang K.-H., Kim Y.-Y., Choue R., Lim Y.: Altered mRNA expression of hepatic lipogenic enzyme and PPAR α in rats fed dietary levan from *Zymomonas mobilis*. *J. Nutr. Biochem.*, 2006, **17**, 419-426.
- [27] Konstantinova T., Parvanova D., Atanassov A., Djilianov D.: Freezing tolerant tobacco, transformed to accumulate osmoprotectants. *Plant Sci.*, 2002, **163**, 157-164.
- [28] Kim K.H., Chung C.B., Kim Y.H., Kim K.S., Han C.S., Kim C.H.: Cosmeceutical properties of levan produced by *Zymomonas mobilis*. *J. Cosmet. Sci.*, 2005, **56**, 395-406.
- [29] Leibovich J., Stark Y.: Increase of permeability to a cytotoxic agent by the polysaccharide levan. *Cell. Mol. Biol.*, 1985, **31**, 337-341.
- [30] Marx S.P., Winkler S., Hartmeier W.: Metabolization of β -(2,6)-linked fructose-oligosaccharides by different bifidobacteria. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2000, **182**, 163-169.
- [31] McKellar R.C., Modler H.W., Mullin J.: Characterization of growth and inulinase production by *Bifidobacterium* spp. on fructooligosaccharides. *Bifidobacteria Microflora.*, 1993, **12**, 75-86.
- [32] Muramatsu K., Onodera S., Kikuchi M., Shiomu N.: Substrate specificity and subsite affinities of β -fructofuranosidase from *Bifidobacterium adolescentis* G1. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1994, **58**, 1642-1645.
- [33] Nilsson U., Dahlquist A., Nilsson B.: Cereal fructosans: Part 2. Characterization and structure of wheat fructosans. *Food Chem.*, 1986, **22**, 95-106.
- [34] *On-line* information – Montana Biotech SE, Inc., 1910-107 Lavington Court, Rock Hill, SC 29732, USA [www.polysaccharides.us].
- [35] Rairakhwada D., Pal A.K., Bhatena Z.P., Sahu N.P., Jha A., Mukherjee S.C.: Dietary microbial levan enhances cellular non-specific immunity and survival of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. *Fish Shellfish Immun.*, 2007, **22**, 477-486.
- [36] Roberfroid M., Gibson G.R., Delzenne N.: The biochemistry of oligofructose, an approach to calculate its caloric value. *Nutr. Rev.*, 1993, **51**, 137-146.
- [37] 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.
- [38] Suzuki A., Mitsuyama K., Koga H., Tomiyasu N., Masuda J., Takaki K., Tsuruta O., Toyonaga A., Sata M.: Bifidogenic growth stimulator for the treatment of active ulcerative colitis: a pilot study. *Nutrition*, 2006, **22**, 76-81.
- [39] Szwengiel A., Czarnecka M., Czarnecki Z.: Levan synthesis during associated action of levansucrase and *Candida cacaoi* DSM 2226 yeast. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57**, 433-440.

- [40] Szwengiel A., Czarnecka M., Roszyk H., Czarnecki Z.: Levam production by *Bacillus subtilis* DSM 347 strain. *EJPAU*, 2004, **7**, <http://www.ejpau.media.pl/volume7/issue2/food/art-12.html>.
- [41] Szwengiel A., Gruchała L., Roszyk H., Czarnecka M., Czarnecki Z.: Studium syntezy lewanu, katalizowanej przez lewanosacharazy bakteryjne. *Biotechnologia*, 2009, **3 (86)**, 156-173 (w druku).
- [42] Tiekling M., Ehrmann M.A., Vogel R.F., Gänzle M.G.: Molecular and functional characterization of levansucrase from the sourdough isolate *Lactobacillus sanfranciscensis* TMW 1.392. *Appl. Microbiol. Biot.*, 2005, **66**, 655-663.
- [43] Van Den Broek L.A.M., Voragen A.G.J.: *Bifidobacterium* glucoside hydrolases and (potential) prebiotic. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 2008, **9**, 401-407.
- [44] Vanloo J., Coussement P., Deleenheer L., Hoebregs H., Smits G.: On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1995, **35**, 525-552.
- [45] Vina I., Bekers K.M.: Stabilization of anti-leukemic enzyme L-asparaginase by immobilization on polysaccharide levan. *J. Mol. Catal. B-Enzym.*, 2001, **11**, 551-558.
- [46] Yamamoto Y., Takahashi Y., Kawano M., Iizuka M., Matsumoto T., Sacki S., Yamaguchi H.: In vitro digestibility and fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats. *J. Nutr. Biochem.* 1999, **10**, 13-18.
- [47] Yamamoto Y., Takahashi Y., Kawano M., Iizuka M., Matsumoto T., Saeki S., Yamaguchi H.: Hypercholesterolemic effects of levan in rats. In: Nishinari K., (Ed.), *Hydrocolloids (Part II)*. Elsevier Science, The Netherlands 2000, pp. 399-400.
- [48] Yazawa K., Imai K., Tamura Z.: Oligosaccharides and polysaccharides specifically utilizable by bifidobacteria. *Chem. Pharm. Bull.*, 1978, **26**, 3306-3311.
- [49] Yoo S.H., Yoon E.J., Cha J., Lee H.G.: Antitumor activity of levan polysaccharides from selected microorganisms. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2004, **34**, 37-41.
- [50] Yoon E.J., Yoo S.H., Cha J., Lee H.G.: Effect of levan's branching structure on antitumor activity. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2004, **34**, 191-194.
- [51] Zduńczyk Z.: Odżywcze i zdrowotne właściwości substancji słodzących. W: *Sacharydy i substancje słodzące – pod red. A. Rutkowskiego*. Drukarnia Wydawnicza „Trans-Druk”, Konin 2002, ss. 39-55.

PROPERTIES AND APPLICATION OF LEVAN

Summary

Levan is a high-molecular, β -(2 \rightarrow 6)-linked fructose homo-polymer with the glucose residue bound to the terminal fructose by α -glycosidic bond. The knowledge of occurrence, biosynthesis, and properties of this fructan is extensive. Research results show a large potential for practical applications of levan and its hydrolysis products in the domain of food with pro-healthful properties. The main factors limiting the application of levan in diet is its availability and the lack of unambiguous data referring to the comprehensive impact of this fructan on human organism and/or on experimental animals. In this paper, a research into some indicators of pro-healthful impact of levan and levulans are presented. Possible applications of levan are also surveyed.

Key words: levan, prebiotic, SCFA, anti-tumour properties, functional properties ☒

AGNIESZKA DROŹDŻYŃSKA, DARIA SZYMANOWSKA,
KATARZYNA CZACZYK

OPTIMALIZACJA PROCESU EKSTRAKCJI TREHALOZY Z KOMÓREK DROŹDŹY I OKREŚLENIE PARAMETRÓW JEJ OZNACZANIA TECHNIKĄ HPLC

Streszczenie

Wykorzystano technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej do oznaczania trehalozy w próbach mogących zawierać inne disacharydy (maltozę, sacharozę). Przetestowano dwie kolumny i różne składy eluentów pod względem efektywności rozdzielania. Wyznaczono granice wykrywalności, oznaczalności, zakres liniowości oraz precyzję wytypowanych metod. Ponadto wykonano optymalizację procesu ekstrakcji trehalozy z komórek drożdży pod względem substancji dezintegrującej, temperatury oraz czasu trwania ekstrakcji.

Słowa kluczowe: trehaloza, HPLC, *Saccharomyces cerevisiae*

Wprowadzenie

Trehaloza (α -D-glukopiranozylo-1- β -D-glukopiranozyd) jest cukrem nieredukującym, zbudowanym z dwóch cząsteczek glukozy połączonych nietypowym wiązaniem α -1,1-glikozydowym [1, 3, 6]. Trehaloza łatwo ulega hydrolizie do glukozy i może pełnić w komórce rezerwę tego cukru. Enzymami rozkładającymi trehalozę są trehalazy (neutralna i kwaśna), których wytwarzanie przez *Saccharomyces cerevisiae* kodowane jest przez geny *NTH1* oraz *ATH1* [22].

Występowanie trehalozy stwierdzono w komórkach grzybów, bakterii, nicieni, owadów oraz niektórych roślin [3, 9, 21]. Do niedawna ten disacharyd uważany był tylko za substancję zapasową w żywych komórkach. Liczne badania dowiodły ścisłego związku obecności tej substancji z występowaniem stresów środowiskowych. Dziś trehaloza uważana jest za jeden z głównych markerów opisujących odpowiedź komór-

rek drożdży na stresy metaboliczne (cieplny, osmotyczny, etanolowy oraz w mniejszym stopniu na stres toksyczny) [6, 9, 19, 20, 21].

Trehaloza, jako związek osmotycznie czynny, pełni przede wszystkim funkcję zabezpieczającą integralność struktur komórkowych, w szczególności błon biologicznych. Jej działanie polega na zabezpieczaniu struktury białek poprzez wytwarzanie wiązań wodorowych pomiędzy grupami hydroksylowymi cukrów a polarnymi grupami białek. Ponadto trehaloza, jako cukier nieredukujący, nie uczestniczy w reakcjach Maillarda, w których cukry redukujące (np. glukoza) reagują z grupami aminowymi białek, podczas ich odwodnienia [6, 9].

Badania dowiodły, że drożdże zmniejszają aktywność trehalazy, dążąc do utrzymania wysokiego stężenia trehalozy w komórce w celu jej zabezpieczenia przed stresem osmotycznym lub cieplnym. Już w temp. 30 °C produkcja trehalozy przez drożdże z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* wzrasta (i rośnie wraz z dalszym wzrostem temperatury), a jej poziom jest zróżnicowany w zależności od szczepu [6, 20]. Dzięki temu trehaloza może być stosowana jako marker odpowiedzi metabolicznej komórek drożdży na stresy środowiskowe w celu wyodrębnienia ras najlepiej przystosowanych do trudnych warunków przemysłowych. Wiadomo także, że pojawienie się dodatkowo białek szoku cieplnego (przede wszystkim *hsp104*) wzmacnia tolerancję na stres termiczny [1]. Ponadto trehaloza może pełnić funkcję krioprotektanta m.in. w ogrodnictwie (np. kondycjonowanie roślin), jak również w medycynie (np. przechowywanie embrionów ssaków). Obecność trehalozy podczas suszenia *in vitro* np. enzymów restrykcyjnych lub enzymów modyfikujących DNA umożliwia ich przechowywanie w temperaturze pokojowej bez utraty aktywności [9, 22].

Jedną z nowoczesnych metod otrzymywania bioetanolu jest proces jednoczesnej hydrolizy i fermentacji natywnej skrobi [12]. W procesie tym stosuje się wysokie stężenia substratu i podwyższoną temperaturę (optimum działania enzymów), stąd powstają duże ilości etanolu. Komórki drożdży wykorzystywane w tych procesach narażone są na szereg stresów metabolicznych (stres osmotyczny, cieplny, etanolowy), w efekcie czego syntetyzują trehalozę. Poznanie mechanizmów odpowiedzi komórki na wystąpienie poszczególnych stresów i ich interakcje krzyżowe może ułatwić takie kierowanie procesem fermentacji, aby zredukować do minimum negatywne skutki stresów i tym samym usprawnić przebieg procesu fermentacji. Zwykle reakcja komórki na wystąpienie czynników stresowych jest wielokierunkowa i objawia się istotnymi zmianami metabolicznymi. Podkreśla to znaczenie określenia właściwych kryteriów do wyboru odpornych szczepów, przydatnych w warunkach przemysłowych [6].

Wśród różnych technik oznaczania trehalozy, do najczęściej stosowanych należą metody kolorymetryczne, enzymatyczne i chromatograficzne. Pierwsza z wyżej wymienionych procedur, opisana przez Brinna [2] polega na reakcji trehalozy z cyklicznym węglowodorem - antronem (ang. anthrone), a następnie oznaczeniu zmiany barwy

mieszaniny poreakcyjnej. Ze względu na wysoką reaktywność antronu z innymi cukrami (m.in. z celulozą, dekstranem, a także heksozami i pentozami) jest to metoda mało charakterystyczna i może być stosowana do prób zawierających tylko trehalozę [4]. Dużą specyficznością charakteryzują się metody enzymatyczne, jednak wiążą się one z koniecznością zakupu drogich enzymów (trehalazy, oksydazy glukozy i/lub peroksydazy) i utrzymania ściśle kontrolowanych warunków reakcji (pH, temperatura) [4, 24]. W ostatnich latach powszechnie stosowaną metodą oznaczania trehalozy jest HPLC. Do oznaczeń tego związku używano różnych kolumn m.in.: CarboPac PA1 (Dionex) stosowany z 100 mM NaOH jako fazą ruchomą i detekcją amperometryczną lub elektrochemiczną [7, 8], Sugar-Pak (Waters) wykorzystujący bufor boranowy jako eluent i detektor elektrochemiczny [15] oraz szereg kolumn wykorzystujących detekcję refraktometryczną oraz fazę ruchomą w postaci wodnych roztworów acetonitrylu: Shodex SUGAR SZ5532 (Shodex) [14], Zorbax-NH2 (Agilent) [23], Supelcosil LC-NH2 (Supelco) [10], LiChrosphere NH2 (Merck) [4, 5].

Znaczenie trehalozy w metabolizmie komórkowym oraz możliwości jej zastosowania w przemyśle i medycynie wymagają opracowania nowych, szybkich i efektywnych metod jej oznaczania i pozyskiwania.

Celem niniejszych badań była optymalizacja procesu ekstrakcji trehalozy z komórek drożdży wykorzystywanych w procesie fermentacji etanolowej natywnej skrobi oraz opracowanie metody chromatograficznej cechującej się dobrą selektywnością i wartością granicy wykrywalności oznaczania trehalozy w komórkach drożdży w próbach zawierających inne disacharydy (np. maltozę).

Material i metody badań

W celu opracowania efektywnej procedury oznaczania trehalozy techniką HPLC użyto materiału badawczego w postaci roztworów wzorcowych cukrów (trehalozy, maltozy, sacharozy, SIGMA). W eksperymentach optymalizacji procesu ekstrakcji trehalozy materiał badawczy stanowiły drożdże gorzelnicze z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* (nazwa handlowa Ethanol Red, producent firma LeSaffre). Drobnoustroje te wykorzystywano w procesie jednoczesnej hydrolizy i fermentacji natywnej skrobi. Hydrolizę mąki kukurydzianej (młyn Biocorn Ziębice) prowadzono za pomocą preparatów enzymatycznych STARGEN 001 (Genencor) oraz kwaśnej proteazy – GC106 (Genencor), jako enzymu wspomagającego hydrolizę. Proces prowadzono przy użyciu bioreaktora o objętości maksymalnej 5 l, firmy New Brunswick (USA), stosując zacier z mąki kukurydzianej (25 % s.m.). Parametry pracy bioreaktora były następujące: temp. 35 °C, pH 5,0 (korekta pH przy użyciu kwasu siarkowego lub zasady sodowej), szybkość mieszania 200 obr/min.

Fermentację etanolową prowadzono przez 72 h. Po tym czasie pobierano 200 ml próby i odstawiano na 30 min w celu oddzielenia drożdży od mąki kukurydzianej poprzez sedymentację. 5 ml supernatantu wirowano (3000 g, 5 min) by uzyskać osad drożdży, który następnie płukano 5 ml wody destylowanej. Z tak przygotowanego osadu ekstrahowano trehalozę trzema różnymi metodami. W pierwszej metodzie osad drożdży inkubowano z 5 ml alkoholu etylowego (95 %) w różnej temperaturze: 30, 60 oraz 90 °C. Z każdego wariantu doświadczenia pobierano próby po 30, 60 oraz 90 min inkubacji, a następnie usuwano etanol w wyparce próżniowej lub poprzez odparowanie w temp. 105 °C (metoda druga). Trzecia metoda ekstrakcji polegała na inkubacji osadu drożdży z 1 ml roztworu o składzie acetonitryl (ACN) : metanol (MeOH) : woda (H₂O) w stosunku objętościowym 60 : 15 : 25. Zastosowano takie same parametry procesu ekstrakcji (temperatura i czas), jak w poprzednich metodach. Przed analizą chromatograficzną próby filtrowano (0,45 µm, Millex-LG, Millipore).

W celu określenia wpływu mąki kukurydzianej, obecnej w próbce, na proces ekstrakcji trehalozy zmodyfikowano nieznacznie sposób dezintegracji. Próbę pobraną z bioreaktora (5 ml) wirowano (3000 g, 5 min) osad przemywano wodą destylowaną. Ekstrakcję prowadzono poprzez inkubację osadu (drożdży i mąki) z 2 ml mieszaniny o składzie ACN : MeOH : H₂O (60 : 15 : 25) w temp. 60 °C przez 1 h. Po tym czasie próbę filtrowano (0,45 µm, Millex-LG, Millipore).

Oznaczenia chromatograficzne prowadzono w chromatografii cieczowym HEWLETT-PACKARD 1050 wyposażonym w automatyczny podajnik prób, pompę oraz detektor RI. Analizy wykonywano w dwóch rodzajach kolumn: Carbohydrate Analysis Column (Waters) oraz Nucleosil NH₂ (Macherey-Nagel). Podstawowe parametry używanych kolumn przedstawiono w tab. 1. W zależności od zastosowanej kolumny stosowano różne fazy ruchome i różne szybkości ich przepływu. W tab. 2. wyszczególniono skład eluentów używanych do analiz. Oznaczenia wykonywano w układzie izokratycznym, w temp. 25 °C. Do kolumny chromatografu cieczowego wprowadzano 50 µl próby.

Tabela 1

Podstawowe parametry testowanych kolumn.
Basic parameters of tested columns.

Kolumna Column	Długość Length [mm]	Średnica wewnętrzna Inner diameter [mm]	Wielkość ziarna Particle size [µm]	Wielkość porów Pore size [Å]	Matryca Matrix	Grupa funkcyjna Functional group
Carbohydrate Analysis Column (WATERS)	300	3,9	10	125	Krzemionka Silica	NH ₂
Nucleosil NH ₂ (MACHEREY-NAGEL)	250	4,6	5	100	Krzemionka Silica	NH ₂

Analizę chromatograficzną wykonywano z zastosowaniem standardu zewnętrznego, wykorzystując powierzchnie pików (pomiar i integracja komputerowa z zastosowaniem programu ChemStation for LC Agilent Technologies).

W celu wskazania najlepszej metody oznaczania trehalozy w przypadku każdej kolumny, wyznaczano wartości współczynnika odpowiedzi dla trehalozy oraz zdolność rozdzielczą kolumny w odniesieniu do trehalozy i maltozy. Współczynnik odpowiedzi R_f obliczano jako iloraz wysokości pików (H) i stężenia trehalozy (c) [11]. Zdolność rozdzielczą kolumny R_s wyznaczano z równania [18]:

$$R_s = 2 \frac{t_{Rt} - t_{Rm}}{w_t + w_m} \quad (1)$$

gdzie: t_{Rt} – czas retencji trehalozy,
 t_{Rm} – czas retencji maltozy,
 w_t – szerokość pików trehalozy mierzona przy podstawie,
 w_m – szerokość pików maltozy mierzona przy podstawie.

Tabela 2

Stosowane fazy ruchome i prędkości ich przepływu.
 Mobile phases applied and their flow rates.

Kolumna Column	Acetonitryl Acetonitrile [%]	Metanol Methanol [%]	Woda Water [%]	Szybkość przepływu Flow rate [ml/min]
Carbohydrate Analysis Column (WATERS)	80	0	20	2
	70	0	30	2
	75	0	25	2
	75	5	20	2
	60	10	30	2
	60	15	25	2
Nucleosil NH ₂ (MECHEREY-NAGEL)	75	0	25	1
	80	0	20	1
	70	10	20	1
	70	15	15	1
	65	20	15	1
	65	25	10	1

Objaśnienia:/ Explanatory notes:

Czcionką pogrubioną przedstawiono standardowe warunki rozdzielania w wymienionych kolumnach / The bold font was used to show standard separation conditions in the columns listed.

Wyznaczano granicę wykrywalności, zakres liniowości oraz precyzję najlepszej wybranej metody.

Granice wykrywalności (ang. *Limit of Detection* – LOD) wyznaczano metodą graficzną. Wykonano po 6 równoległych oznaczeń dla 3 poziomów stężeń (c) trehalozy. Z każdej serii pomiarów obliczano wartość odchylenia standardowego (s) i wyznaczano zależność liniową $s = f(c)$. Z wykresu odczytywano wartość wyrazu wolnego s_0 i wyznaczano wartość granicy wykrywalności zgodnie z zależnością [13]:

$$\text{LOD} = 3s_0 \quad (2)$$

Granice oznaczalności (ang. *Limit of Quantification* - LOQ) wyznaczano na podstawie zależności [13]:

$$\text{LOQ} = 3\text{LOD} \quad (3)$$

Zakres liniowości wyznaczano z wykresów krzywych wzorcowych, a za koniec zakresu liniowego przyjęto punkt, w którym odchylenie od prostoliniowości wynosiło 3 %. Natomiast za dolną granicę liniowości wskazań przyjęto granicę oznaczalności [18]:

Precyzję obliczono zgodnie ze wzorem:

$$CV = \frac{s}{x_{\text{sr}}} \cdot 100 [\%] \quad (4)$$

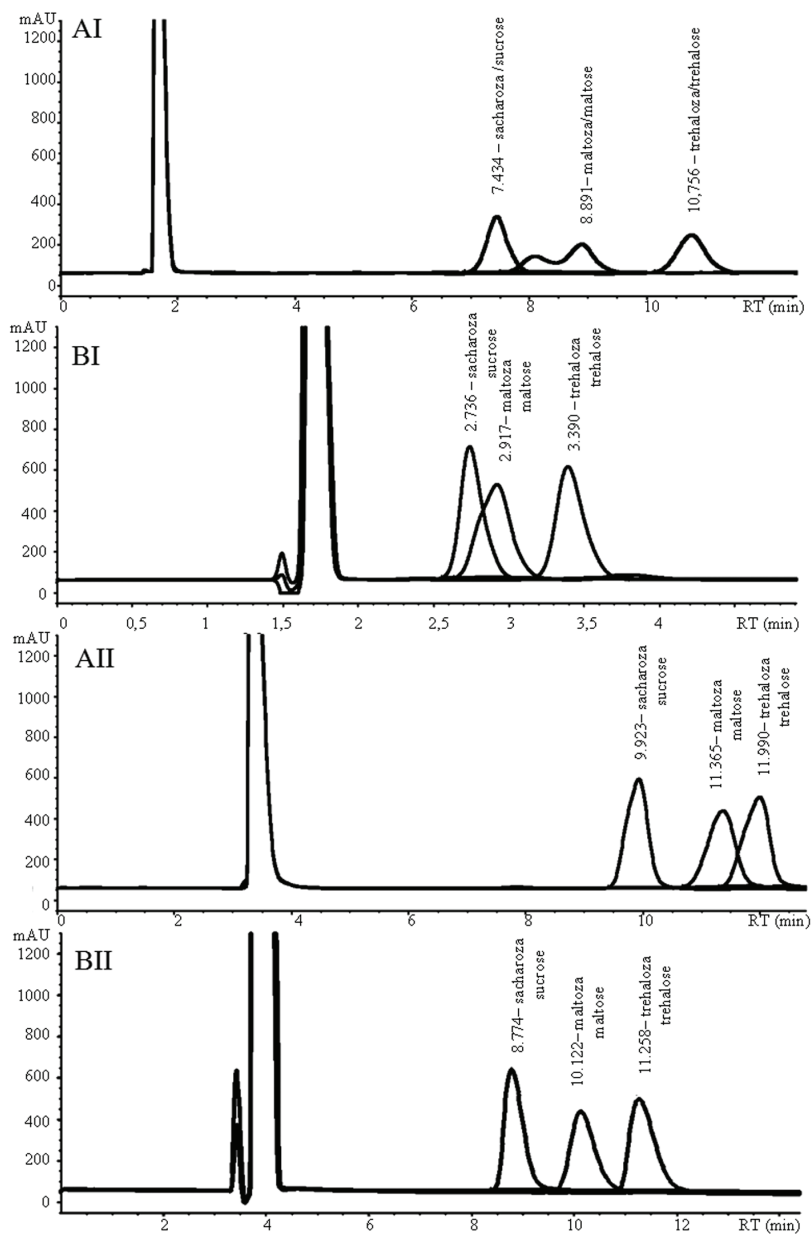
gdzie: CV – współczynnik zmienności (ang. *Coefficient of Variation*),

x_{sr} – wartość średnia powierzchni pików z 10 powtórzeń w odniesieniu do roztworu wzorcowego trehalozy [1g/l],

s – odchylenie standardowe.

Wyniki i dyskusja

Na rys. 1. przedstawiono chromatogramy rozdzielania trehalozy, sacharozy i maltozy na kolumnach Carbohydrate Analysis Column oraz Nucleosil NH₂. Analiza w kolumnie firmy Waters z zastosowaniem 80 % acetonitrylu jako eluentu zapewniała całkowity rozdział trehalozy od pozostałych disacharydów, jednak uzyskane współczynniki odpowiedzi były bardzo niskie (rys. 1 AI). Rozdział tej samej próby przy użyciu kolumny firmy Macherey-Nagel umożliwił uzyskanie zadowalających współczynników odpowiedzi badanych cukrów, ale nie umożliwił całkowitego rozdzielenia pików trehalozy od pików maltozy (rys. 1 AII). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że wraz ze wzrostem zawartości acetonitrylu w eluencie wzrastała zdolność rozdzielcza kolumny Carbohydrate Analysis Column (Waters), jednak malała wartość współczynnika odpowiedzi. Przy zastosowaniu dwuskładnikowej fazy ruchomej (ACN i H₂O) otrzymanie satysfakcjonującego rozdziału nie było możliwe. Całkowite rozdzielanie pików trehalozy od pików maltozy ($R_s = 1$) uzyskano w przypadku 79 % ACN, dla którego wartość współczynnika odpowiedzi R_f wyniosła 49,3 (rys. 2). Dodatek metanolu do fazy ruchomej polepszał jakość analiz chromatograficznych. Podobnie jak



Rys. 1. Chromatografy rozdziálu trehalozy, maltozy i sacharozy w kolumnie Carbohydrate Analysis Kolumn – Waters (I) oraz Nucleosil NH₂ –Macherey Nagle (II) w warunkach standardowo stosowanych dla tych kolumn (A) oraz opracowanych w ramach niniejszych badań (B).

Fig. 1. Chromatograms of separation of trehalose, maltose, and sucrose on the Carbohydrate Analysis Column – Waters (I) and Nucleosil NH₂ Macherey-Nagel Column (II) under both the standard operating conditions applied to those columns and the conditions developed for this study (B).

acetonitryl, wpływał on na wartość współczynnika odpowiedzi i zdolność rozdzielczą kolumny. Zastosowanie trójskładnikowej fazy ruchomej (ACN : MeOH : H₂O) umożliwiło otrzymanie rozdzielców chromatograficznych cechujących się zarówno wysokim współczynnikiem odpowiedzi, jak również dobrą zdolnością rozdzielczą kolumny. Najlepszym eluentem okazała się mieszanina ACN : MeOH : H₂O (60 : 15 : 25). Umożliwił on całkowity rozdział trehalozy od pozostałych disacharydów obecnych w próbce ($R_s = 1$) i blisko trzykrotnie zwiększył się współczynnik odpowiedzi trehalozy - $R_f = 120$ (rys. 1 BI) w porównaniu z eluentem standardowo stosowanym w tej kolumnie (80 % ACN). Zastosowanie tej fazy ruchomej pozwoliło na wykrycie trehalozy na poziomie 3,5 mg/l (tab. 3). Czas analizy przy zastosowaniu wyżej wymienionych parametrów chromatograficznych wynosił ok. 4 min.

W przypadku kolumny Nucleosil NH₂ Macherey-Nagel najefektywniejszym eluentem był ACN : MeOH : H₂O (70 : 15 : 15), umożliwiający całkowity rozdział wszystkich badanych cukrów przy zachowaniu wysokiej wartości współczynnika odpowiedzi w porównaniu z eluentem standardowo stosowanym dla tej kolumny – 75 % ACN (rys. 1 BII). Zastosowanie takich parametrów pozwoliło na wykrycie trehalozy na poziomie 13,6 mg/l (tab. 3). Czas analizy wynosił 13 min.

Istotną rolę odgrywała także rozpuszczalność trehalozy w eluencie, która ograniczała górną granicę zakresu liniowości w przypadku obu badanych metod (tab. 3).

Tabela 3

Wartości liczbowe granic wykrywalności, oznaczalności, zakresów liniowości oraz precyzji wybranych metod.

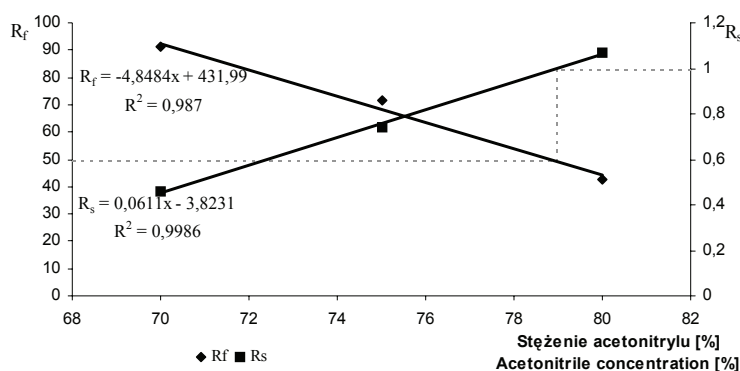
Numerical values of detection and quantification limits, of linearity ranges, and of precision of the methods selected.

Kolumna/metoda Column/method	Granica wykrywalności Limit of detection [mg/l]	Granica oznaczalności Limit of quantification [mg/l]	Zakres liniowości Range of linearity [g/l]	Precyzja Precision CV [%]
Carbohydrate Analysis Column (60%ACN:15% MeOH:25%H ₂ O)	3,5	10,5	0,01 - 9,7*	0,23
Nucleosil NH ₂ (70%ACN: 15% MeOH:15%H ₂ O)	13,6	40,9	0,04 - 5,2*	1,3

Objaśnienia:/ Explanatory notes: * Górna granica zakresu liniowości jest ograniczona rozpuszczalnością trehalozy /*The upper limit of linearity is limited by the trehalose solubility.

W celu optymalizacji procesu dezintegracji komórek drożdży i ekstrakcji z nich trehalozy w pierwszej kolejności poszukiwano najlepszej substancji dezintegrującej komórki. Znanych jest kilka metod ekstrakcji trehalozy, wśród których wymienić moż-

na dezintegrację komórek poprzez gotowanie w etanolu o różnym stężeniu [4, 14, 16], inkubację w wodzie destylowanej o wysokiej temperaturze [15] czy też dezintegrację za pomocą kulek szklanych [17]. Większość badaczy dezintegrując komórki stosuje etanol i wysoką temperaturę, dlatego też testując różne substancje pod względem efektywności dezintegrującej, posłużono się oprócz roztworu o składzie (ACN : MeOH : H₂O – 60 : 15 : 25), etanolem. Na rys. 3. przedstawiono zależność ilości wyekstrahowanej trehalozy od zastosowanej substancji i sposobu postępowania. Najbardziej efektywną substancją okazał się eluent. Dlatego też w kolejnych doświadczeniach dezintegrację komórek wykonywano poprzez inkubację w mieszaninie rozpuszczalników o składzie ACN : MeOH : H₂O (60 : 15 : 25). Taki sposób postępowania znacznie upraszcza przygotowanie prób i oszczędza czas. Jak wynika z badań również sposób odparowania etanolu istotnie wpływa na ilość wyekstrahowanej trehalozy. Odparowanie etanolu w temp. 105 °C nie wpłynęło w sposób statystycznie istotny na wynik, w porównaniu z ekstrakcją z wykorzystaniem mieszaniny rozpuszczalników bez odparowania, jednak cechowało się mniejszą powtarzalnością (współczynnik zmienności wynosił odpowiednio 6,3 i 0,9 %).

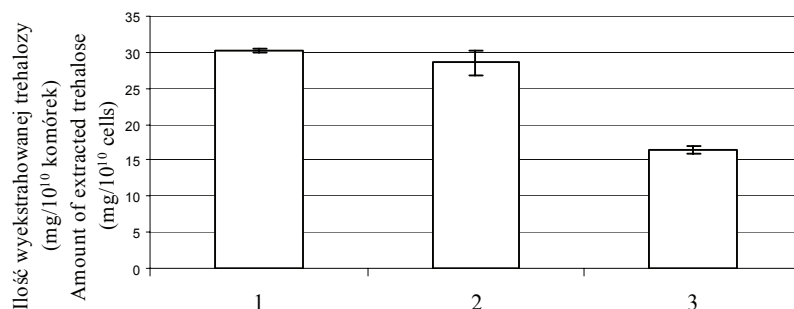


Rys. 2. Zależność współczynnika odpowiedzi R_f oraz zdolności rozdzielczej kolumny R_s od procentowego udziału acetonitrylu w eluencie (Carbohydrate Analysis Kolumn – Waters).

Fig. 2. Dependence between the response factor R_f and resolving power of R_s column and the per cent rate of content of acetonitrile in eluent (Carbohydrate Analysis Column – Waters).

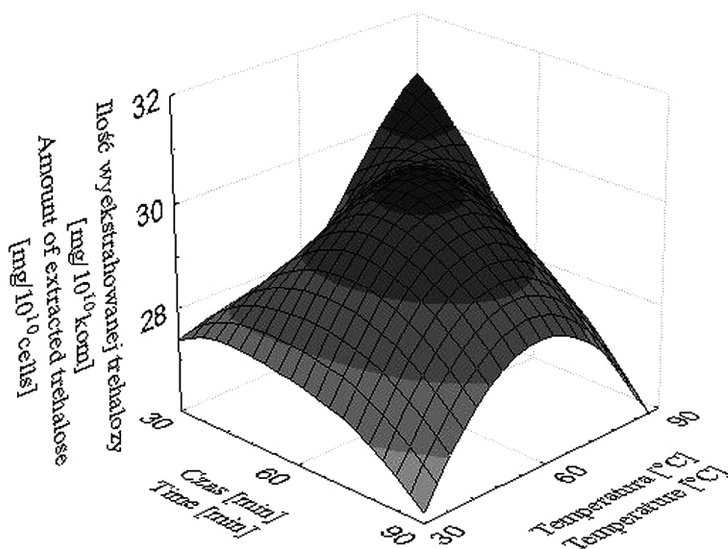
W kolejnym etapie sprawdzano wpływ temperatury i czasu trwania dezintegracji na efektywność ekstrakcji trehalozy z komórek drożdży. Najefektywniejsza ekstrakcja zachodziła w temp. 60 °C przez 60 min oraz w temp. 90 °C przez 30 min (rys. 4). Różnice w ilości wyekstrahowanej trehalozy z zastosowaniem wyżej wymienionych parametrów nie były statystycznie istotne ($p > 0,999$; ANOVA dla układów czynnikowych, test Tukeya, Statistica 6.1). Za optymalną temperaturę i czas trwania dezintegracji przyjęto 60 °C i 60 min. Ponadto w temp. 90 °C parowanie eluentu podczas dezintegracji było znaczne, co wymuszało jego uzupełnienie do określonej objętości po za-

kończeniu tego procesu. Stosując temp. 60 °C, taka konieczność nie występowała, gdyż parowanie eluentu było ograniczone. Wpływało to na powtarzalność wyników, która była dwukrotnie większa w przypadku zastosowania temp. 60 °C (współczynnik zmienności wynosił odpowiednio 0,94 i 1,81 % w przypadku procesu ekstrakcji w 60 °C oraz 90 °C).



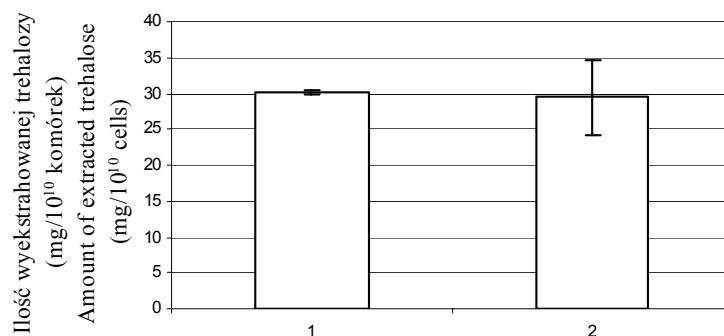
Rys. 3. Wpływ sposobu dezintegracji komórek na ilość wyekstrahowanej trehalozy (1- dezintegracja w 1 ml elentu, bez odparowywania; 2 – dezintegracja w 5ml etanolu i jego odparowanie w 105°C; 3 – dezintegracja w 5ml etanolu i jego odparowanie na wyparce próżniowej)

Fig. 3. Impact of cell disintegration scheme on the amount of extracted trehalose (1 – disintegration in 1 ml of eluent with no evaporation; 2 – disintegration in 5ml of ethanol and its evaporation at 105°C; 3 – disintegration in 5ml of ethanol and its evaporation using vacuum evaporator).



Rys. 4. Wydajność ekstrakcji trehalozy z komórek drożdży w zależności od temperatury i czasu trwania procesu dezintegracji.

Fig. 4. Efficiency of trehalose extraction from yeast cells depending on temperature and duration time of disintegration process



Rys. 5. Ekstrakcja trehalozy z komórek drożdży (1) oraz prób zawierających komórki drożdży i mąkę kukurydzianą (2).

Fig. 5. Trehalose extraction from yeast cells (1) and from samples containing yeast cells and cornstarch flour (2).

W kolejnym etapie doświadczeń badano wpływ obecności mąki kukurydzianej na proces ekstrakcji. W tym celu dezintegracji poddano próbę pobraną z bioreaktora (zawierającą mąkę kukurydzianą). Nie zaobserwowano kleikowania skrobi kukurydzianej obecnej w próbce podczas dezintegracji komórek drożdży z zastosowaniem wytypowanych parametrów (temp. 60 °C przez 60 min). Ilość wyekstrahowanej trehalozy nie różniła się w sposób statystycznie istotny od ilości trehalozy wyekstrahowanej z samych komórek (rys. 5.) i pozwoliła na znaczne skrócenie czasu przygotowania prób.

Wnioski

1. Wytypowane metody oznaczania trehalozy techniką HPLC mogą być wykorzystane do analizy trehalozy w próbach zawierających inne disacharydy (np. maltozę czy sacharozę), umożliwiają jej wykrycie na niskim poziomie (LOD < 1 µg) i cechują się dobrą precyzją (CV < 2 %).
2. Zastosowanie kolumny Carbohydrate Analysis Column (Waters) i eluentu o składzie ACN : MeOH : H₂O (60 : 15 : 25) umożliwiło wykrycie trehalozy na poziomie 0,175 µg, zapewniło oddzielenie trehalozy od pozostałych disacharydów, jednak nie pozwoliło na całkowity rozdział maltozy od sacharozy.
3. Zastosowanie kolumny Nucleosil NH₂ (Machery-Nagel) i eluentu o składzie ACN : MeOH : H₂O (70 : 15 : 15) umożliwiło całkowity rozdział wszystkich badanych cukrów (trehaloza, sacharoza, maltoza). Była to jednak metoda, która umożliwiła wykrycie trehalozy dopiero na poziomie 0,681 µg i charakteryzowała się mniejszą precyzją.

4. Metoda dezintegracji w obecności mieszaniny ACN : MeOH : H₂O (60 : 15 : 25) może z powodzeniem zastąpić metody ekstrakcji z wykorzystaniem etanolu, co znacznie upraszcza proces przygotowywania prób do analizy (brak konieczności użycia wyparki).
5. Wytypowano temperaturę 60 °C i czas 60 min jako najlepsze parametry procesu ekstrakcji trehalozy z komórek drożdży.

Badania wykonano w ramach grantu MNiSW 0619/P01/2007/02.

Literatura

- [1] Argüelles J.C.: Heat – shock response in a yeast *tps1* mutant deficient in trehalose synthesis. FEMS Yeast Res., 1994, **6**, 120-128.
- [2] Brinn M.: Transketolase: clinical aspects. Methods in Enzymology, ed. Colowick S.P., Kaplan N.O., Academic Press, 1966, pp. 506-514.
- [3] Dong Y., Yang Q., Jia S., Cio C.: Effects of high pressure on the accumulation of trehalose and glutathione in the *Saccharomyces cerevisiae* cells. Biochem. J., 2007, **37**, 226-230.
- [4] Ferreira J.C., Paschoalin V.M.F., Panek A.D., Trugo L.C.: Comparison of three different methods for trehalose determination in yeast extracts. Food Chem., 1997, **2**, 251-254.
- [5] Ferreira J.C., Thevelein J.M., Hohmann S., Paschoalin V.M., Trugo L.C., Panek A.D.: Trehalose accumulation in mutants of *Saccharomyces cerevisiae* deleted in the UDPG-dependent trehalose synthase-phosphatase complex. Biochim. Biophys. Acta, 1997, **1335**, 40-50.
- [6] Grajek W., Szymanowska D.: Stresy środowiskowe działające na drożdże *Saccharomyces cerevisiae* w procesie fermentacji etanolowej. Biotechnologia, 2008, **3 (82)**, 46-63.
- [7] Hallsworth J.E., Magan N.: A rapid HPLC protocol for detection of polyols and trehalose. J. Microbiol. Meth., 1997, **29**, 7-13.
- [8] Hallsworth J.E., Magan N.: Culture age, temperature, and pH affect the polyol and trehalose contents of fungal propagules. Appl. Environ. Microbiol., 1996, **62 (7)**, 2435-2442.
- [9] Higashiyama T.: Novel functions and applications of trehalose. Pure Appl. Chem., 2002, **74**, 1263-1266.
- [10] Holovati J.L., Acker J.P.: Spectrofotometric measurement of intraliposomal trehalose. Cryobiol., 2007, **55**, 98-107.
- [11] <http://www.pg.gda.pl/chem/Dydaktyka/Analityczna/ProfKaminski/3/11.pdf>: Oznaczanie ilościowe w HPLC.
- [12] Kadar Z., Szengyel Z., Reczey K.: Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. Ind. Crops and Products, 2004, **20**, 103-110.
- [13] Konieczka P., Namieśnik J.: Walidacja procedur analitycznych. W: Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych. WNT, Warszawa 2007, s. 275-276.
- [14] Miyazaki J.-I., Miyagawa K.-I., Sugiyama Y.: Trehalose accumulation by a basidiomycotinous yeast, *Filobasidium floriforme*. J. Ferment. Bioeng., 1996, **4**, 315-319.
- [15] Murray D.B., Hayashida Y., Nishimura K.: Trehalose analysis using ion exchange HPLC coupled with electrochemical detection. Biotech. Techniq., 1997, **11 (4)**, 269-270.
- [16] Page-Sharp M., Behm C.A., Smith G.D.: Involvement of the compatible solutes trehalose and sucrose in the response to salt stress of cyanobacterial *Scytonema* species isolated from desert soils. Biochim. Biophys. Acta, 1999, **1472**, 519-528.

- [17] Rao R.S., Jyothi Ch.P., Prakasham R.Sh., Rao Ch.C., Sarma P. N., Rao L.V.: Strain improvement of *Candida tropicalis* for the production of xylitol: biochemical and physiological characterisation of wild-type and mutant strain CT-OMV5. *J. Microbiol.*, 2006, **1**, 113-120.
- [18] Szczepaniak W.: Wysokosprawna chromatografia cieczowa. W: Metody instrumentalne w analizie chemicznej. PWN, Warszawa 2002, s. 258-259.
- [19] Tracey M. S., Watson K.: Stress tolerance in a yeast sterol auxotroph: role of ergosterol, heat shock proteins and trehalose. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1998, **169**, 191-197.
- [20] Vianna C.R., Silva C.L.C., Neves M.J., Rosa C.A.: *Saccharomyces cerevisiae* strains from traditional fermentations of Brazilian cachaca: trehalose metabolism, heat and ethanol resistance. *Antonie van Leeuwenhoek. Int. J. Gen. Mol. Microb.*, 2008, **93**, 205-217.
- [21] Wera S., Schrijver de E., Geyskens I., Nwaka S., Thevelein J.M.: Opposite roles of trehalase activity in heat-shock recovery and heat-shock survival in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. J.*, 1999, **343**, 621-626.
- [22] Wolska-Mitaszko B.: Trehaloza – substancja przedziwna. Właściwości, występowanie, zastosowanie. *Biotechnologia*, 2001, **53**, 36-53.
- [23] Zhou Y., Yuan Q., Gao H., Ma R.Y.: Production of trehalose by permeabilized *Micrococcus QS412* cells. *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2006, **43**, 137-141.
- [24] Zimmermann, F.K., Eaton N.R.: Genetics of induction of catabolic repression of maltose synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Gener. Genet.*, 1974, **134**, 165-275.

OPTIMIZING THE PROCESS OF EXTRACTING TREHALOSE FROM YEAST CELLS AND SPECIFYING PARAMETERS OF ITS DETERMINATION BY HPLC TECHNIQUE

S u m m a r y

A technique of High Performance Liquid Chromatography was applied to determine trehalose in the samples, which could contain other disaccharides (maltose, sucrose). Two columns and various mobile phases of eluents were tested as regards the efficiency of resolution. The limits of detection and determination were estimated as were the range of linearity and the precision of the selected methods. Moreover, the process of extracting trehalose from yeast cells was as regards the disintegrating substance, temperature, and extraction duration time).

Key words: trehalose, HPLC, *Saccharomyces cerevisiae* ☒

IZABELA PRZETACZEK, TERESA FORTUNA

WPLYW OGRZEWANIA MIKROFALOWEGO NA WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE ROZTWORÓW HYDROLIZATÓW SKROBI O RÓŻNYM STOPNIU DEPOLIMERYZACJI

Streszczenie

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu ogrzewania mikrofalowego na właściwości reologiczne roztworów maltodekstryn ziemniaczanych, różniących się stopniem scukrzenia.

Materiał badawczy stanowiły handlowe hydrolizaty skrobi o trzech stopniach depolimeryzacji oraz maltodekstryna laboratoryjna o średnim stopniu scukrzenia. Z badanych maltodekstryn sporządzono roztwory, które analizowano przy użyciu reometru rotacyjnego. Wykreślono krzywe płynięcia w temp. 50 °C oraz krzywe określające zależność lepkości od temperatury w zakresie od 20 do 60 °C. Do opisu krzywych płynięcia zastosowano model Herschela-Bulkley'a, Newtona, a model Arrheniusa wykorzystano do wyznaczenia parametrów krzywych zależności lepkości od temperatury.

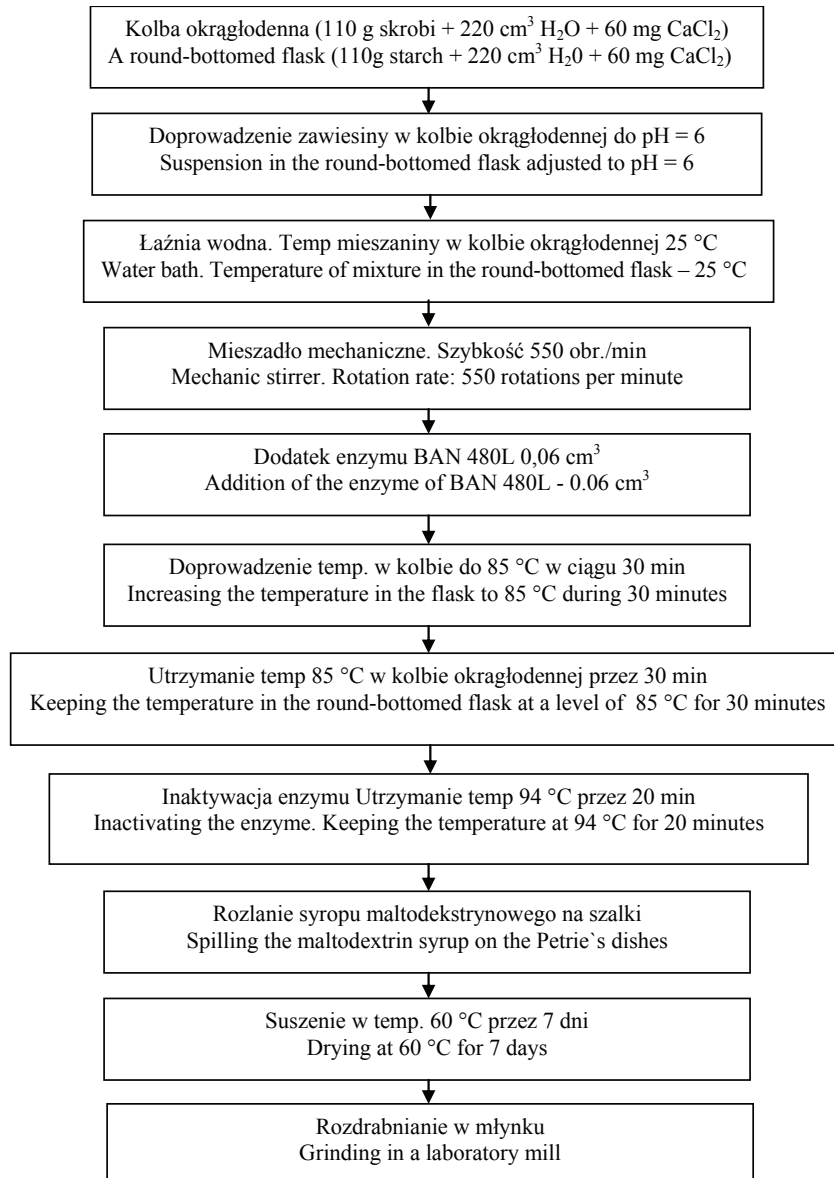
Przeprowadzone analizy dowiodły, że modyfikacja fizyczna maltodekstryn przyczyniła się do zmiany wielkości parametrów reologicznych sporządzonych z nich roztworów. Oddziaływanie polem mikrofalowym o mocy 440 W na hydrolizaty skrobiowe o średnim i wysokim stopniu depolimeryzacji spowodowało obniżenie wartości liczbowych współczynnika lepkości dynamicznej. Natomiast podwyższenie mocy mikrofalowania do 800 W przyczyniło się do wzrostu wielkości tego parametru, za wyjątkiem handlowej maltodekstryny średnio scukrzonej. Z kolei charakterystyka temperaturowa lepkości preparatów sporządzonych ze średnio i wysoko scukrzonych hydrolizatów skrobiowych nie uległa zmianie po ich ogrzewaniu mikrofalowym.

Słowa kluczowe: maltodekstryny, właściwości reologiczne, modyfikacja fizyczna maltodekstryn

Wprowadzenie

W produkcji artykułów spożywczych coraz powszechniej wykorzystuje się maltodekstryny. Stanowią one produkt niecałkowitej hydrolizy skrobi [21]. Ze względu na zróżnicowane właściwości fizykochemiczne i funkcjonalne są one stosowane w różnych gałęziach przemysłu spożywczego [4, 13]. Wykorzystywane są m.in. jako stabilizatory, emulgatory, neutralne wypełniacze, składniki żelotwórcze, materiały tworzące

powłoki, zagęstniki, środki spulchniające i inne. Hydrolizaty te również pełnią rolę substancji pomocniczych w suszeniu rozpyłowym, nośników aromatów, tłuszczów, barwników, związków zapachowych, ułatwiają dawkowanie niektórych sproszkowanych składników żywności [1, 7,10, 11, 18, 20, 22, 25].



Rys. 1. Schemat otrzymania maltodekstryny sposobem laboratoryjnym.

Fig. 1. Production diagram of maltodextrin using a laboratory method.

Poznanie właściwości reologicznych hydrolizatów skrobi jest niezbędne do opracowania właściwych receptur produktów spożywczych, których konsystencja będzie pożądana przez konsumentów, a także umożliwi racjonalne i efektywne wykorzystanie linii technologicznych [5, 9, 12]. Pomimo istotnego wpływu właściwości reologicznych roztworów maltodekstryn na strukturę produktów żywnościowych, nieliczne publikacje poświęcono tej tematyce [9]. Również nieliczne badania dotyczą wpływu pola mikrofalowego na właściwości funkcjonalne roztworów maltodekstryn. Zastosowanie pola mikrofalowego w trakcie przetwarzania żywności znacznie skraca czas procesu, ale może wpływać na zmianę właściwości produktu końcowego [6, 8, 14, 15]. Pomimo tego coraz częściej przy produkcji artykułów spożywczych wykorzystywane są generatory mikrofal, a także powszechnie jest stosowanie kuchenek mikrofalowych w gospodarstwach domowych.

Celem pracy była ocena wpływu ogrzewania mikrofalowego na maltodekstryny o różnym stopniu depolimeryzacji i zmiany właściwości reologicznych badanych roztworów.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły handlowe ziemniaczane maltodekstryny o niskim, średnim i wysokim stopniu scukrzenia (wyprodukowane przez Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemniaczanego NOWAMYL S.A. w Łobzie) oraz hydrolizat o średnim stopniu depolimeryzacji otrzymany metodą laboratoryjną poprzez enzymatyczną hydrolizę skrobi ziemniaczanej wyprodukowanej przez Przedsiębiorstwo Przemysłu Spożywczego PEPEES S.A. w Łomży. Do hydrolizy skrobi użyto preparatu BAN 480L – α -amylaza o standardowej aktywności 480 KNU/g, otrzymana metodą wglębnej hodowli wyselekcjonowanego szczepu *Bacillus amyloliquefaciens*. Preparat enzymatyczny pochodził z firmy Novozymes (Dania).

Schemat otrzymywania maltodekstryn laboratoryjnych zamieszczono na rys. 1. Zestaw do otrzymania maltodekstryny laboratoryjnej złożony był z kolby okrągłodennej, dwuszyjnej umieszczonej w łaźni wodnej. Do kolby odważano 110 g skrobi (w przeliczeniu na suchą masę), dodawano 220 cm³ wody destylowanej oraz 60 mg chlorku wapnia, a następnie zawiesinę doprowadzano do pH = 6 używając 1 % roztworu kwasu siarkowego(VI) lub wodorotlenku sodu. Kolbę umieszczano w łaźni wodnej o temp. 25 °C, a jej zawartość mieszano przy użyciu mieszadła obrotowego firmy Janke & Kunkel z częstotliwością 550 obr./min. Po uruchomieniu mieszadła dodawano do mieszaniny 0,06 cm³ preparatu enzymatycznego BAN 480 L. W ciągu 30 min doprowadzano temperaturę mieszaniny do 85 °C, stale kontrolując temperaturę łaźni wodnej i zawartość kolby. Temp. 85 °C utrzymywano przez 30 min, a po upływie tego czasu enzym inaktywowano termicznie poprzez doprowadzenie łaźni do wrzenia i utrzymanie tej temperatury przez 20 min (temp. mieszaniny wynosiła 94 °C). Następnie zawar-

tość kolby rozlewano na płytki Petriego i suszono w suszarce z nawiewem powietrza w temp. 60 °C do uzyskania 5 - 7 % wilgotności. Uzyskany preparat rozdrabniano w młynku laboratoryjnym firmy Retsch, model GRINDOMIX GM 200 w ciągu 90 s przy prędkości 10 000 obr./min.

W celu uzyskania odpowiedniej ilości materiału badawczego powtarzano wielokrotnie hydrolizę w identycznych warunkach i oznaczano wartości równoważnika glukozowego przy użyciu metody Schoorla-Regenboga [16]. Otrzymane laboratoryjne hydrolizaty skrobiowe, których wartość DE mieściła się w granicach między 16,50 a 18,50 zostały zmieszane i stanowiły materiał do dalszych badań, jako „laboratoryjna maltodekstryna średnio scukrzona”.

Wszystkie maltodesktryny będące wyjściowym materiałem badawczym w niniejszej pracy poddano modyfikacji w polu mikrofalowym. Naważkę maltodekstryn o masie 20 g (s.s.) rozprowadzano równomiernie na płytkach Petriego, a następnie poddawano działaniu promieniowania mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W oraz częstotliwości 2450 MHz w kuchence mikrofalowej firmy Panasonic NN-K257W przez 5 min. Następnie w celu ochłodzenia, po ogrzewaniu w kuchence mikrofalowej, szalki przenoszono do eksykatora.

Właściwości reologiczne roztworów maltodekstryn badano przy zastosowaniu reometru rotacyjnego Rheolab MC1 (Physica Meßtechnik GmbH, Niemcy), wykorzystując jako system pomiarowy układ współosiowych cylindrów (w przypadku maltodekstryn średnio i wysoko scukrzonych Z2 DIN - średnica cylindra wewnętrznego – 45,00 mm, średnica cylindra zewnętrznego – 48,80 mm, a maltodekstryny niskoscukrzonych Z3 DIN – średnica cylindra wewnętrznego – 25,00 mm, średnica cylindra zewnętrznego – 27,12 mm). Reometr i termostat (Viscotherm2) były sterowane komputerowo poprzez program US 200 ((Physica Meßtechnik GmbH, Niemcy).

W celu wyznaczenia krzywych płynięcia sporządzano 50 % wodne roztwory maltodekstryn handlowych i laboratoryjnych. Tak przygotowane próbki mieszano przez 15 min w temperaturze pokojowej przy użyciu mieszadła mechanicznego z szybkością 300 obr./min. Następnie naczynie z próbką ogrzewano w łaźni wodnej o temp. 95 ± 1 °C przez 15 min, przy ciągłym mieszaniu mieszadłem z prędkością 300 obr./min. Bezpośrednio po przygotowaniu, roztwory maltodekstryn umieszczano w elemencie pomiarowym reometru i termostatowano przez 10 min do temp. pomiaru wynoszącej $50 \pm 0,5$ °C.

Krzywe płynięcia wykreślano według programu:

- wzrastająca prędkość ścinania w zakresie $1-300 \text{ s}^{-1}$, w ciągu 10 min,
- stała prędkość ścinania 300 s^{-1} , w ciągu 2 min,
- malejąca prędkość ścinania w zakresie $1-300 \text{ s}^{-1}$, w ciągu 10 min.

Do opisu krzywych płynięcia zastosowano model reologiczny Newtona [3, 23]:

$$\tau = \eta \dot{\gamma}$$

gdzie:

- τ – naprężenie ścinające [Pa],
- η – współczynnik lepkości dynamicznej [Pa·s],
- $\dot{\gamma}$ – prędkość ścinania [s^{-1}].

Do wyznaczenie krzywych określających zależność lepkości od temperatury roztwory maltodekstryń średnio i wysoko scukrzonych przygotowano w taki sam sposób, jak do wykreślenia krzywych płynięcia. Natomiast w celu wykreślenia krzywych zależności lepkości roztworów maltodekstryny o najniższym stopniu depolimeryzacji od temperatury, sporządzono jej 25 % wodny roztwór. Stężenie roztworów hydrolizatu nisko scukrzonego musiało być zmniejszone ze względu na czułość aparatu.

Pomiary wykonywano w zakresie temperatury od 20 do 60 °C przy stałej prędkości ścinania równej 10 s^{-1} . Uzyskane krzywe opisano eksperymentalnie równaniem Arrheniusa [17]:

$$\eta = \eta_{\infty} \exp(E_a/RT)$$

gdzie:

- η – lepkość pozorna [Pa·s],
- η_{∞} – stała materiałowa [Pa·s],
- E_a – energia aktywacji zjawiska płynięcia [kJ/mol],
- R – stała gazowa równania 8,314 [J/(K·mol)]

Obliczenia parametrów zastosowanych modeli wykonano wykorzystując oprogramowanie komputerowe US 200.

Wykaz skrótów użytych w pracy:

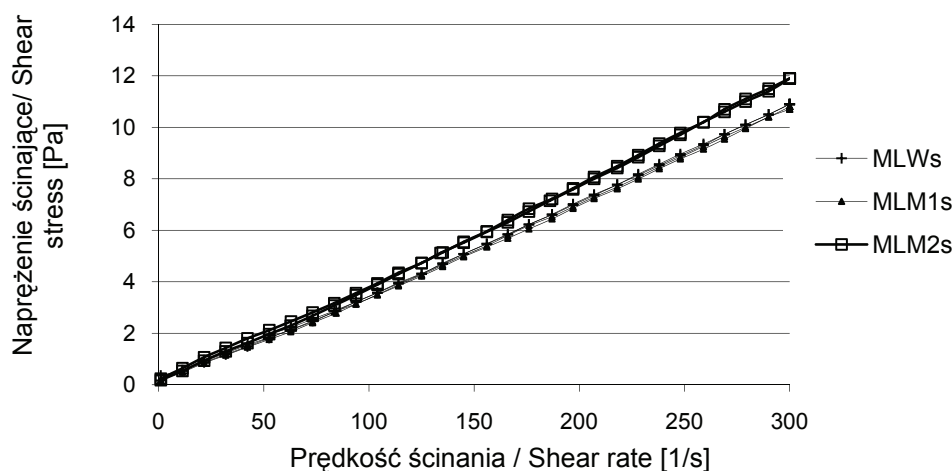
MLWs	maltodekstryna laboratoryjna wyjściowa średnio scukrzona, native, medium saccharified laboratory maltodextrin
MLM1s	maltodekstryna laboratoryjna mikrofalowana w polu o mocy 440 W, laboratory maltodextrin irradiated using 440 W microwaves
MLM2s	maltodekstryna laboratoryjna mikrofalowana w polu o mocy 800 W, laboratory maltodextrin irradiated using 800 W microwaves
MHWn	maltodekstryna handlowa wyjściowa nisko scukrzona, native, commercial low saccharified maltodextrin
MHM1n	maltodekstryna handlowa mikrofalowana w polu o mocy 440 W nisko scukrzona, commercial, low saccharified maltodextrin irradiated using 440 W microwaves
MHM2n	maltodekstryna handlowa modyfikowana w polu o mocy 800 W średnio scukrzona, commercial, medium saccharified maltodextrin irradiated using 800 W microwaves
MHWs	maltodekstryna handlowa wyjściowa średnio scukrzona, native, commercial, medium saccharified maltodextrin
MHM1s	maltodekstryna handlowa mikrofalowana w polu o mocy 440 W średnio scukrzona, commercial, medium saccharified maltodextrin irradiated using 440 W microwaves
MHM2s	maltodekstryna handlowa modyfikowana w polu o mocy 800 W średnio scukrzona, commercial, medium saccharified maltodextrin irradiated using 800 W microwaves

MHWw	maltodekstryna handlowa wyjściowa wysoko scukrzona, native, commercial, highly saccharified maltodextrin
MHM1w	maltodekstryna handlowa mikrofalowana w polu o mocy 440 W wysoko scukrzona, commercial, highly saccharified maltodextrin irradiated using 440 W microwaves
MHM2w	maltodekstryna handlowa mikrofalowana w polu o mocy 800 W wysoko scukrzona commercial, highly saccharified maltodextrin irradiated using 800 W microwaves

Wyniki i dyskusja

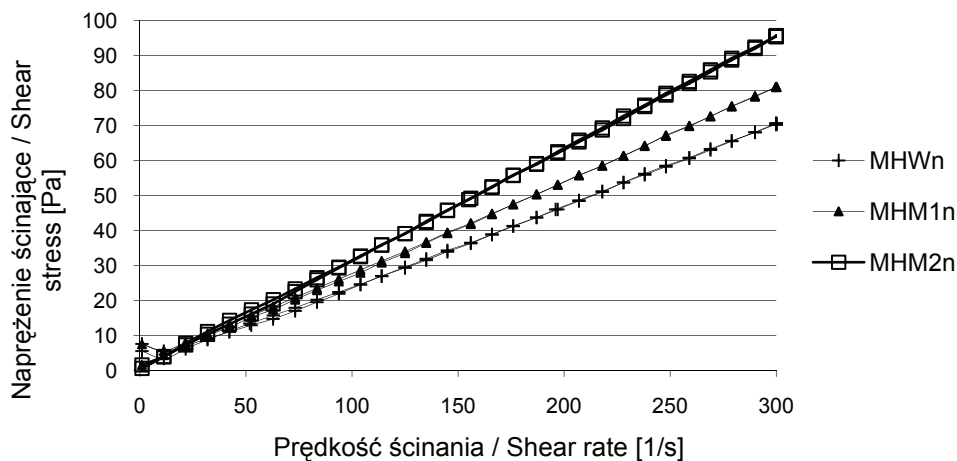
Wyniki pomiarów reologicznych roztworów maltodekstryn przedstawiono w postaci krzywych płynięcia na rys. 2 - 5 oraz krzywych zależności lepkości od temperatury na rys. 6 - 9. Z kolei, w tab. 1. i 2. umieszczono uzyskane wartości liczbowe parametrów modeli zastosowanych do opisu tych krzywych.

Spośród roztworów sporządzonych z wyjściowych maltodekstryn niepoddanych modyfikacji fizycznej, najwyższą wielkość naprężeń ścinających w całym zakresie zastosowanych prędkości ścinania charakteryzowała się handlowa maltodekstryna niskoscukrzona (rys. 3). Pozostałe maltodekstryny handlowe oraz laboratoryjna odznaczały się zbliżonymi wielkościami tego parametru i tylko nieznacznie malały wraz ze wzrostem stopnia depolimeryzacji (rys. 2, 4 i 5). Analizując wyznaczone krzywe płynięcia zaobserwowano nieznaczny wpływ modyfikacji polem mikrofalowym na wzrost wielkości naprężeń ścinających handlowych maltodekstryn nisko i wysoko scukrzonych oraz maltodekstryny laboratoryjnej w stosunku do wyjściowych hydrolizatów (rys. 2, 3 i 5). W przypadku handlowej maltodekstryny średnio scukrzonej wielkości naprężeń ścinających malały wraz ze wzrostem zastosowanej mocy mikrofal (rys. 4).



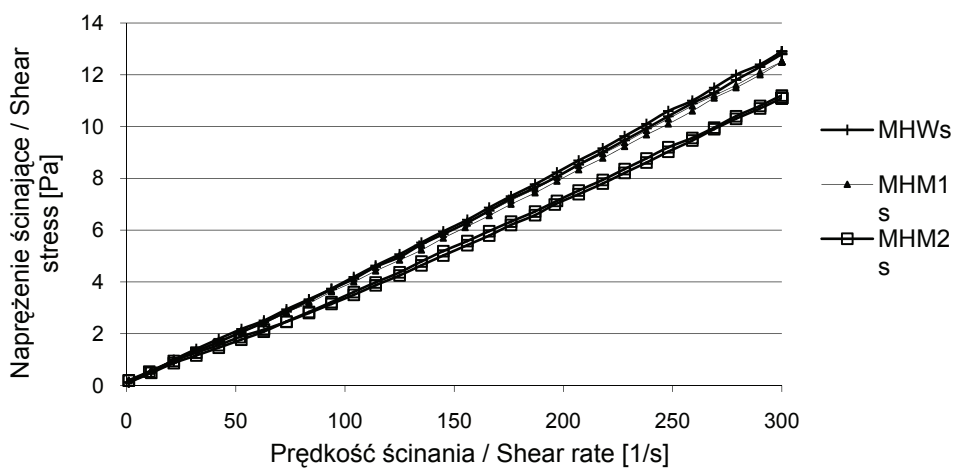
Rys. 2. Krzywe płynięcia 50 % roztworów maltodekstryny laboratoryjnej średnio scukrzonej, wyjściowej i poddanej działaniu pola mikrofalowego.

Fig. 2. Flow curves of 50 % solutions of native, medium saccharified, laboratory maltodextrin irradiated using microwaves.



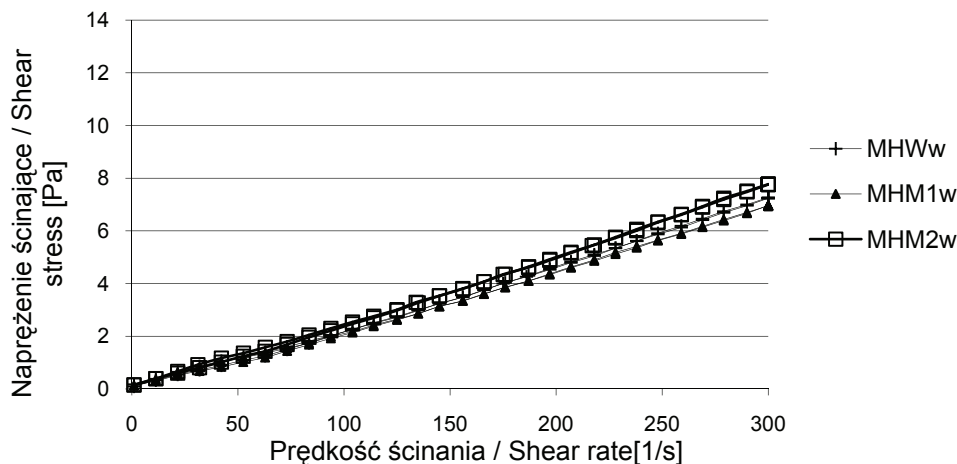
Rys. 3. Krzywe płynięcia 50 % roztworów maltodekstryny handlowej nisko scukrzonej, wyjściowej i poddanej działaniu pola mikrofalowego.

Fig. 3. Flow curves of 50 % solutions of native, commercial, low saccharified maltodextrin irradiated using microwaves.



Rys. 4. Krzywe płynięcia 50 % roztworów maltodekstryny handlowej średnio scukrzonej, wyjściowej i poddanej działaniu pola mikrofalowego.

Fig. 4. Flow curves of 50 % solutions of native, commercial, medium saccharified maltodextrin irradiated using microwaves.



Rys. 5. Krzywe płynięcia 50 % roztworów maltodekstryny handlowej wysoko scukrzonej, wyjściowej i poddanej działaniu pola mikrofalowego.

Fig. 5. Flow curves of 50 % solutions of native, commercial high saccharified maltodextrin irradiated using microwaves.

Do opisu doświadczalnych krzywych płynięcia zastosowano model Newtona. Uzyskane wartości liczbowe parametrów modelu reologicznego opisujących krzywe płynięcia umieszczono w tab. 1. Wysokie wartości liczbowe współczynnika determinacji R^2 świadczą o wysokim dopasowaniu wybranego modelu do danych eksperymentalnych. Wielkości współczynnika determinacji modelu Newtona badanych roztworów wynosiły ponad 0,99 (tab.1).

Analizując wartości liczbowe współczynnika lepkości dynamicznej η modelu Newtona, odnoszących się do roztworów maltodekstryn, nie zaobserwowano stałych zależności między wielkością tego współczynnika i mocą mikrofalowania w przypadku wszystkich maltodekstryn.

Wartość liczbową współczynnika lepkości dynamicznej rosła wraz ze wzrostem mocy napromieniowania mikrofalami handlowej maltodekstryny nisko scukrzonej (tab. 1), ale jednocześnie malała wraz z mocą mikrofalowania handlowej maltodekstryny średnio scukrzonej (tab. 1). Modyfikacja handlowej maltodekstryny wysoko scukrzonej oraz hydrolizatu skrobiowego otrzymanego w laboratorium działaniem pola mikrofalowego o mocy 440 W spowodowała obniżenie wartości liczbowej współczynnika lepkości dynamicznej, a moc 800 W wpłynęła na wzrost wielkości tego parametru (tab. 1).

Lepkość badanych roztworów maltodekstryn zależała od stopnia depolimeryzacji i malała wraz ze wzrostem wartości równoważnika glukozowego (tab. 1). Podobną zależność zaobserwowali Dokic i wsp. [2] oraz Fortuna i wsp. [5]. Odmienne ob-

serwacji dokonali Tur i wsp. [24], którzy stwierdzili, że wraz ze wzrostem równoważnika glukozowego lepkość pozorna hydrolizatów zwiększa się.

Należy również zwrócić uwagę, że handlowa maltodekstryna o najniższym stopniu depolimeryzacji wykazała prawie 10-krotnie większą wartość liczbową współczynnika lepkości dynamicznej (tab. 1). Przyczyną tego najprawdopodobniej może być znacząca zawartość skrobi niespolimeryzowanej, która w trakcie przygotowywania próbek do analiz reologicznych kleikowała, a tym samym powodowała znacznie większą lepkość badanych roztworów.

Przeprowadzone analizy dowiodły, że roztwory maltodekstryn charakteryzowały się przepływem zbliżonym do newtonowskiego. Podobne rezultaty pomiarów reologicznych uzyskali Dokic i wsp. [2], Fortuna i wsp. [5] oraz Rzepka i wsp. [19]. Należy również zaznaczyć, że poddanie badanych maltodekstryn działaniu pola mikrofalowego nie wpłynęło znacząco na zmianę charakteru przepływu w stosunku do wyjściowych hydrolizatów (tab. 1).

Tabela 1

Wartości liczbowe parametrów reologicznych modelu Newtona badanych roztworów maltodekstryn, wyjściowych oraz poddanych działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W. Rheological parameter values of Newton model of native maltodextrin solutions studied and irradiated using 400 W or 800 W microwaves.

Samples	Wartości parametrów modelu Newtona Parameter values of the Newton model	
	η [Pa·s]	R^2
MLWs	0,0362	0,9990
MLM1s	0,0354	0,9991
MLM2s	0,0396	0,9987
MHWn	0,2415	0,9969
MHM1n	0,2808	0,9965
MHM2n	0,3220	0,9993
MHWs	0,0416 d	0,9992
MHM1s	0,0406 d	0,9990
MHM2s	0,0360	0,9985
MHWw	0,0234	0,9981
MHM1w	0,0226	0,9983
MHM2w	0,0256	0,9987

Objaśnienie: / Explanatory note:

Małymi literami a, b, c, d znaczone wartości liczbowe w kolumnach nie różniące się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$ / Small letters a, b, c, and d were used to denote numerical values, which do not differ significantly statistically at $\alpha = 0.05$.

Badane roztwory maltodekstryn opisano, wykreślając krzywe zmian lepkości badanych hydrolizatów od temp. w zakresie 20 - 60 °C przy stałej prędkości ścinania równej 10 s⁻¹. Dane doświadczalne opisano modelem Arrheniusa. Roztwory wszystkich hydrolizatów skrobi z wyjątkiem preparatów sporządzonych na bazie handlowej maltodekstryny niskoscukrzonyj charakteryzowały się wysokim współczynnikiem determinacji ($R^2 > 0,99$) (tab. 2). Świadczy to o wysokim stopniu dopasowania eksperymentalnych danych do wybranego modelu. Na podstawie analizy wykreślonych krzywych wynika że modyfikacja maltodekstryn mikrofalami nie wpłynęła na zmianę lepkości tych roztworów (rys. 6, 8 i 9).

Tabela 2

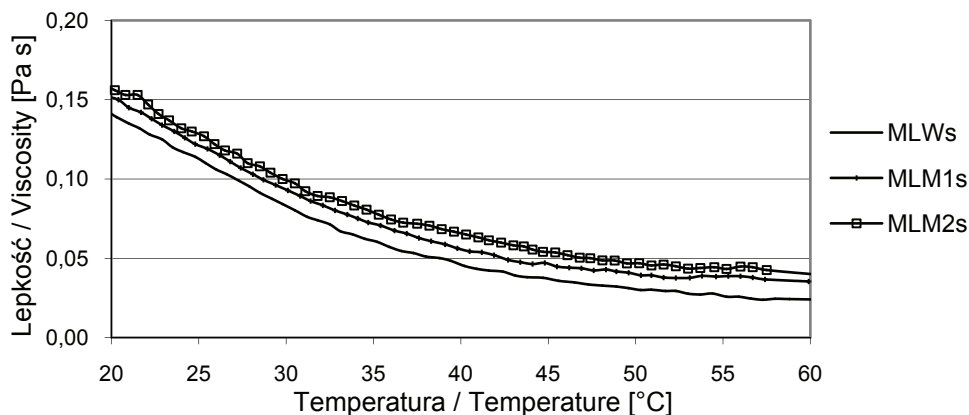
Wartości liczbowe parametrów modelu Arrheniusa badanych roztworów maltodekstryn, wyjściowych oraz poddanych działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W.

Parameter values of Arrhenius model of native maltodextrin solutions irradiated using 400 W or 800 W microwaves.

Samples	Wartości parametrów modelu Arrheniusa Parameter values of Arrhenius model		
	η_{∞} [Pa·s]	E_a [kJ/mol]	R^2
MLWs	$1,55 \cdot 10^{-8}$ a	39,02	0,9958
MLM1s	$2,26 \cdot 10^{-7}$ a	32,55	0,9913
MLM2s	$5,43 \cdot 10^{-5}$	22,24	0,9910
MHWn	$6,59 \cdot 10^{-5}$ b	14,29	0,8986
MHM1n	$6,11 \cdot 10^{-6}$ b	16,82 a	0,9409
MHM2n	$2,51 \cdot 10^{-5}$ b	17,13 a	0,9271
MHWs	$6,02 \cdot 10^{-6}$ c	24,85 b	0,9968
MHM1s	$1,13 \cdot 10^{-5}$	23,25 b	0,9917
MHM2s	$7,38 \cdot 10^{-6}$ c	30,04	0,9948
MHWw	$1,05 \cdot 10^{-7}$ d	32,84	0,9929
MHM1w	$6,49 \cdot 10^{-8}$ d	34,12 c	0,9978
MHM2w	$4,97 \cdot 10^{-8}$ d	34,89 c	0,9972

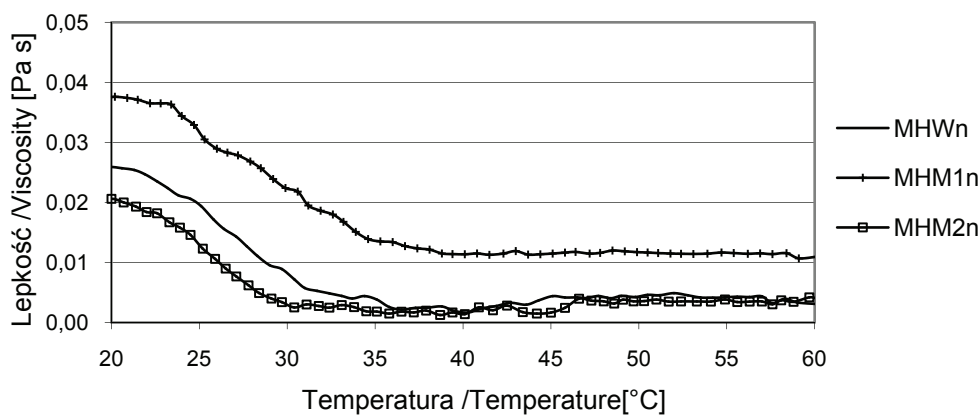
Objaśnienie jak pod tab. 2 / Explanatory note as in Tab. 2.

W zakresie temperatury od 35 do 60 °C wszystkie roztwory badanych hydrolizatów skrobiowych wykazały bardzo niewielkie zmiany lepkości (rys. 6 - 9). Wartości liczbowe parametrów opisujące krzywe zmian lepkości od temperatury zamieszczono w tab. 2. Sens stałej materiałowej (η_{∞}) wciąż jest przedmiotem dyskusji, natomiast energia aktywacji płynięcia (E_a) określa podatność badanej próbki na zmianę temperatury. Próbkę bardziej wrażliwą charakteryzuje wyższa wartość liczbową tego parametru.



Rys. 6. Zależność lepkości 50 % roztworów laboratoryjnej maltodekstryny, średnio scukrzonej wyjściowej i poddanej działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W, od temperatury.

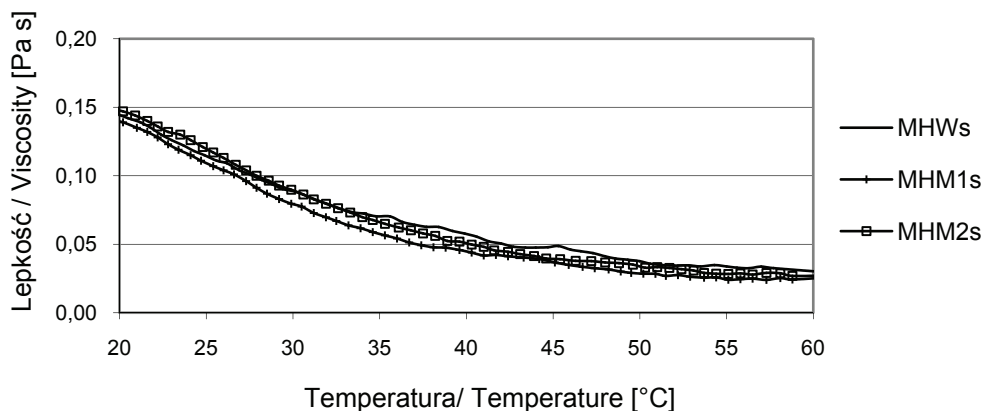
Fig. 6. Viscosity curves of 50% (w/w) solutions of native, medium saccharified laboratory maltodextrin irradiated using 400 or 800 W microwaves.



Rys. 7. Zależność lepkości 25 % roztworów handlowej maltodekstryny niskoscukrzonej wyjściowej i poddanej działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W od temperatury.

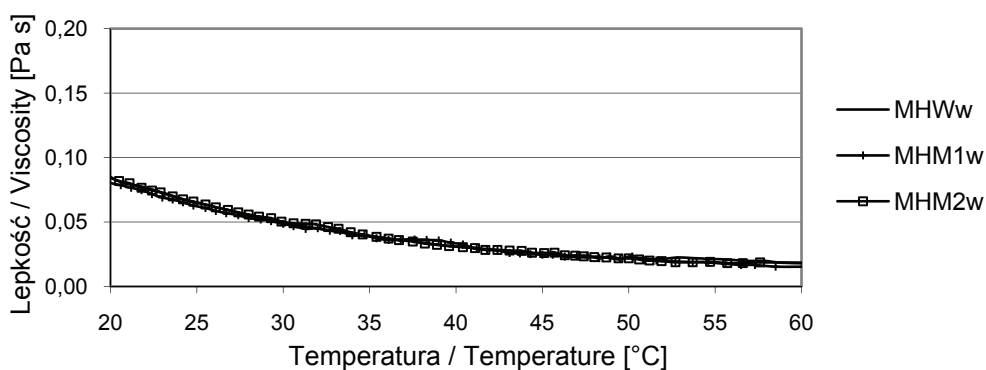
Fig. 7. Viscosity curves of 25% (w/w) solutions of native, commercial, low saccharified maltodextrin irradiated using 400 W or 800 W microwaves.

Najwyższą wartość energii aktywacji płynięcia wśród hydrolizatów skrobi niepoddanych działaniu pola mikrofalowego wykazała maltodekstryna laboratoryjna oraz handlowa maltodekstryna wysoko scukrzona, a najniższą handlowa maltodekstryna nisko scukrzona (tab. 2). Dowodzi to słuszności teorii, że lepkość jest liniowo zależna od stopnia depolimeryzacji i maleje wraz ze wzrostem wartości równoważnika glukozowego [2].



Rys. 8. Zależność lepkości 50 % roztworów handlowej maltodekstryny, średnio scukrzonęj wyjściowej i poddanej działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W, od temperatury.

Fig. 8. Viscosity curves of 50 % (w/w) solutions of native, commercial, medium saccharified maltodextrin irradiated using 440 W or 800 W microwaves.



Rys. 9. Zależność lepkości 50 % roztworów handlowej maltodekstryny, wysoko scukrzonęj wyjściowej i poddanej działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W, od temperatury.

Fig. 9. Viscosity curves of 50 % (w/w) solutions of native, commercial, high saccharified maltodextrin irradiated using 400 W or 800 W microwaves.

Modyfikacja laboratoryjnej maltodekstryny średnio scukrzonęj polem mikrofalowym wpłynęła na obniżenie wielkości parametru E_a tych roztworów (tab. 2). Handlowy hydrolizat o średnim stopniu scukrzonienia poddany działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W nie wykazał istotnych różnic wielkości energii aktywacji w stosunku do wyjściowego hydrolizatu. Natomiast modyfikacja tej maltodekstryny w polu mikrofalowym o mocy 800 W spowodowała podwyższenie wartości liczbowej tego parametru w stosunku do roztworu sporządzonego z handlowej maltodekstryny średnio scukrzonęj niemikrofalowanej (tab. 2). Energia aktywacji handlowych maltodekstryń o najniż-

szym i najwyższym stopniu scukrzenia uległa istotnemu podwyższeniu po poddaniu ich modyfikacji w polu mikrofalowym (tab. 2).

Pomiędzy energią aktywacji płynięcia a wartością liczbową stałej materiałowej istnieje ujemna korelacja i im energia aktywacji płynięcia uzyskuje wyższe wartości, tym wartość stałej materiałowej maleje.

Wnioski

1. Roztwory wyjściowych maltodekstryn ziemniaczanych o różnym stopniu depolimeryzacji wykazały charakter cieczy newtonowskich, a ich modyfikacja fizyczna przy wykorzystaniu pola mikrofalowego nie spowodowała zmiany charakteru płynięcia.
2. Tylko w przypadku maltodekstryny handlowej o średnim stopniu depolimeryzacji zaobserwowano wpływ ogrzewania mikrofalowego na zmianę położenia krzywych płynięcia. Wielkości naprężeń ścinających malały wraz ze wzrostem użytej mocy pola mikrofalowego. W przypadku pozostałych maltodekstryn nie stwierdzono wpływu ogrzewania mikrofalowego na zmianę wielkości naprężeń ścinających badanych roztworów.
3. Charakterystyka temperaturowa lepkości roztworów maltodekstryn średnio i wysoko scukrzonych nie zmieniła się po ogrzewaniu mikrofalowym.

Literatura

- [1] Bryjak J.: Enzymatyczna hydroliza skrobi do syropów maltodekstrynowych i skrobiowych. Cz. I. Enzymy. Biotech., 1999, **1** (44), 181-200.
- [2] Dokic P., Jakovljevic J., Dokic-Baucal Lj.: Molecular characteristics of maltodextrins and rheological behaviour of diluted and concentrated solutions. Coll. and Surf. A: Phys. and Eng. Asp., 1998, **141**, 435-440.
- [3] Ferguson J., Kembłowski Z.: Reologia stosowana płynów. Wyd. Marcus sc, Łódź, XXXII Sesja Nauk. KTiCHŻ PAN „Technologia żywności a oczekiwania konsumentów”, SGGW, Warszawa 1995.
- [4] Fortuna T., Sobolewska J.: Maltodekstryny i ich wykorzystanie w przemyśle spożywczym. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość., 2000, **2** (23), 100-109.
- [5] Fortuna T., Sobolewska-Zielińska J., Juszcak L.: Wybrane właściwości reologiczne roztworów maltodekstryn ziemniaczanych. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 2002, **489**, 413-422.
- [6] Fortuna T., Przetaczek I., Dyrek K., Bidzińska E., Łabanowska M.: Some physicochemical properties of commercial modified starches irradiated with microwaves. EJPAU, 2008, **11** (4), 20.
- [7] Gibiński M., Korus J.: Maltodekstryny jako skrobiowe zamienniki tłuszczu. Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roś., 2006, **239**, 303-318.
- [8] Gralik J.: Wpływ czynników fizycznych na wybrane właściwości fizykochemiczne, biochemiczne, technologiczne i odporność ziarna na owadzie szkodniki magazynowe. Wyd. AR w Poznaniu, 2003.
- [9] Jarosławski L., Zielonka R., Słomińska L.: Zmiany lepkości roztworów maltodekstryn w zależności od stopnia ich scukrzenia. Mat. Konf. Nauk. pt. „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego

- przetwarzania. Perspektywy ekologicznej produkcji ziemniaka w Polsce”, Polanica Zdrój, 2002, ss. 137-138.
- [10] Krzyżaniak W., Olesienkiewicz A., Białas W., Słomińska L., Jankowski T., Grajek W.: Charakterystyka chemiczna maltodekstryn o małym równoważniku glukozowym otrzymanych przez hydrolizę skrobi ziemniaczanej za pomocą alfa-amylaz. *Technol. Alim.*, 2003, **2**, 5-15.
- [11] Kuntz L.A.: Making the most of maltodextrins. *Food Prod. Des.*, 1997, **8**, 89-104.
- [12] Lewandowicz G., Prochaska K., Grajek W., Krzyżaniak W., Majchrzak A., Ciapa T.: Właściwości użytkowe maltodekstryn w układach emulsyjnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2005, **42**, 35-47.
- [13] Maarel van M.J.E.C., Veen van der B., Uitdehaag J.C.M., Leemhuis H., Dijkhuizen L.: Properties and application of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *J. Biotechnol.*, 2002, **94**, 137-155.
- [14] Mitrus M.: Zastosowanie mikrofal w technologii żywności. *Post. Nauk Rol.*, 2000, **4**, 99-114.
- [15] Parosa R.: Mikrofałe w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.*, 2007, **1**, 15-19.
- [16] PN-78/A-74701. Hydrolizaty skrobiowe (krochmalowe). *Metodyka badań*
- [17] Rao M.A.: Rheology of fluid and semisolid foods-principles and applications. G.V.Barbosa-Canovas, Ed., Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, USA, 1999.
- [18] Roller S.: Starch-Derived Fat Mimetics: Maltodextrin: in *Handbook of Fat Replacers*, ed by Roller S., Jones S., CRC Boca Raton, New York, London, Tokyo, 1996.
- [19] Rzepka E., Stecka K.M., Milewski J., Bachoda E.: Zmiany lepkości hydrolizatów skrobiowych w procesie zacierania. *Prace Instytutu i Laboratoriów Badawczych Przemysłu Spożywczego*, 2000, **55**, 5-21.
- [20] Słomińska L.: Nowości w produkcji enzymów stosowanych w hydrolizie skrobi. *Przem. Spoż.*, 1993, **12**, 341-342.
- [21] Słomińska L.: Enzymatyczne metody transformacji skrobi. *Przem. Spoż.*, 1995, **12**, 472-475, 480.
- [22] Słomińska L.: Węglowodanowe zamienniki tłuszczu. *Przem. Spoż.*, 1999, **53**, 7, 12-15.
- [23] Steffe J.F.: *Rheological methods in food process engineering*. Freeman Press, East Lansing, MI, USA, 1996.
- [24] Tur W., Szczepanik E., Krzyżaniak W., Białas W., Grajek W.: Charakterystyka maltodekstryn otrzymanych ze skrobi ziemniaczanej przy użyciu preparatów amylolytycznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2004, **4 (41)**, 79-94.
- [25] Walkowski A., Lewandowicz G.: Właściwości użytkowe krajowych, spożywczych skrobi modyfikowanych. *Przem. Spoż.*, 1993, **5**, 127-129.

EFFECT OF MICROWAVE IRRADIATION ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF STARCH HYDROLYSATE SOLUTIONS SHOWING DIFFERENT DEGREE OF DEPOLYMERIZATION

S u m m a r y

The objective of this study was to assess the impact of microwave irradiation on rheological properties of potato maltodextrin solutions showing different saccharification degree.

The investigation material constituted commercial potato hydrolysates with three degrees of depolymerization and a laboratory maltodextrin of a middle degree of saccharification. The maltodextrins studied were used to make solutions, which were analyzed using a rotational rheometer. Flow curves at 50 °C were plotted as were curves determining the relation between viscosity and temperature in the range from

20 to 60 °C. In order to describe flow curves, Herschel-Bulkley and Newton models were applied, and Arrhenius model was used to determine the parameters of viscosity-temperature curves.

The analyses accomplished proved that the physical modification of maltodextrins contributed to a change in the values of rheological parameters of solutions made thereof. The impact of a 440 W microwave irradiation on the potato hydrolysates with a medium and high degree of depolymerization caused the decrease in numerical values of dynamic viscosity coefficient. The increased microwave irradiation power to 800 W caused this parameter to increase, too, except for a commercial, medium saccharified maltodextrin. On the other hand, the temperature characteristic of viscosity of preparations made of medium and highly saccharified starch hydrolysates did not change after their microwave irradiation.

Key words: maltodextrins, rheological properties, physical modification of maltodextrins 

MAŁGORZATA PIECYK, MARTA KONARZEWSKA, IWONA SITKIEWICZ

**WPLYW MODYFIKACJI HYDROTERMICZNEJ TYPU ANNEALING
NA WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI SKROBI GROCHU
(*PISUM SATIVUM*)**

Streszczenie

W pracy otrzymano preparaty ze zmielonych i obłuszczonych nasion grochu (*Pisum sativum*) odmiany Poa i Ramir, kóre poddawano modyfikacji hydrotermicznej (stosunek skrobia : woda 1:2) w temperaturze 60 °C przez 24 h.

Uzyskane preparaty charakteryzowały się wysoką zawartością skrobi tj. ponad 92 % w s.m. Zawartość amylozy w skrobi była na zbliżonym poziomie w obu odmianach i wносиła odpowiednio 26,5 % w grochu odmiany Poa i 24 % w odmianie Ramir. Wodochłonność w temp. 60 °C była na tym samym poziomie w obu odmianach, natomiast rozpuszczalność była wyższa w grochu odmiany Poa niż w odmianie Ramir i wynosiła odpowiednio 10,3 i 7,1 %. Podniesienie temperatury do 80 °C wpłynęło na zwiększenie zarówno rozpuszczalności, jak i wodochłonności. Badane skrobie charakteryzowały się dość niską strawnością wynoszącą 44,6 % i 36,8 %, odpowiednio w przypadku odmiany Poa i odmiany Ramir.

Zastosowanie modyfikacji hydrotermicznej typu annealing spowodowało dodatkowe oczyszczenie skrobi przez zmniejszenie zawartości białka i związków mineralnych oznaczonych w postaci popiołu. Stwierdzono również zmniejszenie udziału frakcji amylozy oraz zawartości fosforu, co prawdopodobnie wpłynęło na powstanie nowych obszarów krystalicznych w wyniku silniejszego związania się łańcuchów amylopektyny, a w efekcie przyczyniło się do obniżenia powierzchni właściwej ziarenek skrobi, ich wodochłonności oraz rozpuszczalności zarówno w temp. 60 °C, jak i 80 °C. Stwierdzono również znaczną poprawę strawności *in vitro* skrobi (~2-krotną) w obu preparatach.

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

Wprowadzenie

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

Dr inż. M. Piecyk, mgr inż. M. Konarzevska, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Jakości Żywności, dr inż. I. Sitkiewicz, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

sacharydów, chociaż zawierają od 24 do 68 % tych związków [28], z czego skrobia stanowi 22 – 45 % [12]. Skrobie roślin strączkowych różnią się pod względem zawartości amylozy, kompleksów amylozo-lipidowych i zakresu asocjacji łańcuchów wewnątrz natywnych ziaren skrobiowych [9].

Właściwości skrobi decydują o jej zastosowaniu w produktach żywnościowych. W zależności od końcowego zastosowania, jedną lub więcej tych właściwości, które mogą zostać uznane za niepożądane lub niewystarczające, można poprawić stosując modyfikacje skrobi [1], a właściwości skrobi macierzystych mają znaczący wpływ na właściwości skrobi modyfikowanych [31].

Tradycyjne metody modyfikacji skrobi obejmują zmiany struktury cząsteczkowej i nadcząsteczkowej skrobi w toku przemian fizycznych, chemicznych, enzymatycznych [20] bądź też kombinacje tych metod, przy czym najczęściej stosowane są metody chemiczne, gdyż są one najefektywniejsze [19].

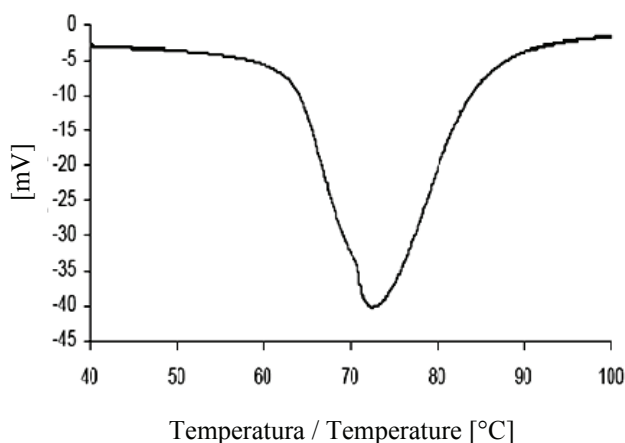
Stosowanie skrobi modyfikowanych chemicznie nie zawsze jest korzystne pod względem żywieniowym, w opinii konsumentów. Zastrzeżenia dotyczą głównie fosforanów skrobiowych, którym przypisuje się zwiększenie ilości fosforu w polskiej diecie, charakteryzującej się i tak niekorzystnym stosunkiem Ca : P. Niektóre skrobie modyfikowane spożywane w większych ilościach mogą również wywierać niekorzystny wpływ na skład krwi, a w szczególności na poziom cholesterolu we krwi [4, 5]. Dlatego też obserwuje się wzrost zainteresowania modyfikacją fizyczną, ze względu na większe bezpieczeństwo dla zdrowia związane z zastosowaniem tak modyfikowanej skrobi, co ma duże znaczenie zwłaszcza w przypadku stosowania jej w żywności [15]. Najczęściej stosowane modyfikacje hydrotermiczne, zmieniające właściwości fizykochemiczne skrobi bez utraty jej ziarnistej struktury to: *annealing* (ANN) – inkubacja skrobi przy nadmiarze wody (>60 % m/m) lub przy pośredniej zawartości (40 - 55 %) lub *heat-moisture treatment* (HMT) – inkubacja skrobi przy niskim poziomie wilgotności (<35 % m/m).

Modyfikacja typu *annealing* nie wpływa na wielkość i kształt ziarenek skrobiowych [32], natomiast prowadzi do podniesienia temperatury kleikowania skrobi o 4 – 8 °C, nawet do 10 °C w przypadku modyfikacji wielostopniowej [14], oraz zawężenia zakresu temperatury, w którym proces ten zachodzi. Obie modyfikacje mają też różny wpływ na inne właściwości funkcjonalne skrobi: kleikowanie, zdolność pęcznienia i ługowania amylozy oraz podatność na kwasową i enzymatyczną hydrolizę, w zależności m.in. od botanicznego pochodzenia skrobi i warunków przeprowadzania modyfikacji [14, 32].

Celem pracy było określenie wpływu modyfikacji hydrotermicznej typu *annealing* na właściwości skrobi otrzymanej z nasion dwóch odmian grochu (*Pisum sativum*).

Material i metody badań

Material badawczy stanowiła mąka z nasion grochu (*Pisum sativum*) dwóch odmian Poa i Ramir, z których wyizolowano skrobię. W tym celu prowadzono ekstrakcję białek w środowisku o pH 10, następnie przemywano osad wodą i trzykrotnie alkoholem etylowym o wzrastającym stężeniu (30, 50 i 70 %), po czym suszono w temp. 22 - 25 °C, mielono i przesiewano przez sита o średnicy oczek 0,08 mm w celu uzyskania jednolitej granulacji końcowego produktu. Otrzymane preparaty niemodyfikowane (PSNM) zmieszane z wodą w stosunku 1: 2 poddawano modyfikacji hydrotermicznej przez 24 h w temperaturze, która została wyznaczona na podstawie pomiarów różnicowym kalorymetrem skaningowym Unipan 605M, współpracującym z blokiem Unipan i komputerem, wykorzystującym program pomiarowy Transition. Na podstawie uzyskanego termogramu (rys. 1) wyznaczano zakres temperatur kleikowania. Temperatura początkowa wynosiła $T_0 = 63$ °C, temp. piku $T_p = 73$ °C, a temp. końcowa kleikowania $T_c = 87$ °C. Temperaturę modyfikacji wyznaczono zgodnie z danymi literaturowymi [14, 16], jako o 3 - 4 % niższą od początkowej temperatury kleikowania i w końcowym rezultacie otrzymano $t = 60$ °C. Po zakończeniu inkubacji próbki odwirowywano i suszono w 40 °C, a następnie mielono i przesiewano przez sита o średnicy oczek 0,08 mm.



Rys. 1. Termogram DSC skrobi grochu odmiany Poa.

Fig. 1. DSC thermogram of pea starch of Poa variety.

We wstępnych badaniach przeprowadzono charakterystykę chemiczną otrzymanych preparatów skrobiowych. Oznaczano zawartość skrobi polarymetrycznie, zawartość amylozy metodą Morissona i Laigneleta [24], powierzchnię właściwą wg Fortuny i wsp. [3]. Zawartość azotu, związków mineralnych w postaci popiołu i suchej masy

oznaczano metodami znormalizowanymi. Natomiast zawartość fosforu oznaczano po mineralizacji na mokro, mierząc powstały błękit molibdenowy w wyniku działania czynnika redukującego, metodą spektrofotometryczną.

W preparatach modyfikowanych i próbkach wyjściowych oznaczano wodochłonność i rozpuszczalność skrobi wg Leacha i wsp. [18]. Strawność skrobi *in vitro* oznaczano metodą Muira i O'Dea'a [26] zmodyfikowaną przez Galińskiego i wsp. [5]. Do hydrolizy skrobi stosowano ślinę oraz amyloglukozydazę, pankreatynę i Termamyl 120L. Po hydrolizie wyliczano stosunek skrobi łatwo trawionej i wolnej glukozy do skrobi całkowitej i wolnej glukozy. Końcową wartość wyrażano w procentach. Uwolnioną glukozę podczas trawienia oznaczano po reakcji z kwasem dinitrosalicylowym (DNS), mierząc absorbancję w spektrofotometrze (Shimadzu, UV-1201V) przy 550 nm.

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

Wyniki i dyskusja

Zastosowana w pracy metoda izolacji pozwoliła na uzyskanie preparatów o wysokiej zawartości skrobi, ponad 92 % w s.m. i była na tym samym poziomie w obu badanych odmianach (tab. 1). Uzyskane wyniki są zbliżone do rezultatów uzyskanych przez Morada i wsp. [23], w badaniach preparatów skrobiowych otrzymanych z różnych roślin strączkowych (od 90,8 % w bobie do 91,3 - 91,5 % w soczewicy i grochu żółtym).

Modyfikacja w sposób niewielki, aczkolwiek statystycznie istotny wpłynęła na zmniejszenie zawartości skrobi w preparacie otrzymanym z grochu odmiany Poa (91,40 %), natomiast nie stwierdzono istotnego wpływu modyfikacji na zawartość skrobi w preparacie otrzymanym z grochu odmiany Ramir, która pozostała na tym samym poziomie.

Badania zawartości amylozy w skrobi w PSNM wykazały, że preparat otrzymany z grochu odmiany Poa charakteryzował się jej większą zawartością (26,58 %) niż z odmiany Ramir (24,04 %). Uzyskane wyniki są zbliżone do danych literaturowych dotyczących skrobi różnych roślin strączkowych tj. 20,7 - 30,1 % [8]. Wyniki te są jednak niższe od podawanej w literaturze zawartości amylozy w skrobi różnych odmian grochu: 27,30 - 34,52 % [2]; 28,10 % [21]; 33,55 % [33]; 34,20 % [6]. Tak duże rozbieżności w uzyskanych wynikach świadczą o dużym wpływie odmiany na zawartość tego składnika.

Tabela 1

Charakterystyka skrobi w preparatach niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych hydrotermicznie (PSMH), otrzymanych z grochu odmiany Poa i Ramir.

Characteristic of starch in non-modified (PSNM) and hydrothermally modified (PSMH) preparations obtained from pea of Poa and Ramir varieties.

Źródło skrobi Source of starch	Rodzaj preparatu Type of preparation	Zawartość skrobi [% s.m.] Content of starch [% d.m.]	Zawartość amylozy [% s.m. skrobi] Content of amylose [% d.m. of starch]	Powierzchnia właściwa [m ² /g] Real surface [m ² /g]
Groch odmiany Poa Pea of Poa variety	PSNM	92,5 ± 0,2 a	25,6 ± 0,1 a	3,75 ± 0,08 a
	PSMH	91,4 ± 0,5 b	21,9 ± 0,1 b	3,41 ± 0,06 b
Groch odmiany Ramir Pea of Ramir variety	PSNM	92,9 ± 0,5 a	24,0 ± 0,1 c	3,14 ± 0,08 c
	PSMH	92,1 ± 0,3 ab	23,1 ± 0,1 d	2,51 ± 0,06 d

Objaśnienia/ Explanatory notes:

± – odchylenie standardowe / standard deviation;

a - d – te same litery w kolumnie oznaczają brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi ($p \geq 0,95$) / the same letters in a column mean that there are no statistically significant differences between the means ($p \geq 0.95$).

Modyfikacja hydrotermiczna typu *annealing* spowodowała statystycznie istotne zmniejszenie zawartości amylozy w skrobi badanych preparatów obu odmian grochu do poziomu 21,9 i 23,1 %, odpowiednio w przypadku odmian Poa i Ramir. Zmniejszenie zawartości amylozy może być spowodowane częściowym jej rozkładem i wypłukiwaniem w czasie modyfikacji. Uzyskane wyniki zmniejszenia zawartości amylozy po procesie modyfikacji typu *annealing* znajdują potwierdzenie w literaturze. Zjawisko to zaobserwowała Jacobs [15], jako zachodzące w znacznym stopniu – w badaniach skrobi grochu i w niewielkim stopniu – w badaniach skrobi pszenicy. Podobne spostrzeżenia odnotowali Hoover i Vasanthan [10, 11] podczas analizy skrobi otrzymanej z ziemniaka, owsa i soczewicy.

Ziarenka skrobiowe preparatu niemodyfikowanego otrzymanego z grochu odmiany Poa charakteryzowały się większą powierzchnią właściwą niż ziarenka z preparatów odmiany Ramir. Wynosiła ona odpowiednio 3,75 i 3,14 m²/g. Fortuna i wsp. [2] podczas badań nad skrobią owsianą, kukurydzianą, ziemniaczaną i pszenną wykazali, że największą powierzchnię spośród badanych miała skrobia owsiana (powyżej 18,75 m²/g), średnią kukurydziana (ok. 9,0 m²/g), zaś najmniejszą ziemniaczana (powyżej 5,62 m²/g) i pszenna (ok. 5,56 m²/g). Należy zwrócić uwagę, że przedstawione wartości są znacznie wyższe od wyników uzyskanych podczas badania skrobi grochu, co może mieć związek z jej inną strukturą (typ C). Przeprowadzone badania skrobi

fasoli wielokwiatowej i bobu również wskazywały na małą powierzchnię właściwą ich ziarenek [27], chociaż była ona nieznacznie wyższa (około 4,5 m²/g) od tej uzyskanej w pracy.

Modyfikacja hydrotermiczna w sposób statystycznie istotny wpłynęła na wielkość powierzchni ziarenek skrobiowych badanych preparatów i spowodowała jej niewielkie zmniejszenie w preparatach odmian grochu Poa i Ramir, odpowiednio do 3,41 i 2,74 m²/g. Podczas badania wpływu modyfikacji hydrotermicznej *heat-moisture treatment* na strukturę ziaren skrobiowych pochodzących z różnych roślin strączkowych Hoover i Manuel [7] nie stwierdzili wpływu modyfikacji hydrotermicznej na powierzchnię właściwą ziarenek skrobiowych. Ziarenka skrobiowe badanych roślin po modyfikacji pozostawały zazwyczaj gładkie, jedyny wyjątek stanowiły ziarenka skrobi soczewicy, na których pojawiły się nieliczne głębokie pęknięcia. Natomiast wcześniejsze badania przeprowadzone na skrobi fasoli wielokwiatowej i bobu wskazywały również na zmniejszenie się powierzchni właściwej ziarenek pod wpływem modyfikacji hydrotermicznej typu *annealing* jednak w mniejszym stopniu niż w obecnych badaniach, co mogło być spowodowane innym gatunkiem nasion lub innymi parametrami modyfikacji tj stosunkiem skrobi do wody wynoszącym 1 : 3 [27].

W tab. 2. przedstawiono ogólną charakterystykę badanych preparatów skrobi. Oznaczano m.in. zawartość azotu, ponieważ zbyt duża ilość związków azotowych, zwłaszcza białek, ma niekorzystny wpływ na cechy sensoryczne [31].

Tabela 2

Charakterystyka chemiczna preparatów skrobi niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych hydrotermicznie (PSMH), otrzymanych z grochu odmiany Poa i Ramir.
Chemical profile of non-modified (PSNM) and hydrothermally modified (PSMH) pea starch preparations obtained from Poa and Ramir pea varieties.

Źródło skrobi Source of starch	Rodzaj preparatu Type of preparation	Wilgotność [%] Moisture [%]	Popiół [% s.m.] Ash [% d.m.]	Azot [% s.m.] Nitrogen [% d.m.]	Fosfor [mg% s.m.] Phosphorus [mg% d.m.]
Groch odmiany Poa Pea of Poa variety	PSNM	10,7 ± 0,1 a	0,47 ± 0,02 a	0,19 ± 0,01 a	37 ± 1 a
	PSMH	7,7 ± 0,1 b	0,45 ± 0,01 a	0,17 ± 0,01 b	27 ± 1 b
Groch odmiany Ramir Pea od Ramir variety	PSNM	10,8 ± 0,1 a	0,46 ± 0,01 a	0,10 ± 0,00 c	34 ± 0 a
	PSMH	8,1 ± 0,1 c	0,41 ± 0,02 b	0,08 ± 0,00 d	23 ± 1 b

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

Porównując zawartość azotu w preparatach PSNM – 0,19 % w preparacie z grochu odmiany Poa oraz 0,10 % w preparacie z odmiany Ramir – stwierdzono staty-

stycznie istotne różnice między odmianami. Zawartość azotu uzyskana w preparacie z odmiany Poa jest zbliżona do wyniku, jaki w skrobiach z różnych odmian grochu (średnio 0,19 %) uzyskała Wronkowska i wsp. [34]. Natomiast inne źródła literaturowe podają mniejsze zawartości azotu, od 0,07 do 0,09 % [2], które są zbliżone do ilości oznaczonej w preparacie z grochu odmiany Ramir. Zawartość azotu w preparatach po modyfikacji hydrotermicznej w obu przypadkach nieznacznie zmalała (różnice statystycznie istotne), co mogło być spowodowane dodatkowym oczyszczeniem preparatów w wyniku kolejnego przemywania, wirowania i przesiewania.

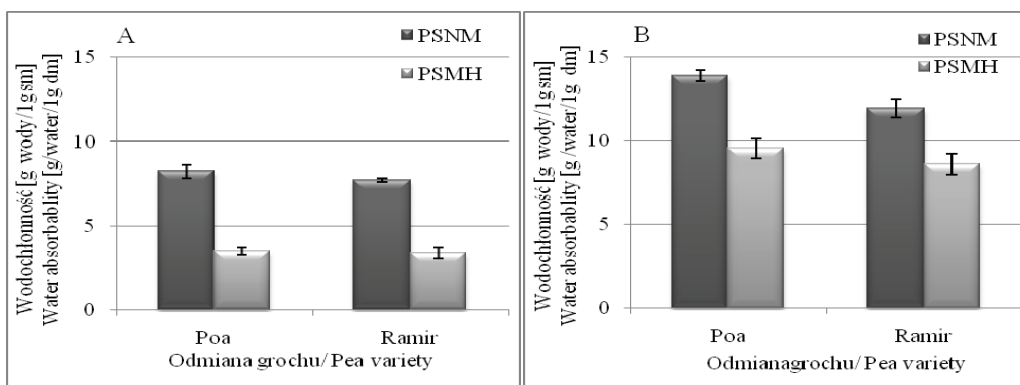
Zawartość związków mineralnych w postaci popiołu w obydwu PSNM kształtowała się na podobnym poziomie (różnice nieistotne statystycznie). Uzyskane wyniki są zbliżone otrzymanych przez Hoover i Sosulskiego [9] w badaniach skrobi różnych roślin strączkowych tj. 0,52 - 0,70 % (groch gładki), 0,34 - 0,46 % (groch marszczony) oraz Morada i wsp. [23]: 0,62 % (groch żółty) i 0,82 % (soczewica i bób). Wartości te są jednocześnie niższe od tych dotyczących skrobi różnych odmian grochu podawanych przez Hoovera i Ratnayake [8]: 0,04 % (groch gładki); Soral-Śmietanę i wsp. [30] – 0,10 %; Wronkowską i wsp. [33] – 0,11 %. Stosunkowo niska zawartość popiołu świadczy o względnie dokładnym usunięciu składników mineralnych, łuski i błonnika pochodzącego z pozostałości ścian komórkowych otaczających gałeczkę skrobiową, co jak podaje Hoover i Ratnayake [8] oraz Chavan i wsp. [2] może wpływać na zwiększoną zawartość popiołu w preparatach skrobiowych i zazwyczaj spowodowane jest niedostatecznym oczyszczeniem skrobi podczas procesu izolacji. Modyfikacja hydrotermiczna w sposób statystycznie istotny wpłynęła na nieznaczne zmniejszenie zawartości popiołu jedynie w przypadku preparatu otrzymanego z grochu odmiany Ramir. Mniejsza zawartość popiołu w preparatach modyfikowanych może być wynikiem dodatkowego oczyszczania skrobi w procesie modyfikacji i usunięcia części składników mineralnych, co potwierdza zmniejszenie się zawartości fosforu i azotu.

Zawartość fosforu w badanych preparatach skrobi niemodyfikowanej kształtowała się na podobnym poziomie i wynosiła ponad 30 mg% (różnice statystycznie nieistotne) i była większa od ilości podawanych przez Huanga i wsp. [13] dotyczących skrobi różnych roślin strączkowych tj. 7 - 22 mg%. Po modyfikacji hydrotermicznej zaobserwowano statystycznie istotny spadek zawartości fosforu w obu preparatach tj. z grochu odmiany Poa do wartości 27 mg%, natomiast w przypadku odmiany Ramir do 23 mg%. Zmniejszenie zawartości fosforu w PSMH można tłumaczyć zmianami w strukturze skrobi zachodzącymi podczas modyfikacji hydrotermicznej typu *annealing*. Badania przeprowadzone przez Muhrbecka i Svenssona [25] nad zmianami zawartości natywnego fosforu w skrobi ziemniaczanej pod wpływem tej modyfikacji wykazały, że jego ilość zmniejszyła się, chociaż w znacznie mniejszym stopniu. Zmniejszenie to autorzy tłumaczyli hydrolizą estrów fosforanowych.

Porównując uzyskane wyniki wodochłonności PSNM w temp. 60 °C, nie stwierdzono istotnego wpływu odmiany na ten parametr, który wynosił niewiele ponad 7 g H₂O/g s.m. (rys. 2). Podwyższenie temp. oznaczenia do 80 °C poprawiło wodochłonność PSNM, która osiągnęła wartość 12,08 g H₂O/g s.m. i 10,81g H₂O/g s.m. odpowiednio w preparatach z grochu odmiany Poa i Ramir. Podobne rezultaty w badaniach skrobi grochu uzyskał również Li i Yeh [21] tj. ok. 5 g/g w 55 °C, ok. 10 g/g w 75 °C oraz 13 g/g w 95 °C.

Modyfikacja hydrotermiczna wpłynęła w sposób statystycznie istotny na wodochłonność obydwu preparatów skrobiowych w temp. 60 °C, powodując jej dwukrotny spadek, do wartości 3,30 g H₂O/g s.m. w preparacie z grochu odmiany Poa i 3,20 g H₂O/g s.m. z odmiany Ramir.

W preparacie PSMH podniesienie temp. do 80 °C spowodowało zwiększenie wodochłonności preparatów uzyskanych zarówno z odmiany Poa (8,33 H₂O/g s.m.), jak i Ramir (8,32 H₂O/g s.m.). Jednakże PSNM charakteryzowały się większą wodochłonnością niż PSMH w tej samej temperaturze.

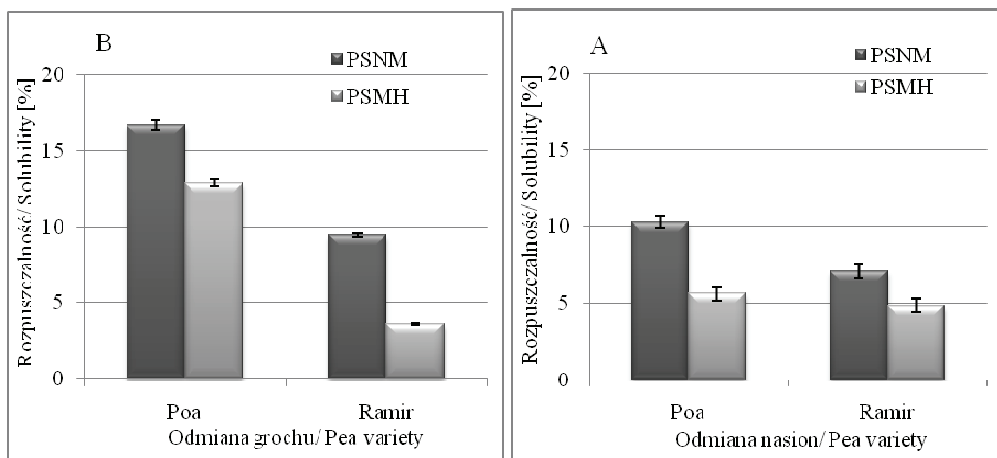


Rys. 2. Wodochłonność preparatów skrobiowych w temperaturze 60 °C (A) i 80 °C (B), niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych hydrotermicznie (PSMH).

Fig. 2. Water holding capacity at a temperature of 60°C (A) and 80°C (B) of non-modified (PSNM) and hydro-thermally modified (PSMH) starch preparations.

Porównując wyniki rozpuszczalności (rys. 3) w temp. 60 °C stwierdzono, że rozpuszczalność PSNM otrzymanego z grochu odmiany Poa była wyższa (10,30 %) niż z grochu odmiany Ramir (7,10 %). Podwyższenie temp. do 80 °C spowodowało zdecydowane zwiększenie rozpuszczalności PSNM otrzymanych z odmiany Poa i Ramir do poziomu 16,71 i 9,51 %. Wyniki własne są wyższe od uzyskanych przez Gujską i wsp. [6], w których rozpuszczalność w 60 °C wynosiła 1,8 % i wzrastała do 13 % w 80 °C.

Modyfikacja hydrotermiczna w sposób statystycznie istotny wpłynęła na rozpuszczalność skrobi w temp. 60 °C, powodując jej zmniejszenie do wartości 5,63 % w preparacie z grochu odmiany Poa i do 4,86 % w preparacie z grochu odmiany Ramir. Natomiast podwyższenie temperatury oznaczenia do 80 °C wpłynęło na znaczny (ok. 2,5-krotny) wzrost rozpuszczalności skrobi w PSMH z odmiany Poa, natomiast w preparacie z odmiany Ramir obserwowano jedynie nieznaczny spadek do wartości 3,6 %. Zazwyczaj po modyfikacji typu *annealing* również odnotowywano obniżenie zdolności pęcznienia oraz rozpuszczalności [7, 11], jednak można się także spotkać z doniesieniami o wzroście rozpuszczalności w wyniku tego typu modyfikacji, np. skrobi pszenicy [17].



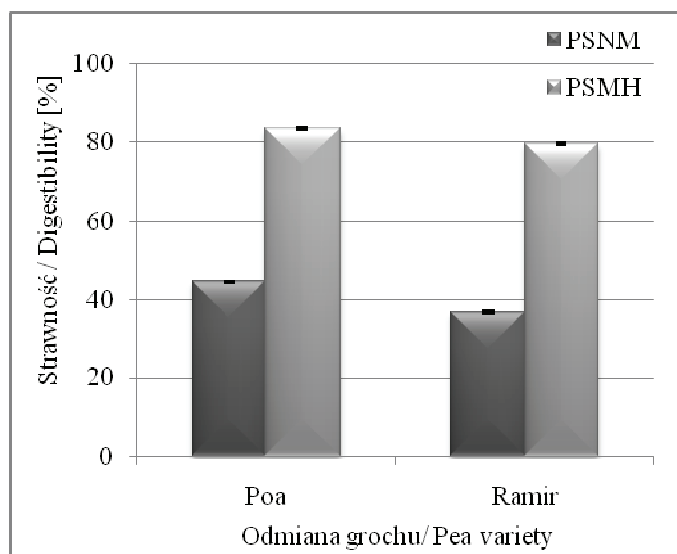
Rys. 3. Rozpuszczalność preparatów skrobiowych w temp. 60 °C (A) i 80 °C (B), niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych hydrotermicznie (PSMH).

Fig. 3. Solubility at a temperature of 60°C (A) and 80°C (B) of non-modified (PSNM) and hydrothermally modified hydrothermal (PSMH) starch preparations.

Obserwowane w pracy zmniejszenie rozpuszczalności i wodochłonności skrobi po modyfikacji mogło być spowodowane mniejszą zawartością amylozy oraz fosforu w PSMH. Na zdolność wiązania wody oraz rozpuszczalność skrobi mają wpływ takie czynniki, jak: obecność kompleksów amylozy z tłuszczami, struktura molekularna amylopektyny, siła związania sieci miceli oraz długość łańcuchów amylopektyny [6, 7, 8]. Wiadomo, że modyfikacja hydrotermiczna typu *annealing* przyczynia się do zmian krystaliczności skrobi, powodując jej wzrost. Jest to następstwem m.in. zmian w upakowaniu podwójnych helis lub w wyniku powstawania nowych form krystalicznych w części amorficznej ziarna [14, 15]. Obserwowane w pracy zmniejszenie zawartości amylozy może powodować wzrost oddziaływań między łańcuchami amylopektyny w wyniku czego następuje jej ściślejsze upakowanie. Temu procesowi również może

sprzyjać zmniejszenie się ilości fosforu, ponieważ hydroliza estrów fosforanowych lub ich przegrupowania powodują powstanie nowych obszarów krystalicznych w wyniku silniejszego związania się łańcuchów amylopektyny [25]. Tworzenie się nowych obszarów krystalicznych zwiększa stabilność ziarenek, ale obniża ich wodochłonność [8].

Porównując wyniki strawności skrobi stwierdzono, że preparat PSNM z grochu odmiany Poa charakteryzował się wyższą podatnością na hydrolizę enzymatyczną (44,6 %), niż z odmiany Ramir (36,8 %). Analiza wyników wykazała statystycznie istotny wpływ źródła skrobi na jej strawność, co znajduje potwierdzenie w literaturze [16, 29]. Otrzymane wyniki są zbliżone do rezultatów uzyskanych w badaniach skrobi roślin strączkowych przez Marconiego i wsp. [22] tj. 42,2 - 45 % oraz Sandhu i Lima [29] tj. (21,1 - 49,7 %), a jednocześnie niższe od otrzymanych w badaniach skrobi z grochu gładkiego przez Hoovera i Sosulskiego [9] tj. 67 - 71,4 %. Na strawność skrobi oprócz jej pochodzenia ma wpływ również wielkość granulek, stosunek amylozy do amylopektyny stopień krystaliczności oraz jej typ [9]. Strawność skrobi jest ujemnie skorelowana ze średnicą ziarenek skrobi [29]. Ich wielkość może wpływać na strawność, ponieważ stosunek powierzchni ziarenka skrobi do jej objętości decyduje o kontakcie substratu z enzymem. Badania wykazały, że skrobia z grochu odmiany Poa ma większą powierzchnię właściwą oraz charakteryzuje się wyższą strawnością w porównaniu z wyizolowaną z grochu odmiany Ramir.



Rys. 4. Strawność skrobi w preparatach skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych hydrotermicznie (PSMH).

Fig. 4. Digestibility of starch in non modified (PSNM) and hydro-termally modified (PSMH) starch preparations.

Przeprowadzona modyfikacja hydrotermiczna spowodowała niemal dwukrotny wzrost strawności skrobi, do poziomu 83,4 % w przypadku grochu odmiany Poa i ponad dwukrotny do poziomu 79,6 % z grochu odmiany Ramir. Również Hoover i Vasanthan [10], badając wpływ modyfikacji hydrotermicznej typu *annealing* na skrobię owsa, stwierdzili wzrost strawności, natomiast w przypadku skrobi soczewicy odnotowali jej nieznaczny spadek, co tłumaczyli wzrostem interakcji między składnikami skrobi w strefach amorficznych i ciasniejszym upakowaniem podwójnych helis w regionach krystalicznych. Obserwowane w pracy zmniejszenie wodochłonności oraz powierzchni właściwej również wskazuje na tego typu zmiany pod wpływem przeprowadzonej modyfikacji typu *annealing*. Jednak badania strawności wykazały, że pomimo zmian w strukturze ziarenek skrobi, następuje jej znaczna poprawa. Prawdopodobnie zachodzące zmiany mają wpływ na różne tempo trawienia skrobi w dwóch etapach tj. początkowym, w którym hydrolizowana jest część skrobi łatwo trawionej (RDS) i drugim wolno trawionej (SDS). Potwierdzają te przypuszczenia badania przeprowadzone przez Jacobs i wsp. [16], które wykazały, że w pierwszej, szybkiej fazie trawienia, wzrasta oporność enzymatyczna skrobi grochu, pszenicy i ziemniaka poddanych jednostopniowej modyfikacji typu *annealing*, natomiast w drugiej wolniejszej fazie, skrobia pszenna i grochowa są trawione w większym zakresie niż skrobie natywne. Może to mieć związek z czynnikami wpływającymi na tempo trawienia skrobi. Według Zhou i wsp. [34] jednym z takich czynników hamujących działanie α -amylazy jest powstawanie nowych obszarów krystalicznych podczas hydrolizy w wyniku retrogradacji amylozy, a powstające struktury są bardziej odporne na trawienie. Dlatego obserwowane w PSMH zmniejszenie zawartości amylozy mogło mieć decydujący wpływ na wzrost strawności skrobi.

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

Wnioski

Zastosowanie modyfikacji hydrotermicznej typu *annealing* spowodowało w preparatach skrobiowych z grochu dwóch odmian:

- 1) dodatkowe oczyszczenie skrobi przez zmniejszenie zawartości białka i związków mineralnych w postaci popiołu,
- 2) zmniejszenie udziału frakcji amylozy oraz zawartości fosforu, co prawdopodobnie wpłynęło na powstanie nowych obszarów krystalicznych w wyniku silniejszego związania się łańcuchów amylopektyny,
- 3) zmniejszenie powierzchni właściwej ziarenek skrobi, ich wodochłonności oraz rozpuszczalności zarówno w temperaturze 60 °C, jak i 80 °C,
- 4) zwiększenie strawności *in vitro* (~ 2-krotne).

Literatura

- [1] Desphande S.S., Sathe S.K., Rangnekar P.D., Salunkhe D.K.: Functional properties of modified black gram (*Phaseolus Mungo* L.) Starch. J. Food Sci., 1982, **47**, 1528-1533, 1602.
- [2] Chavan U.D., Shahidi F., Hoover R., Perera C.: Characterization of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) starch. Food Chem., 1999, **65**, 61-70.
- [3] Fortuna T., Januszewska R., Wąchlewski T.: Metoda kolorymetrycznego oznaczania powierzchni właściwej skrobi różnego pochodzenia. Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Technol. Żywności, 1996, **8**, 6-9.
- [4] Galiński G., Gawęcki J., Remiszewski M.: Strawność skrobi natywnych i modyfikowanych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2000, **3 (24)**, 58-68.
- [5] Galiński G., Gawęcki J., Lewandowicz G.: Strawność *in vitro* skrobi natywnych i modyfikowanych bez i z dodatkiem środków słodzących. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2000, **3 (24)**, 69-77.
- [6] Gujska E., Reinhard W., Khan K.: Physicochemical properties of Field Pea, Pinto and Navy Bean starches. J. Food Sci., 1994, **59 (4)**, 634-636, 651.
- [7] Hoover R., Manuel H.: Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of legume starches. Food Res. Int., 1996, **29 (8)**, 731-750.
- [8] Hoover R., Ratnayake W.S.: Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. Food Chem., 2002, **78**, 489-498.
- [9] Hoover R., Sosulski F.W.: Composition, structure, functionality and chemical modification of legume starches: a review. Can. J Physiol. Pharm., 1991, **69**, 79-92.
- [10] Hoover R., Vasanthan T.: The flow properties of native, heat-moisture treated and annealed starches from wheat, oat, potato and lentil. J. Food Biochem., 1994, **18**, 67-82
- [11] Hoover R., Vasanthan T.: Effect of annealing on the physicochemical properties of wheat, oat, potato and lentil starches. J. Food Biochem., 1994, **17**, 302-325.
- [12] Hoover R., Zhou Y.: *In vitro* and *in vivo* hydrolysis of legume starches by α -amylase and resistant starch formation in legumes – a review. Carbohydr. Polym., 2003, **54**, 401-417.
- [13] Huang J., Schols H.A., van Soest J.J.G., Jin Z., Sulmann E., Voragen A.G.J.: Physicochemical properties and amylopectin chain profiles of cowpea, chickpea and yellow pea starches. Food Chem., 2007, **101**, 1355-1362.
- [14] Jacobs H., Mischenko N., Koch M.H.J., Eerlingen R.C., Delcour J.A., Reynaers H.: Evaluation of the impact of annealing on gelatinisation at intermediate water content of wheat and potato starches: A differential scanning calorimetry and small angle X-ray scattering study. Carbohydr. Res., 1998, **306**, 1-10.
- [15] Jacobs H., Delcour J.A.: Hydrothermal modifications of granular starch, with retention of the granular structure: a review. J. Agric. Food Chem., 1998, **46 (8)**, 2895-2905.
- [16] Jacobs H., Eerlingen R.C., Spaepen H., Grobet P.J., Delcour J.A.: Impact of annealing on the susceptibility of wheat, potato and pea starches to hydrolysis with pancreatin. Carbohydr. Res., 1998, **305**, 193-207.
- [17] Kulp K., Lorenz K.: Heat-moisture treatment of starches. I. Physicochemical properties. Cereal Chem., 1981, **58**, 46-48.
- [18] Leach H.W., Mc Cowen L.D., Schoch T.J.: Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. Cereal Chem., 1959, **36**, 534-537.
- [19] Leszczyński W.: Zróżnicowanie właściwości skrobi. Przem. Spoż., 2001, **3**, 38-40.
- [20] Lewandowicz G., Grajek W.: Możliwość modyfikacji skrobi metodami inżynierii genetycznej. Przem. Spoż., 2004, **11**, 16-20, 50.

- [21] Li J.-Y., Yeh A.-I.: Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. *J. Food Eng.*, 2001, **50**, 141-148
- [22] Marconi E, Ruggeri S., Cappelloni M., Leonardi D., Carnovale E.: Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) following microwave cooking. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48** (12), 5986-94.
- [23] Morad M.M., Leung H.K., Hsu D.L., Finney P.L.: Effect of germination on physicochemical and bread-baking properties of yellow pea, lentil and Faba bean flours and starches. *Cereal Chem.*, 1980, **57** (6), 390-396.
- [24] Morrison W.B., Laignelet B.: An important colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *J. Cereal Sci.*, 1983, **1**, 19-20.
- [25] Muhrbeck P., Svensson E.: Annealing properties of potato starches with different degrees of phosphorylation. *Carbohydr. Polym.*, 1996, **31**, 263-267.
- [26] Muir J.G., O'Dea K.: Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion *in vitro*. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1992, **56**, 123-127.
- [27] Piecyk M., Walicka R.: Wpływ modyfikacji hydrotermicznej na właściwości skrobi wyizolowanej z wybranych nasion roślin strączkowych. *Zywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5** (54), 31-40.
- [28] Ratnayake W.S., Hoover R., Shahidi F., Perera C., Jane J.: Composition, molecular structure and physicochemical properties of starches from four field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Food Chem.*, 2001, **74**, 789-202.
- [29] Sandhu K.S., Lim S.-T.: Digestibility of legume starches as influenced by their physical and structural properties. *Carbohydr. Polym.*, 2008, **71**, 245-252.
- [30] Soral-Śmietana M., Wronkowska M., Lewandowicz G: Pea starch as the Basic material for physical modification by iterated syneresis. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **12/53**, 74-78.
- [31] Swinkels J.J.M.: Composition and properties of commercial native starch. *Starch*, 1985, **37**, 1-5
- [32] Tester R.F., Debon S.J.J.: Annealing of starch - a review. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2000, **27**, 1-12.
- [33] Wronkowska M., Juśkiewicz J., Soral- Śmietana M.: Nutritional and physiological effects of native and physically-modified starches of different origin on rats. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **52**, 62-67.
- [34] Zhou Y., Hoover R., Liu Q.: Relationship between α -amylase degradation and the structure and physicochemical properties of legume starches. *Carbohydr. Polym.*, 2004, **57**, 299-31.

EFFECT OF HYDROTHERMAL MODIFICATION OF ANNEALING TYPE ON SOME SELECTED PROPERTIES OF STARCH PEA (*PISUM SATIVUM*)

S u m m a r y

In this research study, preparations made of ground and shelled pea seeds (*Pisum sativum*) of Poa and Ramir variety were hydrothermally modified (the starch : water ratio was 1 : 2) at a temperature of 60 °C, for 24 h.

The preparations obtained were characterized by a high content of starch (i.e. more than 92 % in dry mass). The content of amylose in the starch was similar for the two varieties and amounted to 26.5 % (Poa) and 24 % (Ramir). The water holding capacity of starch of the two varieties was at the same level at a temperature of 60°C, whereas the solubility of Poa pea was higher than of Ramir pea and amounted to 10.3 % and 7.1 %, respectively. The increase in temperature to 80 oC caused the increase in both the

solubility and water holding capacity. The starches studied were characterized by a rather low digestibility of 44.6 % as for Poa and of 36.8 % as for Ramir.

The effect of hydrothermal modification of the annealing type applied was that the pea starch was additionally purified through decreasing the content of proteins and mineral compounds determined as ash. Additionally, it was found that the amylase fraction and the content of phosphorus decreased. This probably impacted the formation of new crystalline areas as a result of stronger bonds between amylopectin chains, and, finally, was a factor causing the real surface of starch grains, their water holding capacity and solubility to decrease at a temperature of 60 °C and of 80 °C. A considerable improvement was also found in the in vitro digestibility (> 2-fold) of the two preparations.

Key words: pea starch, hydrothermal modification, solubility, water holding capacity, digestibility ☒

ZBIGNIEW TAMBORSKI

WPLYW TEMPERATURY NA PRZEBIEG IZOTERM SORPCJI WODY PRZEZ CUKIER

Streszczenie

Izoterm sorpcji wody opisują równowagową zależność pomiędzy zawartością wody w produkcie a wilgotnością względną otaczającego powietrza. Przebieg izoterm sorpcji produktów, nawet tak pozornie prostych, jak cukier, zależy od wielu czynników. Czynniki te, determinując adsorpcję pary wodnej, wpływają na stabilność przechowalniczą produktów.

Celem pracy było określenie wpływu temperatury na przebieg izoterm sorpcji cukru. Materiał badawczy stanowiły próbki handlowego białego cukru buraczanego. Krzywe sorpcji wyznaczono w temperaturze 5, 10 i 25 °C przy użyciu metody opracowanej na podstawie danych literaturowych. Stwierdzono, że obniżenie temperatury przechowywania przy zachowaniu tych samych warunków wilgotności względnej powietrza spowodowało znaczny wzrost zawartości wody w badanych próbkach.

Słowa kluczowe: izoterm sorpcji, cukier biały, aktywność wody, zawartość wilgoci, temperatura przechowywania

Wprowadzenie

Zjawisko sorpcji związane jest z przechodzeniem jednego lub więcej składników z jednej fazy do drugiej. W technologii żywności często rozpatruje się to zjawisko w aspekcie pary wodnej, ponieważ woda ma wpływ na właściwości żywności, tym samym oddziałując na jej jakość. Produkty spożywcze mają zdolność oddawania wody w środowisku suchym lub jej zatrzymywania w środowisku wilgotnym. Zjawiska te nazywa się odpowiednio desorpcją lub adsorpcją. W celu zbadania tego procesu wyznacza się izoterm sorpcji wody.

Izotermą sorpcji wody nazywa się nieliniową, w większości sigmoidalną, zależność pomiędzy zawartością wody w żywności a aktywnością wody, w stałej temperaturze i przy stałym ciśnieniu. Przy umiarkowanym ciśnieniu aktywność wody jest tożsama z równowagową wilgotnością względną otaczającego powietrza [3, 12, 17].

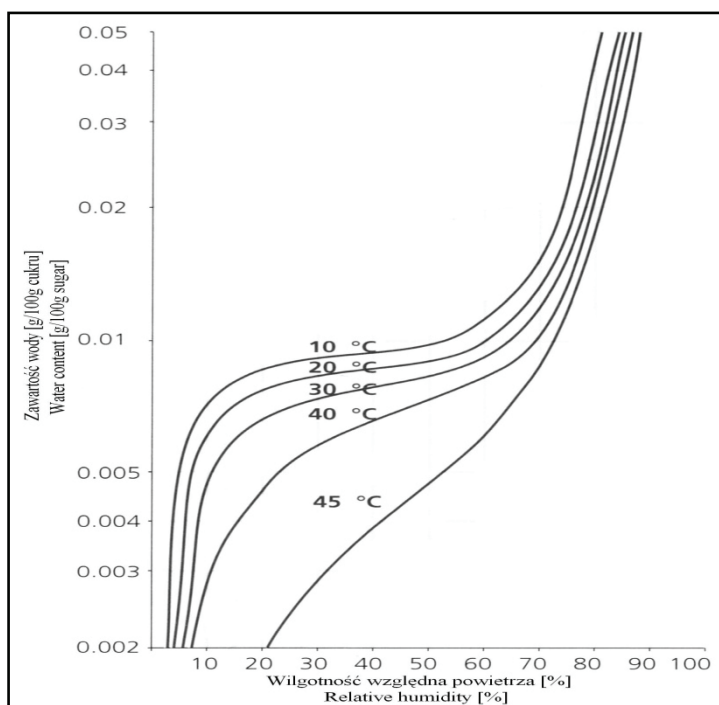
Aktywność wody produktu opisuje stan wody w nim zawartej i jest rozumiana jako stosunek prężności pary wodnej nad produktem p do prężności pary wodnej nad czystą wodą p_0 , w danej temperaturze i przy danym ciśnieniu [12, 17].

W stałej temperaturze i przy stałym ciśnieniu prężność pary wodnej może być wyrażona jako wilgotność względna powietrza φ .

$$a_w = \left[\frac{p}{p_0} \right]_{T,P} = \frac{\varphi}{100\%}$$

Znajomość izoterm sorpcji wody przez produkt spożywczy jest niezwykle pomocna podczas projektowania, modelowania i optymalizacji procesów: suszenia, chłodzenia, kondycjonowania, składowania. Jest również ważna do przewidywania stabilności i zmian jakości podczas pakowania i przechowywania suszonej żywności [4, 16].

Na kształt izoterm sorpcji cukru mają wpływ takie parametry, jak: temperatura, wilgotność względna powietrza, granulacja oraz zawartość w cukrze: związków redukujących, popiołu, związków aromatycznych, substancji barwnych [4, 16].



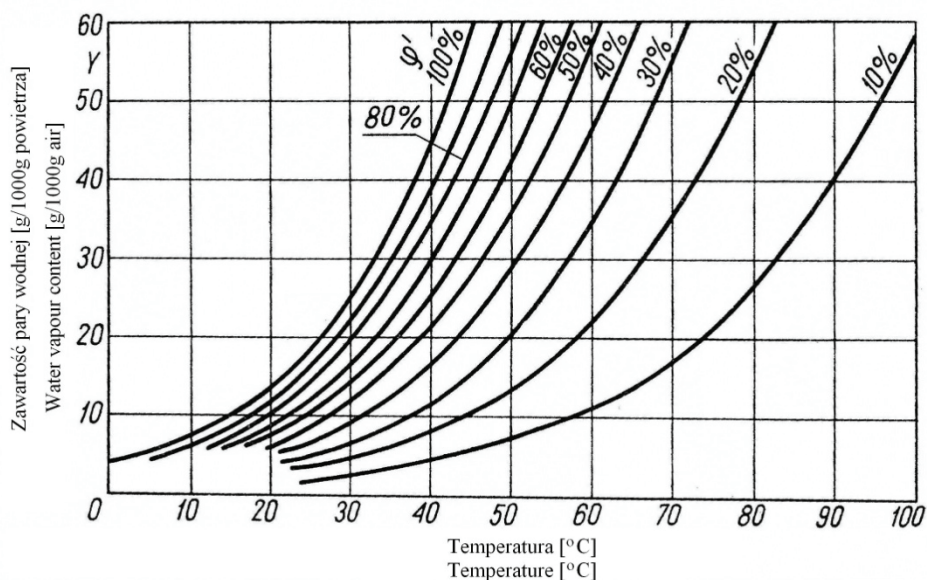
Rys. 1. Izoterm sorpcji cukru białego w różnych wartościach temperatury (przedruk za zgodą Verlag Dr Albert Bartens)

Fig. 1. Sorption isotherms of white sugar at different temperature values (reprint by the permission of 'Verlag Dr Albert Bartens')

Źródło: / Source: [5]

Na rys. 1. przedstawiono krzywe sorpcji wody przez cukier biały w różnych wartościach temperatury [14], z których wynika, że cukier przechowywany w wyższej temperaturze zawiera mniej wilgoci aniżeli cukier przechowywany w temperaturze niższej, przy zachowaniu tych samych warunków wilgotności względnej powietrza φ .

Na rys. 2. przedstawiono zależność zawartości pary wodnej w powietrzu od temperatury i wilgotności względnej powietrza [19]. Z zależności tej wynika, że wraz ze wzrostem temperatury, przy zachowaniu tej samej wilgotności względnej oraz ciśnienia, rośnie zawartość pary wodnej w otaczającej atmosferze. Wzrost temperatury przechowywania jest równoznaczny ze wzrostem prężności pary, co sprawia, że część wody zawartej na powierzchni materiału odparowuje aż do osiągnięcia równowagi pomiędzy prężnością pary nad materiałem, a prężnością pary w otaczającym powietrzu. W przypadku obniżenia temperatury część pary wodnej zawartej w powietrzu kondensuje na powierzchni żywności, zwiększając w ten sposób jej wilgotność.



Rys. 2. Zależność zawartości pary wodnej w powietrzu od temperatury i wilgotności względnej powietrza (przedruk za zgodą WNT) [16].

Fig. 2. Relation between content of water vapour in air and temperature & relative humidity of air (reprint by the permission of 'WNT') [16].

Problematyką izoterm sorpcji wody przez cukier, jak dotychczas zajmowało się niewielu naukowców. Na szczególną uwagę zasługują tu publikacje Mathlouthi i Roge [11, 15]. Badali oni mechanizm zbrylania się cukru oraz określali czynniki wpływające na ten proces. Naukowcy badali przede wszystkim wpływ granulacji na przebieg izoterm sorpcji, jak również zajmowali się zjawiskiem zlepiania się kryształów cukru.

Próbowali również określić czy dodatek kationów K^+ , Na^+ , Ca^{+2} , i Mg^{+2} wpływa na higroskopijność. Mathlouthi i wsp. na drodze empirycznej potwierdzili, że istnieje wyraźna zależność między granulacją cukru a jego higroskopijnością. Dodatek ww. w ilości 1 % na masę syropu, z którego wykrystalizowano cukier, nie wpływa istotnie na przebieg krzywych [11]. Zagadnieniem zbrylania i przechowywania cukru zajmowali się również Rastikan i wsp., badając te zjawiska w skali laboratoryjnej na modelowym silosie. Naukowcy również wyznaczyli izotermy sorpcji wilgoci przez cukier w temperaturze 22 i 35°C. Nie zaobserwowali oni znaczących różnic w przebiegu krzywych [13]. Z kolei Billings i Patterson [2] opracowali model matematyczny, dzięki któremu z powodzeniem można określić warunki w jakich przechowywany cukier zaczyna się zbrylać. Sorpcją wilgoci przez amorficzną sacharozę zajmowali się również Labuza i wsp., obserwując zmiany fizyczne podczas przechowywania waty cukrowej [9].

Wpływ temperatury na izotermy sorpcji wilgoci produktów żywnościowych jest od dawna obiektem badań naukowców. Niemniej jednak niewiele prac dotyczy wpływu temperatury na izotermy sorpcji krystalicznej sacharozy.

Dlatego też celem niniejszej pracy było określenie wpływu temperatury na przebieg izoterm sorpcji wody przez krystaliczny cukier.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiły cztery próbki białego cukru buraczanego z kampanii cukrowniczej 2006/07, pochodzące z wybranych polskich cukrowni. W próbkach oznaczano: zabarwienie roztworu [5], zawartość związków mineralnych w postaci popiołu konduktometrycznego [6], granulację cukru [7], zawartość wody metodą suszarkową [20], wyznaczano także izotermy sorpcji wody przez badany cukier.

Zabarwienie roztworu

Cukier biały rozpuszczano w roztworze buforowym trietanolaminy (bufor TEA/HCl) pH = 7,0. W celu usunięcia zmętnienia roztwór sączone przez sączonek membranowy o rozmiarze porów 0,45 μm . Absorbancję przesączone mierzone w świetle o długości fali 420 nm w kuwecie o dł. 5 cm. Zabarczenie obliczano z równania [5, 20]:

$$Zab. = \frac{10^8 \times A_s}{b \times X \times d} [IU]$$

gdzie:

A_s – absorbancja przesączone przy dł. fali 420 nm,

X – zawartość suchej substancji w przesączone wyrażona w Bx,

d – gęstość przesączone w funkcji Bx,

b – długość kuwety [cm].

Zawartość popiołu – metoda konduktometryczna

Popiół, rozumiany jest jako nieorganiczna pozostałość po całkowitym spaleniu substancji organicznych [19]. Popiołu konduktometrycznego nie można bezpośrednio porównywać z popiołem oznaczonym przez spopielenie i ważenie [6, 20]. Niemniej jednak zawartość popiołu konduktometrycznego jest stosowana jako kryterium procesu oczyszczania w cukrownictwie z uwagi na dobrą korelację z zawartością popiołu siarczynowego i przede wszystkim z uwagi na szybkość pomiaru [19].

Zasada oznaczenia polega na pomiarze konduktywności wodnego roztworu badanego cukru o stężeniu 28 Bx w odniesieniu do konduktywności wody, z której roztwór został wykonany.

Zawartość popiołu konduktometrycznego obliczano z równania [6, 20]:

$$P_p = C_{28} - 0,35 \times C_w \text{ [g/100 g s.m.]}$$

gdzie:

C_{28} – konduktywność roztworu cukru o stężeniu 28 Bx,

C_w – konduktywność wody.

Granulacja cukru

Oznaczenie rozkładu rozmiarów cząstek cukru wykonywano metodą analizy sitowej. Na wstępie analizy dobrano odpowiedni komplet sit. Następnie na najwyższym sicie umieszczano próbkę cukru. Segregacja próbki na różne frakcje przebiegała poprzez wytrząsanie zestawu. Po wytrząsaniu ważono kolejne frakcje odpowiadające poszczególnym wymiarom kryształów i wyrażano ich masy w procentach masy próbki.

Przy doborze sit kierowano się następującymi zasadami:

- na najwyższym sicie powinno pozostać od 10 do 20 % próbki;
- przez najniższe sito powinno przejść od 10 do 20 % próbki;
- na żadnym z pośrednich sit nie może być więcej niż 30 % próbki.

Na podstawie otrzymanych wyników metodą Powersa wyznaczano parametr MA i CV.

Parametr MA oznacza średni wymiar oczka i wskazuje wymiar oczek sita, które zatrzymałoby 50 % masy próbki, natomiast współczynnik zmienności CV jest to odchylenie standardowe rozkładu statystycznego wyrażone procentowo w stosunku do MA. Podczas obliczeń MA i CV metodą Powersa zakłada się, że rozkład statystyczny rozmiarów kryształów w próbce odpowiada krzywej Gaussa, czyli rozkładowi normalnemu. Na siatkę prawdopodobieństwa wg równania Gaussa nanosi się punkty odpowiadające na osi rzędnych sumom zbiorczym, a na osi odciętych odpowiadające rozmiarom oczek kolejnych sit. Naniesione punkty aproksymuje się do prostej, na której w miejscu przecięcia z rzędną 50 % leży punkt, którego odcięta d_{50} odpowiada wartości MA. W ten sam sposób odczytuje się wartość d_{16} i d_{84} .

Odczytane z wykresu dane służą do obliczenia współczynnika CV z równania [7, 20]:

$$CV = \frac{100 \times (d_{16} - d_{84})}{2 \times MA} [\%]$$

Izotermy sorpcji wody

Izotermy wyznaczano wg procedury opracowanej na podstawie danych literaturowych [1, 8, 18] w temp., tj: 5, 10 i 25 °C. Eksperyment wykonywano następująco: na dnie pojemnika z tworzywa sztucznego umieszczano nasycony roztwór soli o żądanej aktywności wody a_w . Nad roztworem umieszczano plastikową szalkę z próbką cukru, o znanej, wyjściowej zawartości wody. Przed umieszczeniem próbki dokładnie ważono zarówno szalkę, jak i badaną próbkę. Następnie pojemniki szczelnie zamykano i przetrzymywano w zadanej temperaturze przez 3 tygodnie. Po tym okresie ważono szalkę z cukrem i określano przyrost bądź ubytek masy, który jest równoznaczny ze zmianą zawartości wody w próbce.

Do sporządzenia nasyconych roztworów soli użyto związków chemicznych przedstawionych w tab. 1.

Tabela 1

Związki chemiczne oraz aktywność wody ich nasyconych roztworów w temp. 5, 10 i 25 °C.

Chemical compounds and water activity of their saturated solutions at 5, 10 and 25 °C.

Nazwa związku Name of the compound	Wzór chemiczny Chemical formula	Aktywność wody w temp. Water activity at a temperature of		
		5 °C	10 °C	25 °C
Octan potasu Potassium acetate	CH ₃ COOK	0,242	0,237	0,224
Chlorek magnezu Magnesium chloride	MgCl ₂	0,338	0,335	0,326
Węglan potasu Potassium carbonate	K ₂ CO ₃	0,431	0,431	0,432
Azotan(III) sodu Sodium nitrite	NaNO ₂	0,650	0,650	0,650
Chlorek sodu Sodium chloride	NaCl	0,758	0,757	0,753
Siarczan(VI) amonu Ammonium sulfate	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,825	0,821	0,810
Chlorek potasu Potassium chloride	KCl	0,877	0,868	0,844

Opracowanie własne na podstawie [3] / The author's own study based on [3]

Wyniki i ich omówienie

Badaniom poddano próbki cukru buraczanego o zróżnicowanej jakości, którą scharakteryzowano na podstawie zabarwienia roztworu, zawartości popiołu konduktometrycznego i granulacji (tab. 2).

Tabela 2

Zawartość popiołu konduktometrycznego, zabarwienie oraz granulacja badanych próbek cukru.
Content of conductometric ash, colour and particle size distribution of sugar samples studied.

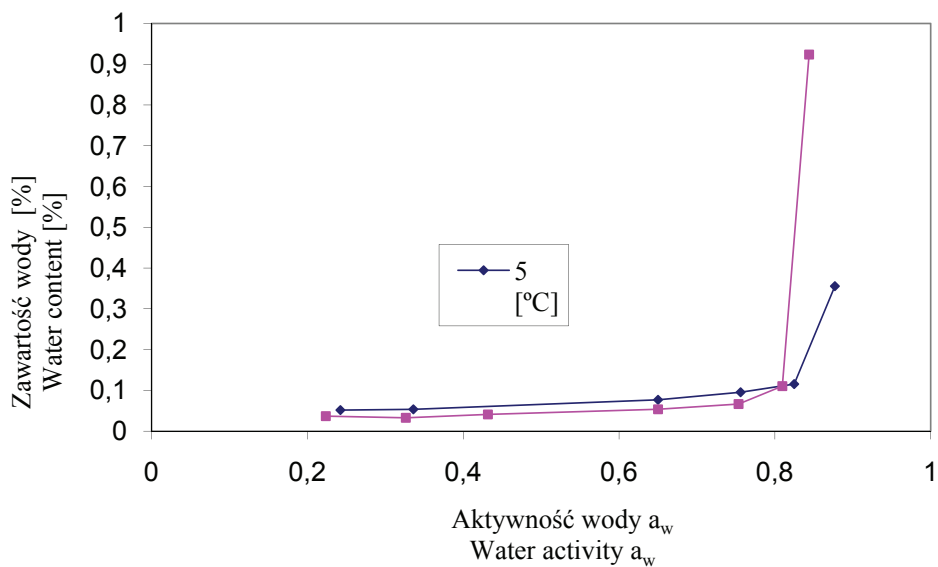
Próbki Samples	Popiół konduktometryczny [%] Conductometric ash [%]	Zabarwienie Colour of solution [IU ₄₂₀]	Granulacja Particle Size Distribution	
			MA [mm]	CV [%]
C1	0,022	29,6	0,85	46
C2	0,013	15,0	0,64	36
C3	0,007	11,5	0,87	31
C4	0,012	29,5	0,68	46
Wartość średnia Mean value	0,014	21,4	0,76	40
SD	0,006	9,52	0,12	8

Wśród badanych cukrów próbki C1 i C3 charakteryzowały się podobną średnią wielkością kryształów (MA) odpowiednio 0,85 mm i 0,87 mm, przy jednocześnie znacząco różnym zabarwieniu roztworu i zawartości popiołu. Pozostałe próbki C2 i C4 charakteryzowały się mniejszą średnią wielkością kryształu odpowiednio 0,64 mm i 0,68 mm.

Głównym założeniem badań było określenie wpływu temperatury cukru na przebieg krzywych sorpcji wody (rys. 4 - 7).

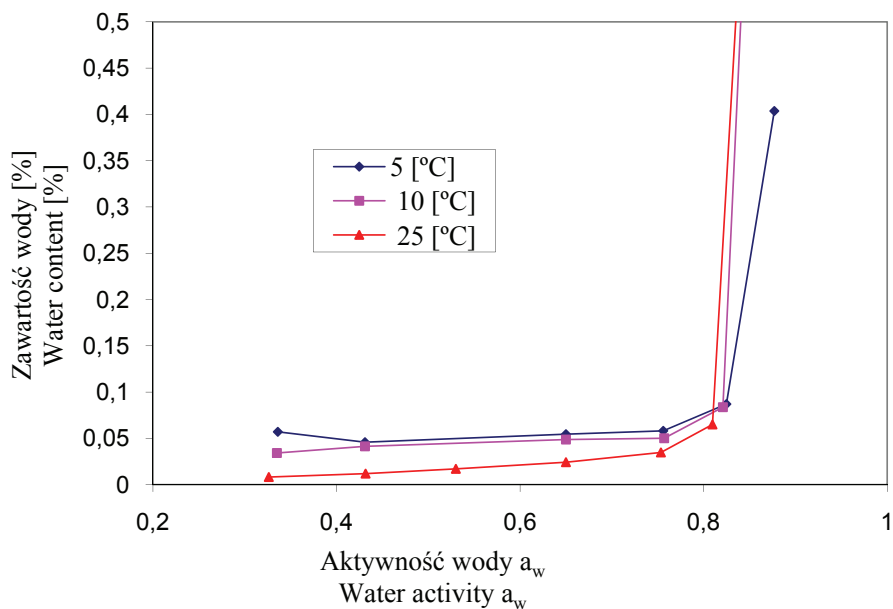
Do aktywności wody ok. 0,8 krystaliczny cukier sorbował niewielką ilość wody. Wyniki te są zbieżne z rezultatami prac jakie otrzymali Mathlouthi i Roge [10, 11], Rastikan i Capart [13] Bakhit i Schmidt [1] oraz Roge i Mathlouthi [15].

Temperatura jest jednym z głównych czynników determinujących trwałość przechowywanej żywności. Z reguły żywność przechowywana jest w niskiej temperaturze w celu spowolnienia zmian związanych z aktywnością drobnoustrojów czy też przemian enzymatycznych. W przypadku cukru białego, przechowywanie w niskiej temperaturze może spowodować niepożądane efekty. Obniżenie temperatury przechowywania powoduje obniżenie prężności pary wodnej, co w rezultacie przyczynia się do kondensacji wody na powierzchni produktu. Ma to szczególne znaczenie w przypadku produktów wysuszonych o bardzo niskiej zawartości wody, takich jak cukier biały, którego wilgotność waha się w granicach 0,05 % (m/m).



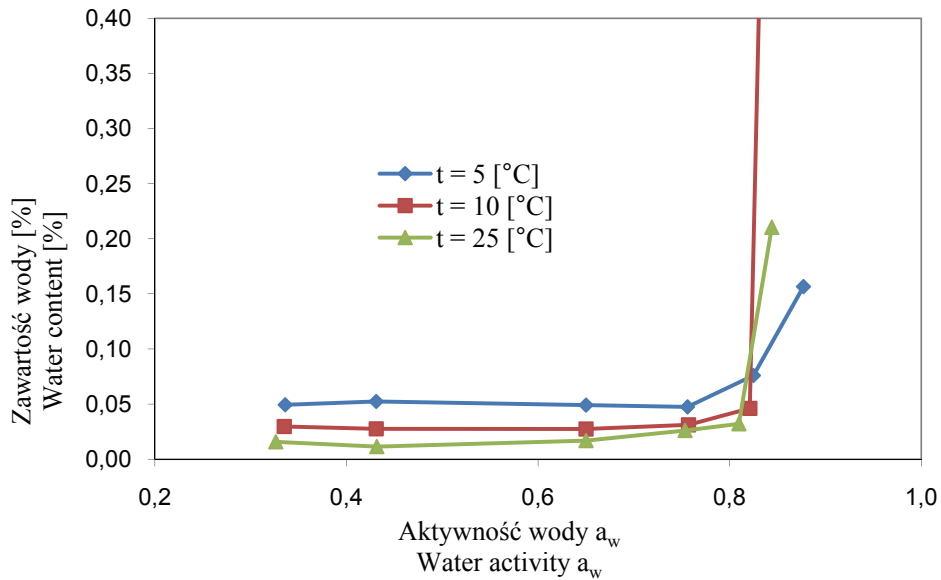
Rys. 4. Izotermy sorpcji wody przez próbkę C1 w temp. 5 i 25 °C.

Fig. 4. Water sorption isotherms of C1 sample at 5 and 25 °C.

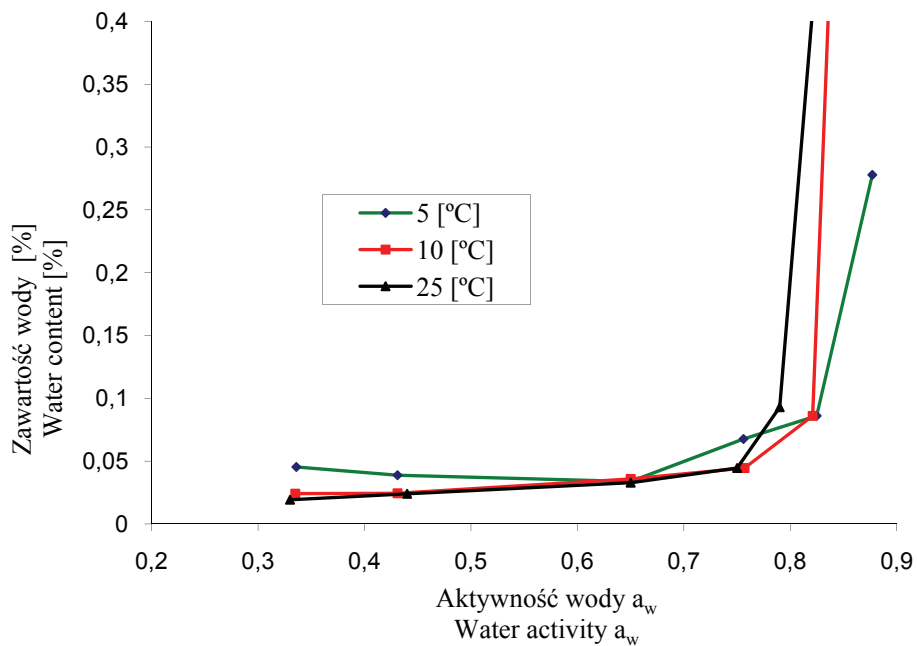


Rys. 5. Izotermy sorpcji wody przez próbkę C2 w temp. 5, 10 i 25 °C.

Fig. 5. Water sorption isotherms of C2 sample at 5, 10, and 25 °C.



Rys. 6. Izotermi sorpcji wody przez próbkę C3 w temp. 5, 10 i 25 °C.
 Fig. 6. Water sorption isotherms of C3 sample at 5, 10, and 25 °C.



Rys. 7. Izotermi sorpcji wody przez próbkę C4 w temp. 5, 10 i 25 °C.
 Fig. 7. Water sorption isotherms of C4 sample at 5, 10, and 25 °C.

Badane próbki przechowywane w temp. 25 °C odznaczały się o wiele mniejszą wilgotnością aniżeli próbki przechowywane w temp. 10 °C. Obniżenie temperatury do 5 °C spowodowało dalsze nawilżanie cukru. Przy wilgotności względnej powietrza równej 75 % obniżenie temperatury przechowywania z 25 do 10 °C sprawiło, że próbki zwiększyły swoją wilgotność o ok. 30 %. Te same próbki przechowywane w temp. 5 °C, zachowując tę samą wilgotność względną powietrza, zawierały już o ok. 80 % więcej wody aniżeli w temp. 25 °C.

Wnioski

1. Obniżenie temperatury przechowywania z 25 do 10 °C, przy wilgotności względnej powietrza 75 %, spowodowało przyrost zawartości wody o 30 ± 13 % we wszystkich badanych próbkach cukru.
2. Obniżenie temperatury z 25 do 5 °C przy zachowaniu tych samych warunków wilgotności względnej powietrza spowodowało wzrost zawartości wody o 79 ± 11 % w badanych próbkach cukru.
3. Przechowywanie cukru w niskiej temperaturze wymaga obniżenia wilgotności względnej powietrza do utrzymania jego jakości na odpowiednim poziomie.

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

Literatura

- [1] Bakhit R., Schmidt S.: Sorption behavior of mechanically mixed and freeze-dried sucrose/casein mixtures. *J. Food Sci.*, 1993, **58**, 1162-1165.
- [2] Billings S.W., Paterson A.H.J.: Prediction of the onset of caking in sucrose from temperature induced moisture movement. *J. Food Eng.*, 2008, **88**, 466-473.
- [3] Gondek E., Lewicki P.P.: Izotermy sorpcji pary wodnej suszonych i kandyzowanych owoców. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2005, **4** (1), 65.
- [4] Iciek J., Tamborski Z.: Izotermy sorpcji wilgoci przez cukier. *Gazeta Cukrownicza* 2006, **8**, 234-236.
- [5] ICUMSA Method GS 2/3-10 (2007). White sugar solution colour.
- [6] ICUMSA Method GS 2/3-17 (2002). Conductivity ash in refined sugar products.
- [7] ICUMSA Method GS 2/9-37 (2007). Particle size Distribution of White Sugar.
- [8] Kouhila M., Belghit A., Daguene M., Boutaleb B.C.: Experimental determination of the sorption isotherms of mint (*Mentha viridis*), sage (*Salvia officinalis*) and verbena (*Lippia citriodora*). *J. Food Eng.*, 2001, **47**, 281-287.
- [9] Labuza T., P., Labuza P., S.: Influence of temperature and relative humidity on physical states of cotton candy. *J. Food Proc. Preserv.*, 2004, **28**, 274-287
- [10] Mathlouthi M., Roge B.: Water content, water activity, and water structure: three approaches to water/food interactions – application to the storage stability of crystalline sugar in silo. *Zuckerindustrie* 2001, **11**, 880-884.

- [11] Mathlouthi M., Roge B.: Water vapour sorption isotherms and the caking of food powders. *Food Chem.* 2003, **82**, 61-71.
- [12] Michałowski S.: *Technologia chłodnictwa żywności, składniki pokarmowe i kontrola ich przemian.* Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 1995.
- [13] Rastkian P., Capart R.: Mathematical model of sugar dehydration during storage in laboratory silo. *J. Food Eng.*, 1998, **35**, 419-431.
- [14] Rein P.: *Cane Sugar Engineering.* Verlag Dr Albert Bartens Publisher, Berlin 2007, p. 552.
- [15] Roge B., Mathlouthi M.: Caking of white crystalline sugar. *Int. Sugar J.*, 2003, **105**, 128-136.
- [16] Serwiński M.: *Zasady inżynierii chemicznej.* WNT, Warszawa 1971, s. 575.
- [17] Tamborski Z., Wojtczak M.,: Wpływ jakości cukru na przebieg izoterm sorpcji wilgoci. *Gazeta Cukrownicza* 2007, **10**, 318-319.
- [18] Trujillo F.J., Pei Ching Yeow, Q. Tuan Pham: Moisture sorption isotherm of fresh lean beef and external beef fat. *J. Food Eng.*, 2003, **60**, 357-366.
- [19] van d. Poel P., Schiweck H., Schwartz T.: *Sugar Technology.* Verlag Dr Albert Bartens Publisher, Berlin 1998, p. 91.
- [20] *Zbiór przepisów ICUMSA,* Warszawa 1997.

EFFECT OF TEMPERATURE ON WATER SORPTION ISOTHERMS OF SUGAR

S u m m a r y

Water sorption isotherms describe an equilibrium relation between the water content in a product and the relative humidity of surrounding air. The course of sorption isotherms of products, even of such simple products as sugar, depends on many factors. While determining the water vapour, those factors impact the storage stability of products.

The objective of the paper was to determine the effect of temperature on the course of sorption isotherms of sugar. Samples of commercial, beet white sugar constituted the research material. Sorption curves were determined at a temperature of 5, 10, and 25°C using a method developed on the basis of data taken from the expert literature. It was found that under the same relative humidity of air, the decreased storage temperature caused an essential increase in water content in the samples studied.

Key words: sorption isotherms, white sugar, water activity, water content, storage temperature ☒

RENATA RÓŻYŁO, JANUSZ LASKOWSKI

PORÓWNANIE CECH JAKOŚCIOWYCH CHLEBA PSZENNEGO WYPIECZONEGO Z CIASTA PROWADZONEGO JEDNOFAZOWO I DWUFAZOWO

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu metody prowadzenia ciasta (jednofazowej i dwufazowej) na wybrane cechy jakościowe pieczywa pszennego. Surowiec stanowiła mąka pszenna chlebową typu 750 zróżnicowana pod względem zawartości glutenu, poprzez dodatek suchego glutenu. Zawartość glutenu mokrego w badanych mąkach mieściła się w zakresie od 25,7 do 33,0 %. Chleby pszenne wypiekano metodą jednofazową i dwufazową. Wypieczony chleb poddawano ocenie, na którą składały się następujące cechy: masa, wydajność, upiek, objętość, liczba jakości pieczywa wg Dallmana, porowatość oraz twardość miękkiszu. Analiza wyników wykazała, że metoda prowadzenia ciasta miała istotny wpływ na większość badanych cech chleba. Wyższą objętość miały chleby wypieczone z ciasta prowadzonego dwufazowo. Chleby po pierwszej dobie przechowywania wypieczone z ciasta wytworzonego metodą dwufazową odznaczały się istotnie mniejszą twardością. Masa, wydajność i objętość chleba uzyskanego dwoma badanymi metodami zwiększały się wraz ze wzrostem zawartości glutenu.

Słowa kluczowe: chleb, pieczywo, metoda jednofazowa (bezpośrednia), metoda dwufazowa (pośrednia)

Wprowadzenie

Chleb odgrywa istotne znaczenie w zaspokajaniu zapotrzebowania na energię, białko, węglowodany, błonnik pokarmowy, składniki mineralne (m.in. wapń i żelazo) oraz witaminy (z grupy E i z grupy B: B₁, B₂ i PP) [15, 16]. Pieczywo jest również produktem o wysokiej i różnorodnej zawartości przeciwutleniaczy niezbędnych w utrzymywaniu bezpiecznego dla zdrowia poziomu wolnych rodników [16]. Poza wykorzystaniem chleba w racjonalnym żywieniu powinien być on także podstawą żywienia ludzi wymagających określonych diet [15].

Ze względu na tak dużą rolę chleba w diecie, powinien on odpowiadać wymaganiom konsumenta. Istotne znaczenie w kształtowaniu cech jakościowych chleba za-

pewnia dobór metody prowadzenia ciasta, uwzględniający dany rodzaj mąki. Właściwie przeprowadzona fermentacja umożliwia bowiem powstawanie wielu cech oczekiwanych od dobrego chleba, włącznie z aromatem i jego okresem świeżości [5].

W przypadku pieczywa pszennego rozróżnia się wytwarzanie jednofazowe – bezpośrednie ciasta, jak i dwufazowe – pośrednie. W badaniach naukowych metoda jednofazowa odznacza się szerszym zastosowaniem [6, 7, 14, 19, 20, 21, 22]. Dwufazowa metoda wymaga od piekarzy znacznego nakładu pracy, jednak gwarantuje wyższą wartość odżywczą [2, 3] i sensoryczną pieczywa [2, 3, 8, 11]. Kownacki [12] również uważa, że ze względu na bogatsze walory smakowo-zapachowe pieczywa pszennego z niewielkim udziałem dodatków, powinno się stosować metody dwufazowe. Słowik [18] podaje, że drobne pieczywo pszenne wytworzone dwufazowo wykazuje bogatszy aromat od pieczywa prowadzonego jednofazowo. Amr i wsp. [1] porównywali wpływ metody: jednofazową i dwufazową (sponge – na sztywnej podmlodzie) prowadzenia ciasta na cechy chleba plackowego. Lever i wsp. [13], określając przydatność pszenic australijskich do wypieku, badali między innymi wartość wypiekową chleba prowadzonego metodą jednofazową, jak i metodą dwufazową (sponge). W wynikach nie podali jednak porównania tych dwóch metod, a jedynie określili średnią objętość chleba wypiekanego tymi dwoma metodami. Gocmen i Gurbuz [9] określali cechy jakościowe pieczywa wypiekanego metodą dwufazową w różnych warunkach, jednak nie odnieśli swoich wyników do metody jednofazowej. Katina i wsp. [11] porównywali wypieki chleba pszennego z dodatkiem mąki żytniej i całościarnowej wytwarzanego metodą jednofazową i dwufazową. Crowley i wsp. [4] porównywali chleby wypiekane jednofazowo i dwufazowo z 20 i 40 % dodatkiem ciasta zakwaszonego kulturą startową. Autorzy wykazują korzystny wpływ zastosowania metody dwufazowej na walory sensoryczne pieczywa pszennego. Inne cechy chleba, jak również jego parametry fizyczne nie są jednak dostatecznie ujęte w opracowaniach. W literaturze nie ma również dostatecznie sprecyzowanej wiedzy odnośnie wpływu metody prowadzenia ciasta na kształtowanie cech jakościowych pieczywa pszennego z mąk o różnej zawartości glutenu.

Celem pracy było określenie wpływu prowadzenia ciasta metodami: jednofazową i dwufazową na wybrane cechy jakościowe chleba pszennego. Badaniami objęto mąki zróżnicowane pod względem zawartości glutenu. Otrzymane chleby oceniano pod względem cech fizycznych, co ma istotne znaczenie użytkowe jak również pozwoli na interpretację wielu wyników badań ujmujących jedynie metodę jednofazową.

Material i metody badań

Do badań użyto mąki pszennej chlebowej typu 750, do której dodawano suchy gluten w ilości 0; 1; 2; 3 i 4 %.

Wypieki laboratoryjne pieczywa prowadzono metodami: jednofazową i dwufazową wg Jakubczyka i Habera [10] (tab. 1). Ilość wody potrzebnej do przygotowania ciasta zarówno w metodzie jednofazowej, jak i dwufazowej, ustalono przez uprzednie oznaczenie wodochłonności badanej mąki przy konsystencji 350 j.B. Do ciasta dodawano drożdże suszone instant w ilości odpowiadającej drożdżom prasowanym – odpowiednio 3 % w metodzie jednofazowej i 1 % w metodzie dwufazowej.

W metodzie jednofazowej ciasto mieszano bezpośrednio po dozowaniu składników do dzieży mieszarki wolnoobrotowej, typ GM-2. Sporządzone ciasto wstawiano razem z dzieżą na 30 min do komory fermentacyjnej o temp. 30 °C i wilgotności względnej 75 - 88 %. Po upływie tego czasu przebijano ciasto w celu usunięcia wytworzonych gazów. Następnie dzieżę z ciastem wstawiano do komory fermentacyjnej na 30 min, do dalszej fermentacji.

Prowadzenie dwufazowe polegało na uprzednim wykonaniu rozczyну, jego fermentacji, a następnie na wytworzeniu ciasta. Do połowy mąki przeznaczonej do wypieku dodawano wodę do uzyskania wydajności rozczyну 180 % oraz drożdże. Rozczyn mieszano i poddawano fermentacji. Fermentację rozczyну prowadzono w temp. 28 °C przez 3 h. Następnym etapem było wytworzenie ciasta. Do rozczyну dodawano pozostałą wodę, mąkę i mieszano. Temp. ciasta poddanego fermentacji wynosiła 30 °C, a jego fermentacja trwała 20 min przy wilgotności względnej 75 - 88 %.

Po zakończeniu fermentacji zarówno z ciasta prowadzonego jedno-, jak i dwufazowo, odważano i formowano kęs ciasta, który wkładano do foremki wysmarowanej olejem jadalnym. Foremkę z ciastem wstawiano do komory fermentacyjnej na rozrost końcowy. Po zakończeniu rozrostu foremkę z ciastem wyjmowano z komory, zwilżano powierzchnię ciasta wodą, po czym wstawiano foremkę do pieca piekarskiego, nagrzanego uprzednio do temp. 230 °C. W momencie wstawiania foremki z ciastem do pieca dobrze zaparowywano komorę wypiekową pieca. Czas wypieku wynosił 30 min. Po upływie tego czasu foremkę wyjmowano z pieca, powierzchnię bochenka zwilżano wodą, wyjmowano go z foremki i ważono na wadze technicznej z dokładnością do 0,1 g. Wypieki przeprowadzono w 3 powtórzeniach.

Pieczywo zostawiano na 24 h w temperaturze pokojowej, po czym ważono je ponownie, w celu wyliczenia wydajności pieczywa i upieku. Objętość pieczywa określano przez pomiar w naczyniu objętości wypartych przez bochenek nasion prosa. Dodatkowo ocena pieczywa polegała na określeniu współczynnika porowatości i Liczby Dallmana [10].

Teksturę miękiszu określano po 1 i po 3 dobach przechowywania, na próbkach miękiszu o wymiarach 30×30×20 mm przy wykorzystaniu maszyny wytrzymałościowej ZWICK Z020/TN2S. Próbkę miękiszu ściskano trzpieniem o średnicy 30 mm do 50 % głębokości. Pomiar wykonano w 9 powtórzeniach na próbkach ze środkowych części chleba. Podczas pomiarów otrzymano wykresy w układzie siła – przemieszcze-

nie trzpienia. Twardość wyliczono według Majewskiej i wsp. [14] jako iloraz siły i deformacji próbki.

Tabela 1

Warunki wytwarzania chleba metodą jednofazową i dwufazową.
Conditions of making bread using straight and pre-fermented dough method.

Warunki wytwarzania chleba Conditions of making bread	Metoda jednofazowa Straight dough method	Metoda dwufazowa Pre-fermented dough method
Receptura Recipe	Mąka + drożdże (3 %) + woda + sól (2 %) Flour + yeast (3 %) + water + salt (2%)	Mąka + drożdże (1 %) + woda + sól (1 %) + cukier (1 %) Flour+yeast (1 %) + water + salt (1 %) + sugar (1 %)
Ilość faz Amount of phases	I (ciasto) I (dough)	II (rozczyń, ciasto) II (pre-fermented dough, dough)
Temperatura fermentacji rozczyń Pre-ferm. dough fermentation temp.	-	28 °C
Czas fermentacji rozczyń Pre-fermented dough fermentation time	-	3 h
Temperatura fermentacji ciasta Dough fermentation temperature	30 °C	30 °C
Czas fermentacji ciasta Dough fermentation time	1 h (po 0,5 h przebicie)	20 min
Temperatura rozrostu kęsów Dough proofing temperature	30 °C	32 °C
Czas rozrostu kęsów Dough proofing time	do uzyskania optym. rozrostu until the optimal growth	do uzyskania optym. rozrostu until the optimal growth
Temperatura wypieku Baking temperature	230 °C	230 °C
Czas wypieku Baking time	30 min	30 min

Analizę statystyczną wyników badań przeprowadzono na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ w programie Statistica firmy Statsoft. Wykonano analizę wariancji oraz test Tukey'a, weryfikując istotność różnic pomiędzy określonymi cechami.

Wyniki i dyskusja

Uzyskane wyniki z wypieku dwoma metodami jedno- i dwufazową, przedstawiono na wykresach (rys. 1 - 7) w zależności od zawartości glutenu mokrego w mące.

Zmiany zawartości glutenu w zakresie od 25,7 do 33 % były spowodowane zróżnicowanym dodatkiem glutenu suchego do mąki bazowej.

Porównując dwie metody prowadzenia ciasta istotnie większą masą zarówno po wypieku, jak i po 1. dobie, odznaczały się chleby prowadzone dwufazowo z mąki o największej zawartości glutenu (33 %). W innych przypadkach nie zauważono istotnych różnic (rys. 1). Masa chleba po wypieku zarówno w metodzie jednofazowej, jak i dwufazowej, wzrastała wraz ze wzrostem zawartości glutenu w mące. Równania zależności przedstawiono w postaci wielomianu drugiego stopnia w przypadku masy po wypieku, natomiast w postaci liniowej w przypadku masy po 24 h, zarówno w metodzie jednofazowej, jak i dwufazowej (tab. 2).

Tabela 2

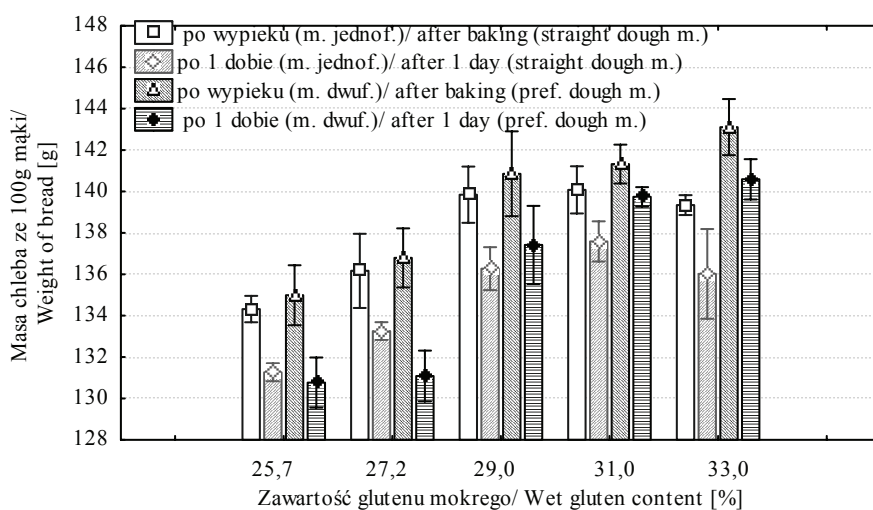
Równania zależności cech chleba (y) od zawartości glutenu (x), wypiekanego dwoma metodami.
Equations expressing relations between content of gluten (x) and features (y) of bread baked using two methods discussed.

Badana cecha chleba Bread feature studied	Metoda jednofazowa Straight dough method		Metoda dwufazowa Prefermented dough method	
	Postać równania Form of equation	R ²	Postać równania Form of equation	R ²
Masa chleba po wypieku Weight of bread just after baking	$y = -0,2137x^2 + 13,28x - 66,191$	0,802	$y = -0,2195x^2 + 13,615x - 74,047$	0,807
Masa chleba po 24 h Weight of bread 24 hours after baking	$y = 1,1162x + 106,84$	0,784	$y = 1,5312x + 91,239$	0,845
Upiek chleba Bake loss	$y = 0,105x^2 - 6,3526x + 103,58$	0,500	$y = -0,4608x + 20,919$	0,618
Wydajność chleba Yield of bread	$y = -0,2195x^2 + 13,615x - 74,047$	0,807	$y = 1,5312x + 91,239$	0,845
Objętość chleba Volume of bread loaf	$y = 17,941x - 109,34$	0,932	$y = 12,87x + 103,97$	0,899
Współcz. porowatości Porosity index	$y = -4,1824x + 201,37$	0,777	$y = 3,2521x - 23,562$	0,785
Liczba Dallmana Dallman value	$y = -2,8612x^2 + 169,88x - 2391,4$	0,666	$y = 8,2954x - 107,6$	0,848
Twardość miękiszu po 1 dobie Bread crumb firmness 1 day after baking	$y = -0,2189x + 7,3408$	0,708	$y = -0,1018x + 3,6159$	0,796
Twardość miękiszu po 3 dobach Bread crumb firmness 3 days after baking	$y = -0,1448x + 5,3546$	0,568	$y = -0,1018x + 3,6159$	0,796

Upiek chleba wraz ze wzrostem zawartości glutenu od 25,7 do 29 % zmniejszał się, a następnie po przekroczeniu 31 % zawartości glutenu zwiększył się w przypadku metody jednofazowej (zależność postaci wielomianu drugiego stopnia). Natomiast upiek chleba wypieczonego z ciasta prowadzonego dwufazowo wraz ze wzrostem od 25,7 do 33 % zawartości glutenu zmniejszał się (zależność liniowa) (rys. 2, tab. 2). W przypadku większości badanych poziomów zawartości glutenu nie było istotnych różnic między upiekaniem pieczywa różniącego się sposobem prowadzenia ciasta. Jedynie w przypadku 33 % zawartości glutenu stwierdzono istotnie większy upiek pieczywa prowadzonego metodą jednofazową.

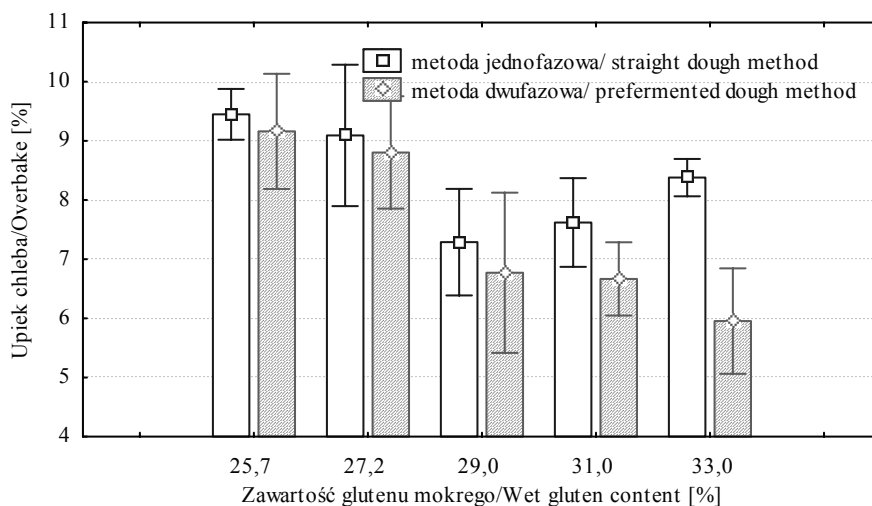
Istotnie większą wydajność pieczywa uzyskano z ciasta o zawartości glutenu 31 i 33 % prowadzonego metodą dwufazową w porównaniu z jednofazowym prowadzeniem ciasta (rys. 3). Natomiast mniejszą wydajność uzyskano z ciasta wytworzonego metodą dwufazową z mąki o zawartości glutenu 27,2 %.

Wydajność chleba wytworzonego z ciasta prowadzonego metodą jednofazową zwiększała się wraz ze wzrostem od 25,7 do 31 % zawartości glutenu, a od 31 do 33 % zawartości glutenu następowało zmniejszenie wartości wydajności (zależność w postaci wielomianu drugiego stopnia). W przypadku chleba z ciasta prowadzonego dwufazowo zauważono liniowy wzrost wydajności (tab. 2).



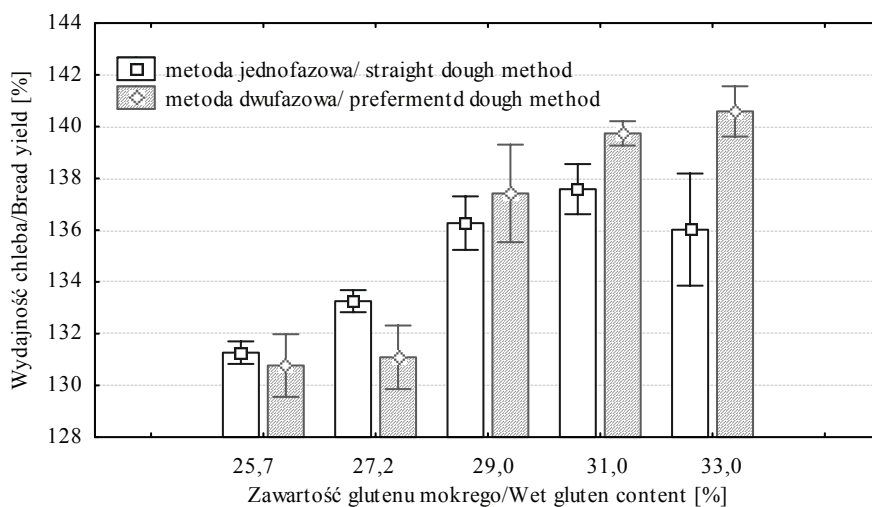
Rys. 1. Masa chleba wypiekanego dwoma metodami: jednofazową i dwufazową.

Fig. 1. Weight of bread baked using two dough methods: straight and pre-fermented dough.



Rys. 2. Upiek chleba wypiekanego dwoma metodami: jednofazową i dwufazową.

Fig. 2. Bakeloss of bread baked using two dough methods: straight and pre-fermented dough.



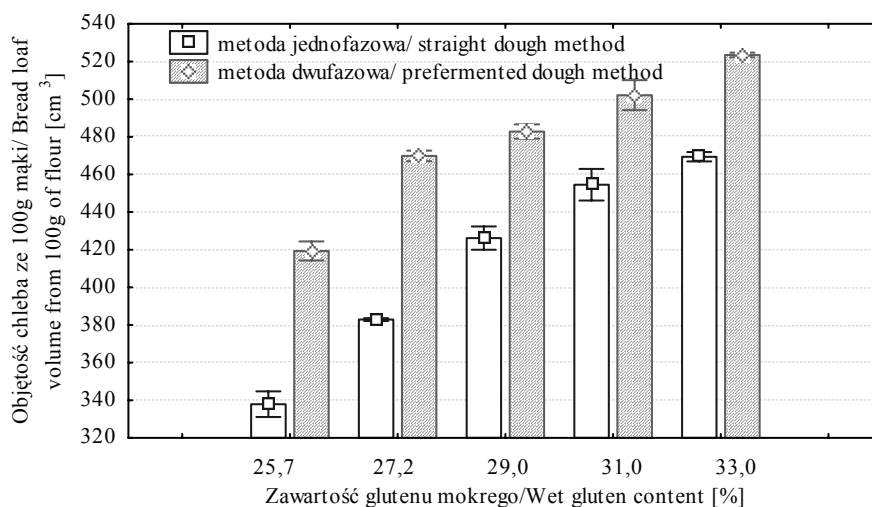
Rys. 3. Wydajność chleba wypiekanego dwoma metodami: jednofazową i dwufazową.

Fig. 3. Yield of bread baked using two dough methods: straight and pre-fermented dough.

Objętość chleba zarówno wypiekanego z ciasta prowadzonego jednofazowo, jak i dwufazowo, wzrastała liniowo wraz ze wzrostem zawartości glutenu w badanym zakresie od 25,7 do 33 % (rys. 4, tab. 2.). Spulchnienie pieczywa pszenne jest możliwe dzięki obecności w mące pszennej glutenu. Cechą glutenu mocnego jest powolne chłonięcie wody – co objawia się jego zwięzłością i nieciągliwością. Gluten słaby wykazuje szybką chłonność wody i ma luźną rozplywającą się konsystencję. Ciasto

z mąki o słabym glutenie ma słabą strukturę, która nie wytrzymuje naporu gazów fermentacyjnych, dzięki czemu przechodzą one bez przeszkód na zewnątrz; chleb jest wtedy płaski [10].

Istotnie wyższą objętość miały chleby wypieczone z ciasta prowadzonego dwufazowo. Katina i wsp. [11], porównując wypieki chleba pszennego z dodatkiem mąki żytniej i całościarnowej, zauważyli ogólną zależność, że objętość chleba wytwarzanego metodą dwufazową była większa niż wytwarzanego metodą jednofazową. Badane przez autorów chleby różniły się zawartością popiołu, a nie zawartością glutenu. Crowley i wsp. [4] zauważyli, że chleby wypiekane dwufazowo z 20 % dodatkiem ciasta zakwaszonego kulturą starterową miały istotnie większą objętość od chlebów wypiekanych jednofazowo. Nie wykazali istotnie większej objętości chleba z 40 % zawartością ciasta zakwaszonego w porównaniu z chlebem wypiekany z ciasta wytwarzanego jednofazowo. Amr i wsp. [1] również wykazali, że chleby plackowe prowadzone metodą dwufazową wykazywały większą objętość niż metodą jednofazową. Słowik [18] podaje, że drobne pieczywo pszenne wytworzone dwufazowo wykazuje lepsze spulchnienie (większą objętość) od pieczywa prowadzonego jednofazowo. Prowadzenie dwufazowe autorka zaleca w przypadku stosowania do wypieku mąki mocnej. Natomiast do wypieków z mąki słabej, o zawartości glutenu poniżej 25 %, zaleca się bezpośrednio – jednofazowe prowadzenie ciasta [17].



Rys. 4. Objętość chleba wypiekanego dwoma metodami: jednofazową i dwufazową.

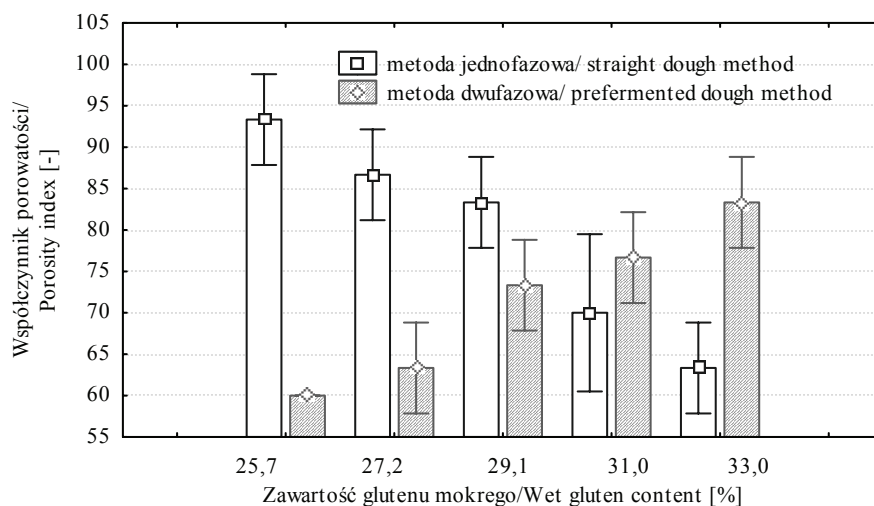
Fig. 4. Volume of bread loaf baked using two dough methods: straight and pre-fermented dough.

W badaniach własnych największą różnicę objętości chleba zauważono w przypadku mąki o 25,7 i 27,2 % zawartości glutenu. W obu przypadkach objętość chleba wypieczonego metodą dwufazową była o 23 % większa niż objętość chleba wypiezo-

nego metodą jednofazową. Natomiast przy 31 i 33 % zawartości glutenu różnica ta wynosiła ok. 10 %.

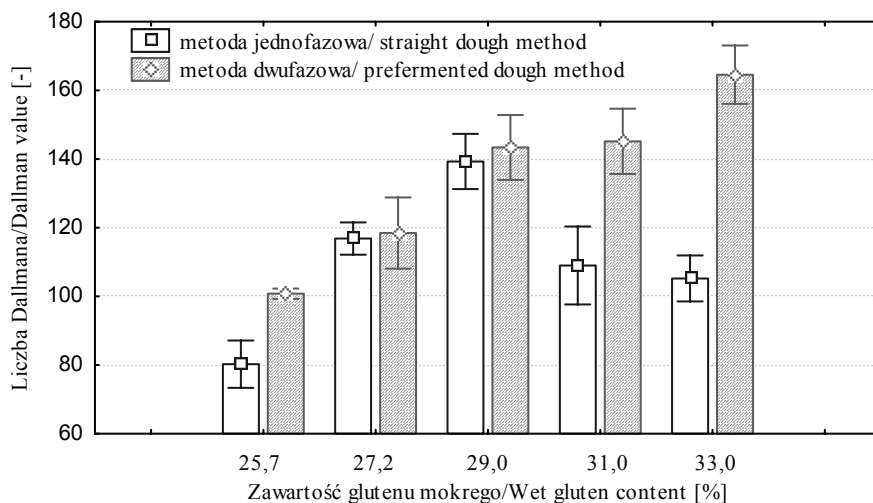
Wartość współczynnika porowatości zmniejszała się liniowo w przypadku wypieków chleba prowadzonego jednofazowo, to znaczy, że wraz ze wzrostem zawartości glutenu mokrego następowało zwiększenie porów miękiszu. Chleby wypiekane dwufazowo miały niższe wartości współczynnika porowatości to znaczy, że odznaczały się większymi porami niż wypiekane jednofazowo. Było to prawdopodobnie związane z intensywniejszym wytwarzaniem dwutlenku węgla podczas fermentacji w metodzie dwufazowej. Zwiększanie zawartości glutenu w badanym zakresie od 25,7 do 33 % powodowało liniowy wzrost współczynnika porowatości w metodzie dwufazowej (rys. 5, tab. 2). Największa różnica porowatości chlebów wypiekanych dwoma metodami była w przypadku wypieku z mąki o najmniejszej zawartości glutenu 25,7 %. Było to związane też z dużą różnicą między objętością chleba.

Liczba Dallmana (rys. 6), będąca wskaźnikiem ogólnej oceny pieczywa, była istotnie wyższa w przypadku chlebów prowadzonych dwufazowo o zawartości glutenu 25,7; 31,0 i 33,0 %. Natomiast w przypadku 27,2 i 29,0 % zawartości glutenu nie stwierdzono istotnych różnic. Zauważono dodatkowo w metodzie dwufazowej liniowy wzrost liczby Dallmana wraz ze zwiększającą się ilością glutenu w mące (tab. 2). W metodzie jednofazowej najpierw następował wzrost (w przypadku zawartości glutenu od 25,7 do 29,0 %) a po przekroczeniu 31 % zawartości glutenu zaobserwowano spadek liczby Dallmana.



Rys. 5. Współczynnik porowatości miękiszu chleba wypiekanego dwoma metodami: jednofazową i dwufazową.

Fig. 5. Porosity index of bread crumb baked using two dough methods: straight and pre-fermented dough.



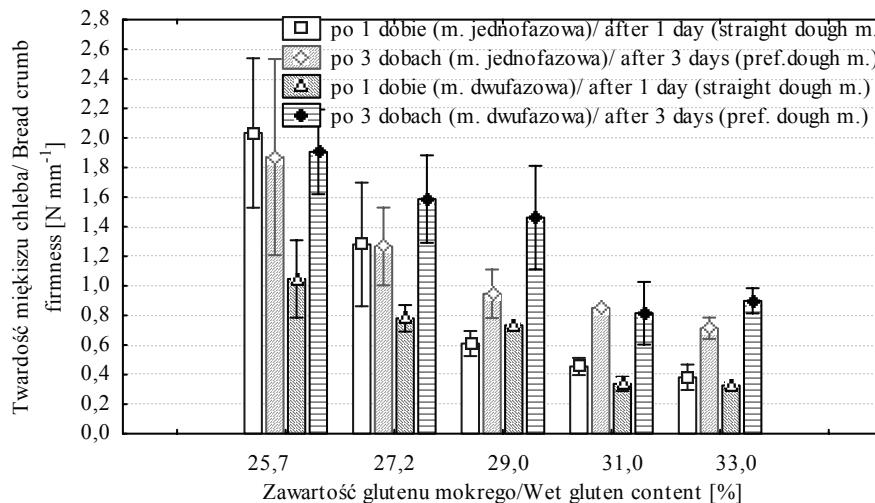
Rys. 6. Liczba Dallmana chleba wypiekanego dwoma metodami: jednofazową i dwufazową.

Fig. 6. Dallman value of bread baked using two dough methods: straight and pre-fermented dough.

Przeprowadzone badania wykazały, że metoda wytwarzania ciasta miała istotny wpływ na teksturę chleba. Chleby po 1 dobie wypieczone z ciasta wytworzonego metodą dwufazową odznaczały się mniejszą twardością, szczególnie w przypadku chlebów wypieczonych z mąki o 25,7 i 27,2 % zawartości glutenu. Było to związane z istotnie wyższą objętością chlebów.

Amr i wsp. [1] wykazali, że metoda wytwarzania ciasta miała istotny wpływ na jakość w tym teksturę chlebów plackowych. Lepszą jakością charakteryzowały się chleby wytworzone metodą dwufazową. W badaniach Katiny i wsp. [11] twardość chleba po jednej dobie przechowywania wypiekanego jednofazowo nie różniła się istotnie od chleba wytwarzanego metodą dwufazową. Jednak po 4 dobach przechowywania twardość chleba z metody dwufazowej była mniejsza. Natomiast Crowley i wsp. [4] zauważyli, że twardość chleba po 26 h nie różniła się istotnie w przypadku chleba wypiekanego jednofazowo, jak i chleba prowadzonego dwufazowo. Odmienne spostrzeżenia wynikają z tego, że w badaniach autora ciasto wytwarzane dwufazowo było z 20 i 40 % dodatkiem ciasta zakwaszonego, a nie jak w niniejszych badaniach, fazą pośrednią była podmłoda pszenna.

Analizując teksturę chleba należy dodatkowo zaznaczyć, że wraz ze wzrostem zawartości glutenu w badanym zakresie twardość chleba zmniejszała się liniowo zarówno w przypadku metody jednofazowej jak i dwufazowej (tab. 2).



Rys. 7. Twardość miększu chleba wypiekanego dwoma metodami: jednofazową i dwufazową.

Fig. 7. Bread Crumb Firmness of bread baked using two dough methods: straight and pre-fermented dough.

Wnioski

1. Masa chleba w większości przypadków nie różniła się istotnie, jedynie chleby prowadzone dwufazowo z mąki o największej zawartości glutenu (33 %) w porównaniu z chlebami z ciasta wytwarzanego jednofazowo odznaczały się większą masą. Masa chleba z ciasta wytwarzanego tymi dwoma metodami wzrastała wraz ze wzrostem (od 25,7 do 33,0 %) zawartości glutenu w mące.
2. Wyższą wydajność pieczywa uzyskano z ciasta o zawartości glutenu 31 i 33 % prowadzonego metodą dwufazową. Natomiast istotnie większy upiek uzyskano z ciasta prowadzonego metodą jednofazową w przypadku chleba z 33 % zawartością glutenu. Wydajność pieczywa w przypadku dwóch badanych metod wzrastała wraz ze wzrostem zawartości glutenu od 25,7 do 33 %.
3. Chleby wypiekane dwufazowo miały niższe wartości współczynnika porowatości to znaczy, że odznaczały się większymi porami niż wypiekane jednofazowo. Wartość współczynnika porowatości wraz ze wzrostem zawartości glutenu zwiększała się w przypadku chleba prowadzonego dwufazowo, a zmniejszała w metodzie jednofazowej.
4. Istotnie wyższą objętość miały chleby wypieczone z ciasta prowadzonego dwufazowo. Objętość chleba wzrastała liniowo wraz ze wzrostem (od 25,7 do 33 %) zawartości glutenu. Największą różnicę objętości chleba prowadzonego jedno- i dwufazowo zauważono w przypadku mąki o 25,7 i 27,2 % zawartości glutenu.

5. Metoda wytwarzania ciasta miała istotny wpływ na teksturę chleba. Chleby po pierwszej dobie przechowywania wypieczone z ciasta wytworzonego metodą dwufazową odznaczały się istotnie mniejszą twardością.

Literatura

- [1] Amr A., Ajo R.: Production of two types of pocket-forming flat bread by the sponge and dough method. *Cereal Chem.*, 2005, **82** (5), 499-503.
- [2] Anonim: Jak w krótkim czasie uzyskać podmlodę o najwyższej jakości technologicznej? *Przegl. Piek. Cukier.*, 2007, **9**, 36-37.
- [3] Arendt E. K., Ryan L.A.M., Dal Belo F.: Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology*, 2007, **24**, 165-174.
- [4] Crowley P., Schober T.J., Clarke C.I., Arendt E.K.: The effect of storage time on textural and crumb grain characteristics of sourdough wheat bread. *Eur. Food Res. Technol.*, 2002, **214**, 489-496.
- [5] Dirndofer M.: Prefermenty w pszennych ciastach i ich wpływ na proces wytwarzania ciasta i smak pieczywa. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2006, **10**, 11-16.
- [6] Dziki D., Laskowski J.: Wpływ dodatku mąki gryczanej do mąki pszennej na wybrane cechy ciasta i miękiszu pieczywa. *Acta Agrophysica*, 2005, **6** (3), 617-624.
- [7] Dziki D., Różyło R., Laskowski J.: Wpływ dodatku mąki ryżowej na zmiany tekstury miękiszu pieczywa pszennego. *Acta Agrophysica* 2009, **13** (2), 329-340.
- [8] Gänzle M.G., Loponen J., Gobbetti M.: Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality. *Trends Food Sci. Technol.*, 2008, **19**, 513-521.
- [9] Gocmen D., Gurbuz O.: The effects of wheat sourdough on glutenin patterns, dough rheology and bread properties. *Eur. Food Res. Technol.*, 2007, **225**, 821-830.
- [10] Jakubczyk T., Haber T.: Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Wyd. SGGW-AR, Warszawa 1983.
- [11] Katina K., Heiniö R.L., Autio K., Poutanen K.: Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *LWT*, 2006, **39**, 1189-1202.
- [12] Kownacki J.: Prawdy i mity o jakości i wartości żywieniowej polskiego pieczywa. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2005, **10**, 16-17.
- [13] Lever T., Kelly A., De Faveri J., Martin D., Sheppard J., Quail K., Miskelly D.: Australian wheat for the sponge and dough bread making process. *Austr. J. Agric. Res.*, 2005, **56**, 1049-1057.
- [14] Majewska K., Dąbkowska E., Żuk-Gołaszewska K., Tyburski J.: Wartość wypiekowa mąki otrzymanej z ziarna wybranych odmian orkiszu (*Triticum spelta* L.). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **2** (51), 60-71.
- [15] Mielcarz M.: Wartość odżywcza pieczywa i jego przeznaczenie dla konsumentów wymagających określonych diet (cz. II). *Przegl. Piek. Cukier.*, 2004, **12**, 12-14.
- [16] Piesiewicz H.: Nowoczesna promocja pieczywa przez akcentowanie walorów żywieniowych. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2007, **12**, 22-24.
- [17] Słowik E.: Słabe mąki. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2008, **3**, 38-39.
- [18] Słowik E.: Drobne pieczywo pszenne (produkcja bez polepszaczy). *Przegl. Piek. Cukier.*, 2008, **6**, 30-32.
- [19] Sobczyk M.: Wpływ mrożenia międzyproduktów piekarskich na jakość gotowego wyrobu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47) Supl., 314-324.
- [20] Różyło R.: Zmiany cech tekstury miękiszu chleba pszennego pod wpływem dodatku produktów z owsa. *Acta Agrophysica*, 2007, **10** (3), 667-676.
- [21] Różyło R., Laskowski J.: Zmiany cech tekstury miękiszu pieczywa pszennego pod wpływem dodatku mąki z prosa. Monografia-Rozdział 7 W: Właściwości geometryczne, mechaniczne i strukturalne

surowców roślinnych i produktów spożywczych – pod red. B. Dobrzańskiego jr i L. Mieszkalskiego. Komitet Agrofizyki PAN, Wyd. Nauk. FRNA, 2007, ss. 129-138.

- [22] Różyło R., Laskowski J.: Wpływ dodatku produktów z amarantusa na cechy tekstury miększu pieczywa. *Acta Agrophysica*, 2008, **11** (2), 499-508.

COMPARISON QUALITY FEATURES OF WHEAT BREAD BAKED USING STRAIGHT AND PRE-FERMENTED DOUGH METHOD

S u m m a r y

The objective of this study was to evaluate the effect of bread-making method (straight dough and pre-fermented dough) on the selected quality features of wheat bread. The raw material was a white bread wheat flour, 750 type, showing different content levels of gluten owing to the addition of dry gluten. The gluten content in the flour types studied ranged from 25.7 to 33.0 %. Wheat breads were baked using a straight and a pre-fermented dough method. The following features of breads baked were assessed: weight, yield, bake loss, volume, Dallman value, porosity index, and firmness of bread crumb. The analysis of the results obtained showed that the bread-making method had a significant effect on the majority of bread features studied. The breads baked using a pre-fermented dough method had a higher volume than the breads baked using a straight dough method. The breads baked using a pre-fermented dough method had a considerably lower firmness after 1-day storage. As for the bread baked using two dough methods, their weight, yield, and volume increased along with the increase in the content of gluten therein.

Key words: bread, bread product, straight dough (direct) method, pre-fermented dough (indirect) method 

GENOWEFA BONCZAR, AGATA REGUŁA-SARDAT,
HENRYK PUSTKOWIAK, ANETA ŻEBROWSKA

WPLYW SUBSTYTUCJI MLEKA OWCEGO MLEKIEM KROWIM NA WŁAŚCIWOŚCI BUNDZU

Streszczenie

Celem pracy było stwierdzenie różnic w składzie chemicznym i cechach fizycznych mleka owczego, krowiego i mieszanego krowio-owczego oraz wyprodukowanych z niego serów, a ponadto określenie czy na podstawie przeprowadzonej analizy fizykochemicznej sera można wnioskować o ewentualnym dodatku do mleka owczego mleka krowiego.

Materiałem do badań było mleko polskich owiec górskich, krów nizinno-czarno-białych oraz mleko mieszane w stosunku 1 : 1 obu gatunków zwierząt. Mleko poddano analizie, oznaczając: gęstość, kwasowość miareczkową, pH, a także zawartość suchej masy, białka, tłuszczu oraz profil kwasów tłuszczowych. Z mleka wyprodukowano trzy rodzaje bundzu: owczy, krowi i mieszany. Przeprowadzono analizę bundzów, oznaczając: zawartość suchej masy, tłuszczu, białka, a także pH, kwasowość miareczkową, parametry tekstury i profil kwasów tłuszczowych. Stwierdzono, że podstawowymi wskaźnikami mieszania mleka owczego z krowim może być równoczesne badanie pH i kwasowości miareczkowej, a szczególnie analiza składu tłuszczu, z uwzględnieniem zawartości kwasu kaprynowego. Wykrywanie dodatku mleka krowiego do owczego w produkcie gotowym, jakim jest bundz, nie jest możliwe na podstawie badania podstawowego składu chemicznego i tekstury sera, natomiast pomocne może być oznaczenie profilu kwasów tłuszczowych w tłuszczu sera, a szczególnie zawartości w nim kwasu kaprynowego.

Słowa kluczowe: mleko owcze, krowie, mieszane, bundz, skład chemiczny, tekstura, kwasy tłuszczowe

Wprowadzenie

Sery produkowano z mleka różnych gatunków zwierząt prawdopodobnie od czasu ich udomowienia. Szczególnie mleko owcze, krowie i kozie było i nadal jest wykorzystywane do wyrobu tych wartościowych pod względem wartości odżywczej i sensorycznej produktów [10, 11]. Wielka różnorodność produkowanych na świecie serów jest wynikiem wpływu zarówno wielowiekowej tradycji, jak i zastosowania nowocze-

Prof. dr hab. inż. G.J. Bonczar, dr inż. A. Regula-Sardat, mgr inż. A. Żebrowska, Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wdz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, mgr inż. H. Pustkowiak, Katedra Hodowli Bydła, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, al. 29 Listopada 46, 31-425 Kraków

snych technik i technologii. Nowe technologie nie zawsze wpływają pozytywnie na jakość serów, zwłaszcza w aspekcie ich rozpoznawalności i właściwości sensorycznych. Toteż w różnych rejonach świata wyraźnie zaznacza się tendencja na rynku konsumentów do wzrostu popytu na sery produkowane według tradycyjnych, starych, niekiedy wręcz rzemieślniczych metod, serów o specyficznych walorach sensorycznych, wyróżniających je od wyrabianych na skalę przemysłową, będących wizytówką rejonu czy kraju, z którego pochodzą.

Producenci regionalnych serów dbają o to, aby mimo niekiedy skomplikowanych i żmudnych metod wyrabiać je według tradycyjnych receptur. Uzyskując niepowtarzalny produkt, pragną aby ich wysiłek i determinacja znalazły odzwierciedlenie w postaci uznania konsumentów, poprzez zwiększony popyt na ich produkty. Równie istotną sprawą dla producentów regionalnych serów jest ochrona prawna ich wyrobów. Stąd już w pierwszej połowie XX wieku, w niektórych krajach, a pod koniec ubiegłego stulecia również w krajach UE zadbano o to, aby umożliwić producentom produktów regionalnych i tradycyjnych ochronę [12]. Od 2004 roku również nasi producenci wyrobów regionalnych i tradycyjnych mają możliwość uzyskania znaków ochronnych na te wyroby. Już skorzystali z tej możliwości i zgłosili kilka produktów mlecznych: oscypka, bryndzę podhalańską, bundz, żentycę i redykołki. Dwa pierwsze produkty uzyskały unijny znak ochronny PDO (z ang. Protected Denomination of Origin) noszący w naszym kraju nazwę ChNP (Chroniona Nazwa Pochodzenia). Oba produkty mleczne zgodnie ze specyfikacją i opisem umieszczonym we wniosku mają być produkowane z mleka owczego lub z mleka owczego z maksymalnie 40 % dodatkiem mleka krowiego krów rasy polskiej czerwonej (PC). Produkcja serów z mleka mieszanego jest dopuszczona i przyjęta w wielu krajach, szczególnie w Grecji, gdzie sery produkuje się z mleka mieszanego trzech gatunków zwierząt domowych (krów, owiec i kóz) i są one traktowane na równi z serami z mleka każdego z tych gatunków oddzielnie [10, 11, 15]. Mniejsza dostępność mleka owczego i bogatszy skład chemiczny w porównaniu z mlekiem krowim jest jedną z przyczyn wysokiej ceny serów z mleka owczego. Dlatego w interesie zarówno producentów, jak i konsumentów wydaje się istotne poszukiwanie metod, które pozwoliłyby wykryć ewentualny dodatek mleka krowiego do mleka owczego, szczególnie w wyrobie gotowym.

Celem pracy było stwierdzenie różnic w składzie chemicznym i cechach fizycznych mleka owczego, krowiego i mieszanego krowio-owczego oraz wyprodukowanych z niego serów, a ponadto określenie czy na podstawie przeprowadzonej analizy fizykochemicznej sera można wnioskować o ewentualnym dodatku do mleka owczego mleka krowiego.

Material i metody badań

Do badań użyto mleka zbiorczego, pobranego od stad polskich owiec górskich wypasanych w okolicach Nowego Targu, a także mleko zbiorcze pobrane od krów nizinno-czarno-białych z obory w Olszanicy. Mleko pobierano w czerwcu 2007 roku, trzykrotnie w odstępach tygodniowych. Mleko krowie i owcze, a także wymieszane w proporcji 1 : 1 mleko krowio-owcze poddano analizie.

Badania mleka obejmowały oznaczenie zawartości: suchej masy metodą suszenia zgodnie z PN [3, 19], związków azotowych ogółem metodą Kjeldahla w aparacie Büchi według PN [3, 19], tłuszczu metodą Gerbera według PN [19]. Ponadto oznaczano: kwasowość czynną przy użyciu pehametru cyfrowego CP-215 oraz elektrody zespolonej AS AGH-Pt firmy Elektron, kwasowość miareczkową metodą Soxhleta-Henkla według PN [19], gęstość przy użyciu laktodensymetru oraz profil kwasów tłuszczowych według metody podanej przez Chaluarda i wsp. [8]. Tłuszcz z mleka ekstrahowano metodą BDI opisaną przez Andersona i Kjaergaarda [1], a rozdział kwasów przeprowadzano przy użyciu chromatografu gazowego PYE-UNICAM, wyposażonego w kolumnę kapilarną Supelcowac o długości 30 m. Gazem nośnym był hel, którego prędkość przepływu wynosiła 2,5 cm³/min. Rozdział prowadzono w temp.: dozownik 235 °C, kolumna 220 °C, detektor płomieniowo-jonizacyjny 250 °C.

Z każdego rodzaju mleka (krowie, owcze i mieszane) produkowano bundz, ser miękki, wyrabiany tradycyjnie [14]. Przeprowadzono analizy świeżego bundzu, oznaczając w nim zawartość: suchej masy metodą suszenia według PN [20], związków azotowych ogółem metodą Kjeldahla w aparacie Büchi według PN [20] i tłuszczu metodą Gerbera w tłuszczomierzu van Gulika według PN [20]. Oznaczano także: kwasowość czynną przy użyciu pehametru cyfrowego według PN [20], kwasowość potencjalną metodą Soxhleta-Henkla według PN [20], parametry tekstury: twardość, adhezyjność, sprężystość, spoistość, żujność [18], wykorzystując do pomiaru analizator tekstury TA-XT2 firmy Stable Micro System, wyposażony w komputerowy system rejestracji i przetwarzania danych Texture Expert Version 1.0 oraz profil kwasów tłuszczowych metodą chromatograficzną, jak w przypadku tłuszczu mleka. Tłuszcz ekstrahowano metodą Folcha i wsp. [9].

Wyniki opracowano statystycznie, przy użyciu programu komputerowego Statistica v.7. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji Anova. W celu zweryfikowania istotności różnic między wartościami średnimi zastosowano nowy wielokrotny test rozstępu Duncan.

Wyniki i ich analiza

W tab. 1. przedstawiono średni skład chemiczny i cechy fizyczne mleka owczego pobranego od polskich owiec górskich, mleka krowiego pochodzącego od krów rasy

nizinno-czarno-białej i mleka owczego i krowiego wymieszanego w stosunku 1 : 1. Zawartość suchej masy w mleku wynosząca 17,60 % mieściła się w granicach podawanych w literaturze odnośnie mleka polskich owiec górskich (16,63 % - 18,89 %) [5, 16, 17, 21]. Podobnie średnie zawartości białka i tłuszczu wynoszące w mleku owczym odpowiednio 5,90 i 6,30 % nie odbiegały od wartości podanych w literaturze dla mleka tej rasy owiec. Z wielu badań [5, 16, 17, 21] wynika, że zawartość tłuszczu w mleku polskich owiec górskich waha się od 5,2 9% do 9,69 % a związków azotowych ogółem od 5,3 % do 6,3 %.

Tabela 1

Właściwości mleka przeznaczonego do produkcji bundzu.
Properties of milk for use to produce bundz cheese.

Właściwości mleka Properties of milk	Rodzaj mleka Type of milk					
	owcze ewe's		krowie cow's		owczo-krowie ewe's & cow's	
	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ
Gęstość [g/cm ³] Density	1,033	0,004	1,031	0,004	1,032	0,004
pH	6,60	0,01	6,63	0,02	6,61	0,01
Kwasowość miareczkowa [°SH] Titration acidity	12,70 ^A	0,57	8,13 ^B	0,50	9,86 ^C	0,75
Sucha masa [%] Dry mass	17,60 ^A	0,83	12,10 ^B	0,54	14,90 ^C	0,80
Tłuszcz [%] Fat	6,30 ^A	1,10	3,93 ^B	0,40	5,05 ^A	0,55
Białko [%] Protein	5,90 ^{Aa}	0,70	3,26 ^B	0,48	4,57 ^{Ab}	0,54

Objaśnienia: Explanatory notes:

A, B – stwierdzona statystycznie wysokoistotna różnica między wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami w wierszu ($p \leq 0,01$) / the statistically highly significant difference found between the averages marked using letters in a row ($p \leq 0.01$);

a, b – stwierdzona statystycznie istotna różnica między wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami w wierszu ($p \leq 0,05$) / statistically significant difference found between the averages marked using different letters in a row ($p \leq 0.05$).

Gęstość i pH analizowanego mleka owczego również zawierały się w przedziale oznaczonym w poprzednich pracach. Jedynie średnia wartość kwasowości miareczkowej (12,70 °SH) nieznacznie przekroczyła wartości wcześniej podawane (10,6 - 11,55 °SH) [5, 16, 17, 21].

Zmienność składu mleka owczego podkreślana jest w wielu publikacjach. Mleko owcze może zawierać od 15,42 do 20,9 % suchej masy, od 4,6 do 9,05 % tłuszczu i od 4,75 do 7,2 % białka [2, 6, 7, 13]. Wartość pH mleka owczego wykazuje najmniejszą zmienność spośród wymienianych parametrów i średnio wynosi 6,65, natomiast zakres wahań podawanych w literaturze w przypadku kwasowości miareczkowej jest znacznie szerszy, od 9°SH - 12°SH [7].

Porównując właściwości mleka krowiego określone w niniejszych badaniach z danymi mleka krów rasy nizinnno-czarno-białej, podawanymi przez Barłowską [4], można zaobserwować nieco mniejszą zawartość suchej masy (odpowiednio 12,1 i 12,58 %), tłuszczu (odpowiednio 3,93 i 4,10 %) i białka (3,26 i 3,28 %). Wymieniona autorka [4] podaje porównywalne do uzyskanego w niniejszej pracy pH i niższą kwasowość miareczkową. Z badań Barłowskiej i cytowanych przez nią autorów [4] wynika, że skład chemiczny i cechy fizyczne mleka krowiego wykazują dużą zmienność, która uzależniona jest od wpływu wielu czynników - genetycznych, środowiskowych i fizjologicznych. Spośród ras krów występujących w Polsce dużą zawartością suchej masy w mleku charakteryzuje się rasa krów polska czerwona (13,56 %) [4]. Mleko krów tej rasy, użytkowanej na południu Polski, jest bogate w białko (3,57 %) i tłuszcz (4,56 %) [4]. Mleko krów rasy polskiej czerwonej, zgodnie z wymaganiami związanymi z przyznaniem oscypkowi i bryndzy podhalańskiej Chronionej Nazwy Pochodzenia, może być dodawane przy wyrobie tego sera w ilości 40 % do mleka owczego.

Skład chemiczny i cechy fizykochemiczne mleka mieszanego przyjmują wartości pośrednie między mlekiem owczym i krowim (tab. 1). Jednak, biorąc pod uwagę zmienność właściwości mleka owczego, uwarunkowaną wpływem czynników genetycznych i środowiskowych (rasa, właściwości indywidualne, żywienie, okres laktacji, liczba jagniąt w miocie, wiek maciorki, stan zdrowotny zwierzęcia, a szczególnie wymienia, stres, odstęp między dojami, klimat i temperatura otoczenia) [2, 7, 13] trudno jest na podstawie składu chemicznego i cech fizykochemicznych stwierdzić czy i w jakiej ilości dodano do mleka owczego mleko krowie. Wydaje się, że równoczesne oznaczenie w mleku pH i kwasowości miareczkowej może być w pewnym stopniu wskaźnikiem mieszania mleka dwóch gatunków zwierząt.

W wielu publikacjach podkreślana jest różnica między mlekiem owczym i krowim pod względem składu tłuszczu. Zdaniem Anifantakisa [2] i Haenleina [13] tłuszcz mleka owczego zawiera, w porównaniu z krowim, mniej kwasu stearynowego, oleinowego i linolowego, a więcej kwasu kaprynowego, mirystynowego i laurynowego. Anifantakis [2] podaje, że zawartość kwasu kaprynowego może stanowić podstawę do wykrywania zafałszowania mleka owczego krowim, jeśli jego dodatek jest większy niż 15 do 20 %. Uzyskane wyniki (tab. 2) potwierdzają, że mleko owcze w porównaniu z krowim zawierało więcej kwasów nasyconych krótkołańcuchowych, do laurynowego włącznie. Szczególnie odróżniało się poziomem kwasu kaprynowego, gdyż tłuszcz

mleka owczego zawierał go 10 %, a tłuszcz mleka krowiego 3,9 %. W literaturze podawane są zakresy wahań zawartości tego kwasu w tłuszczu mleka owczego od 5,8 do 9 %, a krowiego od 1,9 do 3,7 % [2]. Mleko owcze analizowane w niniejszej pracy zawierało około trzykrotnie więcej kwasu CLA niż mleko krowie (tab. 2).

Tabela 2

Zawartość kwasów tłuszczowych w mleku przeznaczonym do produkcji bundzu.

Content of fatty acids in milk for use to produce bundz cheese.

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Rodzaj mleka Type of milk					
	owcze ewe's		krowie cow's		owczo-krowie ewe's & cow's	
	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ
C _{4:0} (masłowy) C _{4:0} (butyric)	4,20	0,67	3,93	0,27	3,80	0,02
C _{6:0} (kapronowy) C _{6:0} (caproic)	3,35	0,40	2,80	0,24	2,95	0,14
C _{8:0} (kaprylowy) (caprylic)	3,05 ^a	0,63	1,80 ^b	0,20	2,55	0,22
C _{10:0} (kaprynowy) C _{8:0} (capric)	10,00 ^{Aa}	1,10	3,90 ^{AB}	0,39	7,36 ^{Ba}	0,35
C _{12:0} (laurynowy) C _{12:0} (lauric)	5,27 ^a	0,65	4,20 ^a	0,41	4,76	0,17
C _{14:0} (mirystynowy) C _{14:0} (miristic)	12,22	1,06	12,28	0,98	12,18	0,23
C _{16:0} (palmitynowy) C _{16:0} (palmitic)	25,01 ^{Aa}	0,43	29,80 ^{Ab}	1,43	27,04 ^{ab}	0,88
C _{18:0} (stearynowy) C _{18:0} (stearic)	7,82 ^a	0,50	9,45 ^a	1,22	8,68	0,30
C _{18:1} (oleinowy) C _{18:1} (oleic)	15,50 ^A	1,24	20,38 ^{Aa}	1,97	17,47 ^a	0,52
C _{18:2} (linolowy) C _{18:2} (linoleic)	1,70 ^A	0,22	2,12 ^A	0,04	1,86	0,07
C _{18:3} (linolenowy) C _{18:3} (liolenic)	0,58 ^A	0,02	0,38 ^{AB}	0,04	0,52 ^B	0,06
CLA	1,40 ^{Aa}	0,26	0,54 ^{AB}	0,03	1,00 ^{Ba}	0,16

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

Zawartość kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka mieszanego przyjęła wartości pośrednie między zawartością kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka owczego i krowiego (tab. 2). Analiza statystyczna potwierdziła istotność różnic w składzie

tłuszczu mleka owczego krowiego i mieszanego w przypadku kwasu kaprynowego, palmitynowego, oleinowego, linolowego, sprzężonego kwasu linolowego CLA i lino-lenowego (tab. 2).

W tab. 3. przedstawiono wyniki analizy bundzu uzyskanego z mleka owczego, krowiego i mieszanego. Badania wykazały dużą zmienność składu chemicznego i cech fizykochemicznych zarówno bundzu z mleka owczego, krowiego, jak i mieszanego, co prawdopodobnie wpłynęło na wynik analizy wariancji, w której nie wykazano statystycznie istotnych różnic między porównywanymi wartościami średnimi badanych parametrów w trzech rodzajach bundzu.

Tabela 3

Właściwości bundzu.
Properties of bundz cheese

Właściwości bundzu Properties of bundz cheese	Bundz z mleka Bundz cheese made of					
	owczego ewe's milk		krowiego cow's milk		owczo-krowiego ewe's & cow's milk	
	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ
Sucha masa [%] Dry mass	44,52	1,86	44,8	1,65	43,66	1,45
pH	6,44	0,12	6,35	0,36	6,40	0,42
Kwasowość miareczkowa [°SH] Titration acidity	31,32	3,21	31,33	11,01	34,00	13,85
Tłuszcz [%] Fat	20,66	1,15	23,33	2,51	21,33	1,52
Białko [%] Protein	20,79	2,75	18,71	2,36	19,50	2,28
Twardość [KG] Hardness	2,76	0,55	2,21	0,24	2,58	0,61
Sprężystość [TPA] Springiness	0,84	0,01	0,83	0,01	0,84	0,02
Spoistość [TPA] Cohesiveness	0,35	0,02	0,47	0,05	0,45	0,04
Żujność [KG] Chewiness	0,82	0,11	0,89	0,01	0,98	0,18

Wcześniej prowadzone badania bundzu, będącego w obrocie towarowym w Zakopanem, wykazały, że zawiera on średnio 40 % suchej masy, 24 % tłuszczu i 18 % białka, natomiast bundz wyprodukowany w warunkach laboratoryjnych z mleka owiec

różnych ras zawiera 44,5 - 45,93 % suchej masy, 18,8 - 21,8 % tłuszczu i 16 - 17, 1% białka [5, 6]. Brak statystycznie istotnych różnic między serami uzyskanymi z różnego rodzaju mleka może wskazywać na duży wpływ stosowanego procesu technologicznego na ich właściwości.

Wyniki poprzednich badań oscypków z mleka owczego, krowiego i mieszaniny owczo-krowiego wykazały, że pod względem składu chemicznego oscypki te nie różniły się statystycznie istotnie między sobą [22]. Z badań tych wynikało również, że oscypki z mleka owczego charakteryzowały się wyższą twardością, żujnością i sprężystością w porównaniu z oscypkami z mleka krowiego i mieszanego, zostały również wyżej ocenione pod względem sensorycznym [22].

Tabela 4

Zawartość kwasów tłuszczowych w tłuszczu bundzu.

Content of fatty acids in fat contained in the bundz cheese.

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Rodzaj mleka Type of milk					
	owcze ewe's		krowie cow's		owczo-krowie ewe's & cow's	
	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ
C _{4:0} (masłowy) C _{4:0} (butyric)	4,03	0,10	3,75	0,15	3,71	0,16
C _{6:0} (kapronowy) C _{6:0} (caproic)	3,43 ^A	0,22	2,63 ^A	0,15	2,92	0,08
C _{8:0} (kaprylowy) (caprylic)	3,41 ^{Aa}	0,29	1,67 ^{Ab}	0,10	2,50 ^{ab}	0,08
C _{10:0} (kaprynowy) C _{8:0} (capric)	10,55 ^{Aa}	1,02	3,73 ^{AB}	0,25	7,45 ^{Ba}	0,35
C _{12:0} (laurynowy) C _{12:0} (lauric)	5,51 ^a	0,50	3,92 ^a	0,26	4,62	0,19
C _{14:0} (mirystynowy) C _{14:0} (miristic)	12,55	0,44	11,55	0,60	11,86	0,29
C _{16:0} (palmitynowy) C _{16:0} (palmitic)	25,46 ^A	0,43	29,15 ^{Aa}	0,90	26,72 ^a	0,47
C _{18:0} (stearynowy) C _{18:0} (stearic)	7,19 ^a	0,69	10,27 ^a	0,93	8,97	0,22
C _{18:1} (oleinowy) C _{18:1} (oleic)	13,81 ^A	0,20	22,32 ^A	1,04	18,10 ^A	0,76
C _{18:2} (linolowy) C _{18:2} (linoleic)	1,44 ^A	0,04	2,25 ^A	0,03	1,86 ^A	0,07
C _{18:3} (linolenowy) C _{18:3} (liolenic)	0,51 ^A	0,01	0,36 ^{AB}	0,01	0,51 ^B	0,01
CLA	1,13 ^A	0,09	0,58 ^{AB}	0,04	1,16 ^B	0,04

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

Analiza składu tłuszczu bundzów wyprodukowanych z mleka owczego, krowiego i mieszanego (tab. 4) wykazała, podobnie jak w przypadku mleka, że tłuszcz bundzu wyprodukowanego z mleka owczego zawierał najwięcej krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, szczególnie kaprynowego, natomiast tłuszcz bundzu z mleka krowiego, charakteryzował się najmniejszą zawartością tych kwasów.

Zawartość kwasów palmitynowego, oleinowego, stearynowego i linolowego w tłuszczu serów z mleka owczego była mniejsza niż w tłuszczu bundzu z mleka mieszanego, a szczególnie z mleka krowiego. Zawartość kwasu CLA i linolenowego była zbliżona w tłuszczu bundzu z mleka owczego i mieszanego. Analiza wariancji wykazała istnienie statystycznie istotnych różnic między średnimi zawartościami kwasów kaprynowego, palmitynowego, oleinowego, linolowego w tłuszczu z mleka owczego, krowiego i mieszanego. Natomiast tłuszcz bundzu z mleka krowiego zawierał statystycznie istotnie mniej kwasu linolenowego oraz sprzężonego kwasu linolowego w porównaniu z tłuszczem pozostałych serów (CLA).

Wnioski

1. Zmienność składu chemicznego mleka owczego i krowiego ogranicza możliwości wykrycia dodatku mleka krowiego do owczego w przypadku braku możliwości oceny składu mleka wyjściowego. Wskaźnikami orientacyjnymi wykrywania dodatku mleka krowiego do owczego mogą być równocześnie oznaczane: kwasowość potencjalna (pH) i kwasowość miareczkowa mleka.
2. Podstawowy skład chemiczny i tekstura serów (bundzu) z mleka owczego, krowiego i mieszanego nie różnią się statystycznie istotnie, co uniemożliwia stwierdzenie dodatku mleka krowiego do owczego.
3. Skład tłuszczu mleka i bundzu owczego statystycznie istotnie różni się od składu tłuszczu mleka i bundzu krowiego, gdyż zawiera on więcej kwasów krótkołańcuchowych, a szczególnie kaprynowego, a mniej długołańcuchowych, z wyjątkiem kwasu linolowego CLA. Pośrednie zawartości tych kwasów stwierdzono w tłuszczu mleka i bundzu mieszanego.
4. Oznaczanie profilu kwasów tłuszczowych, a szczególnie zawartości kwasu kaprynowego wydaje się pomocne w wykrywaniu zafałszowania produktów z mleka owczego mlekiem krowim.

Literatura

- [1] Anderson K., Kjaergaard J.: Lipase activity in milk and some dairy products. Statens Forsgmejeri Hillard 136 Bereitung 1962.
- [2] Anifantakis E.M.: Comparison of the physico-chemical properties of ewe's and cow's milk. Doc.202 FIL, 1986, 42-53.
- [3] AOAC Official Methods of Analysis Dairy Products. 1990.


- [4] Barłowska J.B.: Wartość odżywcza i przydatność technologiczna mleka krów 7 ras użytkowanych w Polsce. Rozprawy Naukowe, Wydawnictwo AR w Lublinie, 2007, ss. 1-112.
- [5] Bonczar G.: Jakość oszczypków z uwzględnieniem oceny mleka owczego i żętycy. Mat. Szkol. Owca Plus, Wyd. AR w Krakowie, Instytut Botaniki w Krakowie, 2006, ss. 18-22.
- [6] Bonczar G., Ciuryk S., Frajdenberg I., Pastuszka E.: Ocena przydatności mleka różnych ras owiec do produkcji bundzu. Zesz. Nauk. AR w Krakowie nr 342, Technologia Żywności, 1998, **10**, 5-14.
- [7] Bonczar G., Paciorek A.: Właściwości mleka owczego. Zesz. Nauk. AR w Krakowie nr 360, Technologia Żywności, 1999, **11**, 37-48.
- [8] Chaluard J., Cagliostro G., Flechet J.: Duodenal rapeseed oil infision in early and midlactation cows. J. Dairy Sci., 1991, **74**, 58-62.
- [9] Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem. 1957, **226**, 497-509.
- [10] Fox P.F.: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, vol.1. General Aspects, Elsevier Applied Science, London 1987.
- [11] Fox P.F.: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, vol.2. Major Cheese Groups, Elsevier Applied Science, London 1987.
- [12] Gąsiorowski M.: O produktach tradycyjnych i regionalnych. Możliwości a polskie realia. Fundacja Fundusz Współpracy, Warszawa 2005.
- [13] Haenlein G.F.W.: Nutritional value of dairy products of ewes and goats milk. Shhep Dairy News, 1996, **13**, **1**, 10-16.
- [14] Instrukcje technologiczne do produkcji artykułów mleczarskich.. Oficyna Wyd. Hoża, Warszawa 1995.
- [15] Litopoulou-Tsanetaki E., Manolkidis K.: Pressed cooked cheese. Bull. IDF, 1986, **202**, 110-117.
- [16] Molik E., Murawski M., Bonczar G., Pustkowiak H.: Skład chemiczny mleka polskich owiec górskich, owiec olkuskich i ich mieszańców. W: Zdrowie i środowisko jako czynniki warunkujące efektywność produkcji owczarskiej – pod red. E. Wierchoś. Wyd. AR w Krakowie, Instytut Botaniki w Krakowie, 2007, ss. 9-16.
- [17] Paciorek A., Bonczar G.: Jakość oszczypków z uwzględnieniem oceny mleka owczego i żętycy. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2001 (**26**), 103-116.
- [18] PN-ISO 11036:1999. Analiza sensoryczna. Metodologia. Profilowanie tekstury. Metody badań
- [19] PN-A-86122:1968. Mleko. Metody badań.
- [20] PN-73/A-86232. Mleko i przetwory mleczarskie. Sery. Metody badań.
- [21] Reguła A., Bonczar G.: Proteolytic activity of different starter cultures in ewe's milk. Milchwissenschaft 2005, **60** (**3**), 267-270.
- [22] Wszolek M., Bonczar G.: Właściwości oszczypków z mleka owczego, krowiego i mieszaniny mleka krowio-owczego. Przem. Spoż., 2002, **9**, 14-19.

EFFECT OF MIXING OF EWE'S AND COW'S MILK ON BUNDZ CHEESE PROPERTIES

Summary

The first objective of the research was to determine the differences in the chemical composition and physical characteristics of ewe's, cow's, and ewe-cow's mixed milks, as well as of cheeses made thereof. The second objective was to find out whether or not it was possible to decide, based on the physical-chemical analysis of cheese, to possibly add cow's milk to ewe's milk.

The experimental materials were milks of the Polish mountain sheep, black-white lowland cows, and a mixture (1: 1 ratio) of those milk types. The milks studied were analyzed and the following was determined: density, titration acidity, pH, as well as content of: total solids, total protein, and total fats. The profile of fatty acids was also performed. The three types of milk as named above were then used to make three types of bundz cheeses: ewe's, cow's cheese, and mixed milk bundz cheeses. The bundz cheeses manufactured were analysed and content levels of the following parameters were determined: total solids, total fats, total proteins, pH, and titration acidity. Parameters of the texture and a profile of fatty acids were analysed, too. It was found that the basic indicators of mixing ewe's milk with cow's milk could be simultaneous analyses of pH and titration acidity and, especially, the analysis of fat composition involving the content of capric acid. Based on the analysis of basic chemical composition and texture of the final bundz cheese product, it is impossible to detect whether or not cow's milk was added to ewe's milk. For this purpose it might be helpful to make a profile of fatty acids contained in the fat of cheese, in particular to determine the content of capric acid.

Key words: ewe's milk, cow's milk, mixed milk, bundz cheese, chemical composition, texture, fatty acids 

IZABELA CICHOCKA, TADEUSZ GRABIŃSKI

PSYCHOGRAFICZNO-MOTYWACYJNA CHARAKTERYSTYKA POLSKIEGO KONSUMENTA ŻYWNOŚCI EKOLOGICZNEJ

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań, których celem było określenie – wśród polskich nabywców produktów żywnościowych – motywacji kształtujących ekokonsumpcję oraz ustalenie ich relacji z cechami psychograficznymi, kształtującymi zachowania żywieniowe. Badania wykonano metodą bezpośredniego wywiadu na terenie Polski południowo-wschodniej. Wśród deklarujących ekokonsumpcję połowę stanowili konsumenci, którzy czynią to z pobudek zdrowotnych. Typ konsumenta dojrzałego pod względem zachowań żywieniowych dominuje w dwóch grupach ekokonsumentów: o motywacji zdrowotnej oraz futurystycznej. Ekologiczną motywację ekokonsumpcji reprezentują dwa typy konsumenta: sceptyk i tradycjonalista. Wśród ekokonsumentów motywowanych materialnie i jakościowo przeważają osoby, które zaliczono do „niefrasobliwego” stylu zachowań.

Słowa kluczowe: żywność ekologiczna, cechy psychograficzne, motywy ekokonsumpcji

Wprowadzenie

Rynek żywności produkowanej przez gospodarstwa rolne posiadające atest gospodarstwa ekologicznego jest nowym segmentem rynku produktów spożywczych nie tylko w Polsce, ale i w innych krajach europejskich i pozaeuropejskich. Dopiero bowiem w latach 80. ubiegłego wieku zaobserwowano znaczącą podaż produktów wytworzonych przez ekorolnictwo. Instytucjonalne i prawne sformalizowanie zasad produkcji rolnej metodami ekologicznymi, międzynarodowa współpraca w tym zakresie, pomoc finansowa instytucji rządowych w wielu krajach i wytworzenie popytu przez konsumentów złożyły się na to, że w latach 90. XX w., szczególnie w Europie, nastąpił dynamiczny rozwój ekorolnictwa. Wielu autorów przewiduje, że rozwój ten będzie kontynuowany w XXI w. i już w niedalekiej przyszłości rynek produktów spożywczych znacznie zwiększy absorpcję żywności ekologicznej.

Dr inż. I. Cichocka, Katedra Metod Ilościowych w Ekonomii, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie, ul. Sucharskiego 2, 35-225 Rzeszów, prof. dr hab. T. Grabiński, Katedra Finansów, Uniwersytet Ekonomiczny Krakowie, ul. Rakowicka 27, 31-510 Kraków

Autorzy licznych opracowań na temat polskiego rynku ekożywności wskazują na istnienie szeregu barier i ograniczeń wzrostu popytu na te produkty [1, 11, 16, 24, 27]. Ich zdaniem najistotniejszym czynnikiem ograniczającym popyt jest zbyt wysoka cena żywności ekologicznej w porównaniu z żywnością konwencjonalną. W Polsce ceny żywności ekologicznej są przeciętnie o 20 - 30 % wyższe niż ceny żywności konwencjonalnej, co – ze względu na niskie dochody – nie jest do zaakceptowania przez 75 % społeczeństwa [10, 27].

Akceptowaną granicą jest poziom cen co najwyżej o 10 % wyższych [24]. Z badań wykonanych w krajach Europy Zachodniej i w USA wynika natomiast, że stosunkowo duży odsetek ludności jest przygotowany do płacenia wyższych cen za żywność ekologiczną – w granicach 10 - 30 %, przy czym górną granicę wyznacza cena nie wyższa niż 50 %. Ceny żywności ekologicznej na rynkach zachodnioeuropejskich kształtują się na poziomie średnio o 10 - 20 % wyższym w porównaniu z produktami rolnictwa konwencjonalnego [16, 29]. Drugim bardzo ważnym elementem ograniczającym popyt jest ubogi asortyment ekoproduktów oferowanych na rynku. Nabywcy nie są z reguły zadowoleni z oferty handlowej ekosklepów. Rolnicy oferują głównie towary nieprzetworzone, a coraz więcej konsumentów poszukuje żywności gotowej do spożycia. Obecnie w Polsce pracuje 207 przetwórní, oferujących atestowane produkty przetwórstwa zbożowo-młynarskiego, przetwory mleczne, przetwory owocowe i wyroby piekarnicze [16].

Brak jest także stabilnych struktur dystrybucji ekoproduktów. Koncentracja podaży występuje zwykle w tych rejonach, gdzie występują trudności z płynnym zbywaniem żywności ekologicznej ze względu na oddalenie regionów o skoncentrowanym potencjalnym popycie. Dodatkowym elementem stwarzającym problemy jest dość duża sezonowość podaży ekoproduktów [11, 24, 27].

Warunkiem wzrostu popytu jest dostęp do informacji o produktach oraz efektywność oddziaływania promocji i reklamy jako instrumentów marketingowych. W Polsce, jak dotąd, nie opracowano koncepcji dotarcia produktu ekologicznego do konsumenta [17]. Jest to element niezbędny, bowiem motywacje ekologiczne i zdrowotne konsumentów nie są jeszcze na tyle silne, by mogły być podstawą utworzenia stabilnego segmentu nabywców [7, 15]. Należy przy tym pamiętać, że ekożywność to alternatywne produkty „zawierane”, bowiem ich promocja powinna być skierowana na cechy „przyjmowane na wiarę” (zdrowotność, bezpieczeństwo spożywania). Dlatego wszelkie kampanie promocyjne powinny mieć podstawę w autorytecie ich autorów [28]. Wreszcie – każdy konsument, kupując produkt nowy, podejmuje decyzję eksten-sywną, a nie zwyczajową lub racjonalną, dlatego więc potrzebuje relatywnie więcej informacji, by móc ocenić produkt i następstwa jego nabycia oraz więcej czasu, by podjąć decyzję [13].

Trudności w realizacji podaży produktów ekologicznych są też rezultatem niskiej świadomości ekologicznej polskiego społeczeństwa [1]. M. Klimczyk-Bryk [13] wskazuje na te przyczyny. Są to: postrzeganie własnego indywidualnego „wkładu” w niszczenie środowiska jako marginalnego, uzależnianie własnych zachowań od zachowań innych, nastawienie społecznego systemu wartości na demonstracyjną konsumpcję i przyjemność, dominacja w polskim systemie ekonomicznym ideologii wzrostu ilościowego oraz podnoszenia materialnego standardu życia.

Polski konsument jest też w większości konserwatystą żywieniowym i jako taki wykazuje znaczną niechęć do wszelkich zmian ukształtowanego modelu konsumpcji. Badania ośrodka CBOS z r. 1997 wykazały, że 70 % mieszkańców Polski nie ma zamiaru zmieniać swoich przyzwyczajzeń i nawyków żywieniowych [28].

W początkowym stadium są badania nad profilem ekokonsumenta i określeniem tych segmentów rynku (po stronie popytowej), które mają na tyle silne motywacje, by zaakceptować ekologiczny styl życia. Jest to bowiem główny warunek powstania realnego popytu na ekożywność.

W pracy przedstawiono wyniki badań, których celem było wyodrębnienie – wśród polskich nabywców produktów żywnościowych – motywacji kształtujących ekokonsumpcję oraz ustalenie ich relacji z cechami psychograficznymi, kształtującymi z jednej strony styl życia, a z drugiej – zachowania żywieniowe.

Material i metody badań

Badania wykonano metodą bezpośredniego wywiadu. Ankieta kierowana do respondentów składała się z dwóch części. W I części zawierała pytania o spożywanie żywności ekologicznej, o pochodzenie tej żywności, miejsca jej nabywania, motywacje ekokonsumpcji itp. W II części poproszono respondentów o ustosunkowanie się do sformułowań charakteryzujących cechy psychograficzne.

Wytypowano te cechy psychograficzne, które – według literatury przedmiotu – są najsilniej związane z ogólnie pojętymi zachowaniami żywieniowymi i opisują:

- osobowość – podatność na wpływy marketingowe i wiedza żywieniowa,
- przekonania – troska o własne zdrowie i poczucie zdrowotności własnej diety,
- zdolność dostrzegania ryzyka – poczucie zagrożenia ze strony żywności i poczucie zagrożenia ze strony sposobu odżywiania się,
- innowacyjność – neofobia żywieniowa.

Każdą z tych cech określano na 4- lub 5-punktowej skali Likerta.

Podatność na wpływy marketingowe wyznaczano poprzez określenie stosunku respondenta do opracowanych przez autorów stwierdzeń odnoszących się do najczęściej stosowanych oddziaływań promocyjnych oraz przywiązania konsumenta do marki i sklepu.

Określenia pozwalające ustalić poziom wiedzy żywieniowej przygotowano na podstawie wytycznych Instytutu Żywności i Żywienia [9]

Troska o własne zdrowie oraz dbałość o zdrowotność stosowanej diety określa stosunek respondenta do własnego zdrowia. Cechy te określono adaptując i modyfikując stwierdzenia stosowane w badaniach m.in. przez Schiffersteina i wsp. [25] oraz Roininen i wsp. [23] z wykorzystaniem *Health and Taste Attitude Scales*.

Poczucie zagrożenia wynikającego z niewłaściwej jakości produktu żywnościowego (skażenia chemiczne i mikrobiologiczne, genetyczne modyfikacje, BSE) oraz zagrożenia związanego z niewłaściwym sposobem odżywiania (niedobór ważnych składników lub nadmiar składników szkodliwych w diecie, niewłaściwy sposób przygotowywania posiłków) określono na podstawie danych literaturowych [2, 3, 8, 18] na temat tych zagrożeń, które konsumenci najczęściej wymieniają w swych wypowiedziach.

Neofobia żywieniowa jest rozumiana jako niechęć do spożywania nowych, nieznanymi produktami żywnościowymi. Stwierdzenia charakteryzujące neofobię opracowano na podstawie *Food Neophobia Scale*, zaproponowanej przez Pliner i Hobden [21].

Część III formularza ankiety zawierała pytania dotyczące wybranych cech deskryptywnych, opisujących profil socjoekonomiczny i demograficzny respondenta, tj. jego płeć, wiek, poziom wykształcenia i miejsce zamieszkania.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono z wykorzystaniem procedur programu *Statistica 8.0*.

Ankietyzację przeprowadzono na terenie 13 polskich miast. Objęto nią 717 osób, z których 531 zadeklarowało ekokonsumpcję. Dalsza analiza wyników dotyczy właśnie tej grupy respondentów. Wśród respondentów było więcej kobiet niż mężczyzn (54,5 % wobec 45,5 %). Najmłodszy respondenci, w wieku do 25 lat, stanowili 30,4 %. Ponad jedna czwarta (27,8 %) ankietowanych to osoby w wieku 26 - 40 lat. Jedną trzecią (32,2 %) ankietowanych stanowiły osoby w wieku 41 - 55 lat. Wśród respondentów najmniej było osób w wieku powyżej 55 lat – stanowili oni 9,6 % badanej populacji. Ponad połowa badanej populacji (54,5 %) legitymowała się wykształceniem średnim, wykształcenie wyższe miało 31,8 % badanych, natomiast wykształcenie podstawowe lub zasadnicze zawodowe – 13,7% respondentów. Co piąty ankietowany mieszkał na terenach wiejskich (20,5 %). Prawie tyle samo respondentów (19,5 %) wywodziło się z miast o liczbie mieszkańców nie przekraczającej 20 tys. osób. Miejscem zamieszkania największej części respondentów (32,2 %) były miasta o liczbie mieszkańców od 20 do 100 tys. osób. Z miast o liczbie mieszkańców powyżej 100 tys. pochodziło 27,8 % respondentów.

Wyniki badań i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono udział tych grup ankietowanych, które różniły się deklarowaną motywacją ekokonsumpcji.

Tabela 1

Motywy ekokonsumpcji.

Motives for eco-consumption.

Motyw / Motive	Liczebność The number of respondents	Udział [%] Percentage rate
Materialno-jakościowy Economic and qualitative	36	6,78
Zdrowotny / Health	271	51,04
Ekologiczny / Ecological	101	19,02
Futurystyczny / Futuristic	96	18,08
Inny / Other	12	2,26
Brak odpowiedzi / No response	15	2,82

Połowa ankietowanych to osoby, które deklarowały ekokonsumpcję ze względów zdrowotnych (troska o zdrowie własne i najbliższej rodziny – motyw zdrowotny), około 20 % stanowiły osoby spożywające ekoprodukty głównie z tego powodu, że rolnictwo ekologiczne jest działalnością bezpieczną dla środowiska naturalnego człowieka (motyw ekologiczny). Ponad 18 % respondentów zainteresowana było ekokonsumpcją ze względu na zachowanie czystego środowiska naturalnego dla przyszłych pokoleń (motyw futurystyczny).

Według Runowskiego [23] podstawowym motywem popytu na ekożywność jest troska o zdrowie własne i rodziny, natomiast w mniejszym stopniu – walory smakowe tej żywności i troska o stan środowiska naturalnego. Własne zdrowie i zdrowie rodziny to także główny powód spożywania żywności ekologicznej dla mieszkańców Polski wschodniej [6]. Mieszkańcy Warszawy nabywający żywność ekologiczną w sklepach specjalistycznych wśród przyczyn swych decyzji najczęściej wymieniali względy zdrowotne (50 %), na drugim miejscu znalazła się „chemofobia”, a na dalszych – walory jakościowe (smakowe) tej żywności oraz styl życia (np. wegetarianizm) [16]. Schifferstein i Oude Ophuis [25] oraz Magnusson i wsp. [19] jako najważniejsze przyczyny ekokonsumpcji wymieniają: czynnik zdrowotny i czynnik ekologiczny. Mieszkańcy Australii również najczęściej wymieniali czynnik zdrowotny lub ekologiczny; dla wielu z nich argumentem przemawiającym za wyborem ekożywności były także lepsze jej walory jakościowe [20].

Jeśli dokonać porównania tej motywacji z teorią struktury psychologicznej wartości uznawanych przez człowieka, wyprowadzonej ze zbioru uniwersalnych potrzeb

ludzkich [26], to należy się zgodzić z tym, że ekokonsumpcja może wiązać się z jedną lub kilkoma spośród siedmiu dziedzin motywacyjnych, wyróżnionych przez autorów tej teorii. Bezpośrednimi uwarunkowaniami może bowiem być: *prospoleczność*, czyli czynna ochrona poziomu życia innych, *ścisły konformizm*, rozumiany jako powstrzymanie się od działań mogących zaszkodzić innym, *bezpieczeństwo* i stabilność grup, z którymi konsument się identyfikuje oraz bezpieczeństwo jego samego, wreszcie – *przyjemność* jako zaspokojenie emocjonalne i zmysłowe. Pośrednio ekokonsumpcja może być motywowana dziedziną nazwaną *samodzielnością*, tj. niezależnym myśleniem i działaniem.

Celem udzielenia odpowiedzi na pytanie, czy motywy ekokonsumpcji są związane ze zmiennymi psychograficznymi, wykonano jednoczynnikową analizę wariancyjną. Hipotezę zerową weryfikowano testem F-Snedecora ($\alpha = 0,05$). Analizę *post-hoc* przeprowadzono testem NIR Tukeya. Rezultaty analizy wariancyjnej przedstawiono w tab. 2.

W odniesieniu do różnych motywacji ekokonsumpcji analiza wariancyjna wykazała, że przyjęte w badaniach cztery typy różnią się statystycznie istotnie tylko dwiema cechami psychograficznymi: przekonaniem o stosowaniu w żywieniu zdrowej diety oraz poczuciem zagrożeń zdrowotnych ze strony produktów żywnościowych.

Ekokonsumenci, którzy zadeklarowali materialno-jakościowy motyw spożywania żywności ekologicznej, charakteryzują się najniższym poziomem tych dwóch mierników, a ekokonsumenci deklarujący motywację „futurystyczną” – poziomem najwyższym. Należy także zauważyć, że w przypadku pozostałych mierników psychograficznych występują zauważalne (choć statystycznie nieistotne) różnice pomiędzy wartościami średniej arytmetycznej. Segment ekokonsumenów z motywacją materialno-jakościową charakteryzuje się najniższym poziomem neofobii żywieniowej, znajomości zasad racjonalnego żywienia oraz poczucia zagrożeń ze strony nieprawidłowego odżywiania się. Ekokonsumenci kierujący się motywem „futurystycznym” odznaczają się najwyższym poziomem znajomości zasad żywienia oraz poczucia zagrożeń ze strony niewłaściwego odżywiania się. Segment ekokonsumenów motywowanych „ekologicznie” charakteryzuje się najwyższą neofobią żywieniową.

Na podstawie powyższych obserwacji można dokonać następującej typologii zachowań polskiego konsumenta na rynku żywności ekologicznej:

Typ I – ekokonsumpcja z przyczyn materialno-jakościowych; charakterystyka psychograficzna: dyletantyzm żywieniowy, brak troski o własne zdrowie;

Typ II – ekokonsumpcja z przyczyn zdrowotnych; charakterystyka psychograficzna: wiedza na temat żywienia, troska o własne zdrowie.

Typ III – ekokonsumpcja z powodów ekologicznych; charakterystyka psychograficzna: neofobia żywieniowa, wiedza na temat żywienia, troska o zdrowie.

Typ IV – ekokonsumpcja z przyczyn futurystycznych; charakterystyka psychograficzna: wiedza na temat żywienia, troska o zdrowie.

Tabela 2

Zróznicowanie cech psychograficznych w zależności od motywu ekokonsumpcji (wyniki analizy wariancyjnej).

Diversification of psychographic characteristics depending on the motives for eco-consumption (ANOVA results).

Cecha psychograficzna Psychographic characteristic	Motywy ekokonsumpcji / Motives for eco-consumption				Wartość F F value
	materialno-jakościowy economic and qualitative	zdrowotny health	ekologiczny ecological	futurystyczny futuristic	
Wartość średniej arytmetycznej / Value of arithmetic mean					
Podatność na wpływy marketingowe Susceptibility to marketing instruments/impacts	15,85	15,66	15,22	15,17	0,956
Wiedza żywieniowa Knowledge of nutrition	31,58	31,90	32,29	32,77	1,225
Troska o własne zdrowie Concern for self-health	39,71	39,31	39,37	39,92	0,365
Poczucie zdrowotności diety Sense of healthy diet	18,26a	19,13ab	18,99ab	19,66b	3,820*
Poczucie zagrożenia ze strony produktu Sense of possible risk involved in a product	17,96a	19,04ab	18,96ab	19,92b	3,348*
Poczucie zagrożenia ze strony żywienia Sense of possible risk involved in diet	16,35	16,92	17,07	17,75	1,851
Neofobia żywieniowa Food neophobia	25,38	26,42	27,41	26,82	1,220

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Symbol * oznacza statystycznie istotną wartość testu F przy poziomie $\alpha=0,05$ / Symbol * represents a statistically significant F value at a significance level of 0.05;

Jednakowy symbol literowy przy wartościach średniej arytmetycznej oznacza kwalifikację do jednorodnej grupy na podstawie analizy post-hoc / The same letters at the values of arithmetic mean denote the classification, based on post-hoc analysis, to a uniform group.

Dojrzały typ zachowań żywieniowych dominuje wśród konsumentów, którzy deklarują spożywanie ekożywności z dwóch powodów: zdrowotnego i futurystycznego. Wykonana analiza wskazuje na dwie istotne stymulujące cechy psychograficzne – przekonanie o stosowaniu zdrowej diety i troska o własne zdrowie.

Charakterystyczną cechą grupy osób, dla których najważniejszym motywem podjęcia ekokonsumpcji jest motyw ekologiczny, jest ich neofobia, ale także wiedza na temat zasad odżywiania się. Są to więc, wg typologii zachowań żywieniowych, sceptycy i tradycjoniści.

Ostatni ze wskazanych motywów ekokonsumpcji – materialno-jakościowy – występuje w grupie osób, które odznaczają się niskim poziomem wiedzy na temat żywienia oraz nie wykazują troski o własne zdrowie. Cechą stymulującą wydaje się być też brak poczucia zagrożenia ze strony produktów żywnościowych. Należy więc przypuszczać, że w mniemaniu tej grupy konsumentów wyższa jakość ekożywności ogranicza się do niższego – w porównaniu z żywnością konwencjonalną – stopnia zagrożenia dla zdrowia. Dominującym typem zachowań żywieniowych w tej grupie jest więc typ niefrasobliwego konsumenta.

W literaturze z okresu ostatnich kilkunastu lat spotkać można wiele różnych propozycji segmentacji (typologii) konsumentów na rynku ekożywności. Najczęściej cytowaną segmentacją, która bazuje na stopniu zaangażowania konsumentów w problemy ekologiczne, jest segmentacja opracowana w 1990 r. przez Roper Organization. Na podstawie m.in. kryteriów psychograficznych zidentyfikowano 5 grup konsumentów [12]:

- *True-blue Greens* – wrażliwi na sprawy związane z ochroną środowiska, z mocno ukształtowaną świadomością proekologiczną;
- *Greenback Greens* – swoją postawę proekologiczną manifestują głównie poprzez skłonność do płacenia wyższych cen na ekoprodukty;
- *Sprouts* – o średnim poziomie zainteresowania sprawami ekologii i o przeciętnych zachowaniach ekologicznych;
- *Grouzers* i *Basic Browns* – nieprzejawiający zainteresowania ochroną środowiska i niepodejmujący zachowań proekologicznych. Stanowią oni 52 % społeczeństwa amerykańskiego.

Badania wykonane w pierwszej połowie lat 90. XX w. przez Roddy'ego i wsp. [22] wykazały, że w Irlandii występuje 5 grup ekokonsumentów: „*organic purists*”, „*organic conditionals*”, „*half-hearters*”, „*cost-conscious*” i „*worriers*”.

Daguet [5] wyróżnia 4 typy ekokonsumentów francuskich:

- bio-aktywistów, których działanie wynika z pobudek dotyczących zdrowia i środowiska; są to osoby z tzw. sfer wyższych, w średnim wieku. Pochodzenie produktu z rolnictwa ekologicznego jest dla nich najważniejszą i główną jego charakterystyką;
- bio-tradycjonalistów, dla których głównym kryterium oceny są właściwości smakowe, tradycja i „korzenie” produktu. Należą najczęściej do grupy klientów sezonowych, są mieszkańcami większych miast, raczej w wieku starszym. Przedrostek

- „bio” stanowi dla nich wartość dodatkową, jest zaletą, gdyż kojarzy się z „dawnymi dobrymi czasami”;
- bio-dietetycy, szukający produktów para-medycznych, o określonych właściwościach leczniczych; „bio” ma dla nich znaczenie, gdyż wzmacnia terapeutyczne zalety ekoprodktu; reszta jest drugorzędna;
 - bio-nowatorzy, wybierający produkty głównie na podstawie smaku i formy, ale także wyrażający troskę o środowisko; przeważają w tej grupie osoby młode. „Bio” stanowi dla nich wartość konkurencyjną, brana jest pod uwagę tylko wtedy, gdy produkt ma już ustaloną markę i jest odpowiednio oznakowany (co daje gwarancję jakości).

Innego podziału konsumentów żywności ekologicznej, mieszkańców Hong-Kongu, dokonał na podstawie wyników analizy czynnikowej Li Ling-ye [14]. Segmenty te nazwał on: „*collectivist orientation*”, „*ecological affect*”, „*ecological knowledge*” i „*ecological verbal commitment*”.

Analiza wyników badań wykonanych wśród mieszkańców Sycylii w 2001 roku pozwoliła autorom na identyfikację czterech homogenicznych grup konsumentów: „*health conscious*”, „*pioneer*”, „*pragmatist*” i „*nostalgic*” [4].

Również polscy autorzy przedstawiają swoje propozycje. Klimczyk-Bryk [12] pisząc o tzw. „zielonym konsumencie” zwraca uwagę na to, że jest on zróżnicowany ze względu na motyw, jakimi się kieruje przy wyborze i zakupie produktów. Autorka ta wyróżnia:

- konsumentów prezentujących zdrowy rozsądek, którzy kupują produkty na podstawie rzetelnej wiedzy i wiarygodnej informacji, a ich zachowania proekologiczne wynikają z chęci zdobycia prestiżu;
- konsumentów zorientowanych na siebie, nabywających produkty ekologiczne wyłącznie z pobudek egoistycznych (troska o zdrowie własne lub rodziny);
- fanatyków ekologicznych, którzy przypisują wszelkie wartości wyłącznie produktom ekologicznym; z tego powodu potrafią zrezygnować z konsumpcji wielu produktów z rolnictwa konwencjonalnego.

Zaremba [30], na podstawie rozeznania poziomu wiedzy i świadomości ekologicznej, dokonał „barwnego” podziału polskich konsumentów. Są to typy: czarny (brak wiedzy i świadomości ekologicznej), szary (niski poziom wiedzy i świadomości ekologicznej), szarozielony (znaczna wiedza ekologiczna, podatny na wzrost poziomu świadomości ekologicznej), zielony (o dużej wiedzy i stale pogłębianej świadomości ekologicznej) i jaskrawo-zielony (postuluje nawrót do natury).

Wnioski

1. Wśród konsumentów deklarujących ekokonsumpcję dominują ci, którzy czynią to z pobudek zdrowotnych, oraz osoby, dla których zasadniczą przyczyną ekokon-

- sumpcji jest fakt, że produkty z gospodarstw ekologicznych są mniejszym zagrożeniem dla środowiska naturalnego człowieka niż produkty z rolnictwa konwencjonalnego. Trzecia wyróżniająca się grupa ekokonsumentów to osoby wrażliwe na konieczność pozostawienia przyszłym pokoleniom czystego środowiska naturalnego. Dominacja tych trzech motywacji świadczy o wysokiej świadomości ekologicznej polskiego społeczeństwa.
2. Typ konsumenta dojrzałego pod względem zachowań żywieniowych przeważa w dwóch grupach ekokonsumentów: o motywacji zdrowotnej oraz futurystycznej. Ekologiczną motywację ekokonsumpcji reprezentują dwa typy konsumenta: sceptyk i tradycjonalista. Wśród ekokonsumentów motywowanych materialnie i jakościowo przeważają osoby, które wykazują „niefrasobliwy” styl zachowań.
 3. Segment konsumentów zainteresowanych ekokonsumpcją nie jest jednorodny pod względem motywacji i zachowań żywieniowych. Zróżnicowanie to powinno zostać uwzględnione przy kreowaniu polityki marketingowej propagującej żywność ekologiczną. Należy pamiętać o stosowaniu różnorodnych argumentów przemawiających za tą żywnością do określonych typów konsumentów – takie postępowanie będzie bardziej efektywne niż stosowanie argumentów uniwersalnych.


Literatura

- [1] Bołtromiuk A.: Ograniczenia wzrostu popytu na produkty rolnictwa ekologicznego w Polsce. Zeszyty Naukowe AR w Krakowie, 1998, **54**, 337-345.
- [2] Bonny S.: Consumer concerns about industrialized agriculture and food safety: importance, origin and possible solutions. *Ann. Zootech.*, 2000, **49**, 273-290.
- [3] Brewer M.S., Prestat C.J.: Consumer attitudes toward food safety issues. *J. Food Safety*, 2002, **22**, 67-83.
- [4] Chinnici G., D'Amico M., Pecorino B.: A multivariate statistical analysis on the consumer of organic products. *Br. Food J.*, 2002, **3/4/5**, 187-199.
- [5] Daguet P.: Klient nasz pan – sylwetki konsumentów „bio”. W: *Rolnictwo ekologiczne od producenta do konsumenta - pod red. U. Sołtysiak*. Stowarzyszenie EKOLAND Stiftung LEBEN & UMWELT, Warszawa 1995.
- [6] Drobnica L., Cebulak T., Pieczonka W.: Żywnienie a chroniczne choroby niezakaźne w opinii konsumentów żywności niekonwencjonalnej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **6 (55)**, 315-326.
- [7] Dudek P.: Wybrane problemy marketingu żywności ekologicznej. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie, Ekonomika*, 1997, **25**, 139-151.
- [8] Frewer L.J.: Risk perception and risk communication about food safety issues. *Nutrition Bulletin*, 2000, 31-33.
- [9] Gawęcki J., Hryniewiecki L.: *Żywnienie człowieka*. PWN, Warszawa 1998.
- [10] Gotkiewicz W., Szafranek R.: Ecological farms as an element of the agricultural production market. *Economic Sci.*, 2000, **2**, 30-39.
- [11] Jędrzejczyk I.: Finansowe uwarunkowania ekologizacji rolnictwa i wsi na przykładzie Polski południowo-wschodniej. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie, Sesja Naukowa*, 1998, **52**, 67-76.

- [12] Klimczyk-Bryk M.: Trendy ekologiczne a zachowania konsumentów. Zesz. Nauk. AE w Krakowie, 2000, **540**, 93-99.
- [13] Klimczyk-Bryk M.: Rola informacji w kształtowaniu proekologicznych zachowań konsumentów. Zesz. Nauk. AE w Krakowie, 2001, **558**, 95-118.
- [14] Li Ling-ye.: Effect of collectivist orientation and ecological attitude on actual environmental commitment: the moderating role of consumer demographics and product involvement. J. Int. Cons. Marketing, 1997, **4**, 31-53.
- [15] Łuczka-Bakuła W.: Bariera popytu jako czynnik ograniczający rozwój rolnictwa ekologicznego. Roczniki AR w Poznaniu, Rolnictwo, 1999, **53**, 489-498.
- [16] Łuczka-Bakuła W.: Przeobrażenia na rynku żywności ekologicznej. Przem. Spoż., 2004, **1**, 11-14, 17.
- [17] Łukasiński W.: Zarządzanie jakością produktu ekologicznego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **1 (56)**, 146-153.
- [18] Macfarlane R.: Integrating the consumer interest in food safety: the role of science and other factors. Food Policy, 2002, **27**, 65-79.
- [19] Magnusson M.K. et al.: Attitudes towards organic foods among Swedish consumers. Br. Food J., 2001, **3**, 209-226.
- [20] Pearson D.: Marketing organic food: who buys it and what do they purchase? Food Australia, 2002, **1/2**, 31-34.
- [21] Pliner P., Hobden K.: Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. Appetite, 1992, **19**, 105-120.
- [22] Roddy G., Cowan C.A., Hutchinson G.: Consumer attitudes and behaviour to organic foods in Ireland. J. Int. Cons. Marketing, 1996, **2**, 41-63.
- [23] Roininen K. et al.: Differences in health and taste attitudes and reported behavior among Finnish, Dutch and British consumers: a cross-national validation of the Health and Taste Attitude Scales (HTAS). Appetite, 2001, **37**, 33-45.
- [24] Runowski H.: Gospodarstwa ekologiczne w rolnictwie polskim – stan obecny i perspektywy. Roczniki AR w Poznaniu, Rolnictwo, 1999, **53**, 499-515.
- [25] Schifferstein H.N.J., Oude Ophuis P.A.M.: Health-related determinants of organic food consumption in the Netherlands. Food Quality and Preference, 1998, **3**, 119-133.
- [26] Schwartz S.H., Bilsky W.: W dążeniu do teorii uniwersalnej treści i struktury wartości – rozszerzenie zakresu badań i ich powtórzenie w aspekcie międzykulturowym. W: Lambkin M., Foxall G., van Raaij F., Heilbrunn B. (pod red.). Zachowania konsumenta. Koncepcje i badania europejskie. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2001.
- [27] Staniszevska M.: Rolnictwo ekologiczne w Polsce na początku XXI wieku. Mat. I Ogólnopol. Młodzieżowej Konf. Nauk. „Integracja z UE a rolnictwo ekologiczne i ekoturystyka w Polsce na początku XXI wieku”, AR Wrocław 2001, ss. 3-4.
- [28] Sznajder M., Senauer B., Asp E., Kinsey J.: Zmieniający się konsument żywności. Wyd. Horyzont, Poznań 1998.
- [29] Thompson G.D.: International consumer demand for organic foods. Hort Technology, 2001, **4**, 663-673.
- [30] Zaremba S.: Ekologia produktów a idee zielonego konsumeryzmu. Mat. I Międzyn. Konf. „Ekologia wyrobów”. AE, Kraków 1997, ss. 53-62.

PSYCHOGRAPHIC – MOTIVATING PROFILE OF THE POLISH CONSUMER OF ECO-FOOD**S u m m a r y**

The following paper presents results of the research accomplished in order to identify – amidst the Polish purchasers of food products – motivations shaping the eco-consumption and to determine relations between those motivations and psychographic characteristics modelling the nutritional behaviour. The research was carried out in SE Poland, using a direct interview method. Amidst the consumers declaring themselves eco-consumers, the half were those who chose eco-consumptions for health reasons. A type of the consumer being mature as regards dietary behaviours predominates in two groups of eco-consumers: a group of those being health-motivated and a group of those having futuristic motivation. Two types of the consumer represent an ecological motivation for eco-consumption: sceptic and traditionalist. Amidst the economically and qualitatively motivated eco-consumers, those persons prevailed who were classified as people with a careless (thought-free) style of behaviour.

Key words: organic food, psychographic profile, motives for eco-consumption 

ANNA STACHURA, PAWEŁ M. PISULEWSKI, ANETA KOPEĆ,
TERESA LESZCZYŃSKA, RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ

OSZACOWANIE SPOŻYCIA TŁUSZCZÓW OGÓLEM ORAZ KWASÓW TŁUSZCZOWYCH PRZEZ MŁODZIEŻ WIEJSKĄ BESKIDU ŻYWIECKIEGO

Streszczenie

Celem pracy była ocena spożycia tłuszczów ogółem, nasyconych, jednonienasyconych, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz cholesterolu przez młodzież szkolną, w wieku od 16 do 18 lat. Zawartość tłuszczów w przeciętnej racji pokarmowej młodzieży stanowiła 33,8 % ogólnej wartości energetycznej. Udział kwasów tłuszczowych nasyconych i jednonasyconych był zbliżony do zalecanego (odpowiednio 11,2 i 13,7 % wartości energetycznej racji), natomiast wielonienasyconych z rodziny n-3, a w szczególności dokozaheksaenowego (DHA) i eikozapentaenowego (EPA), zbyt niski (4,9 %). Równocześnie stwierdzono właściwe proporcje kwasów n-6 do n-3 (~5 : 1). Uzasadnione byłoby zatem zwiększenie konsumpcji ryb i przetworów rybnych.

Słowa kluczowe: młodzież szkolna, całodzienne racje pokarmowe, tłuszcze ogółem, kwasy tłuszczowe

Wprowadzenie

Jednym z ważniejszych elementów diety człowieka jest odpowiednia ilość i jakość tłuszczów. Zbyt duże spożycie nasyconych kwasów tłuszczowych i cholesterolu, a małe nienasyconych kwasów tłuszczowych, szczególnie z rodziny n-3, to wciąż jeszcze powtarzające się błędy żywieniowe społeczeństwa polskiego, zwiększające ryzyko powstawania chronicznych chorób niezakaźnych, m.in. otyłości, układu krążenia oraz nowotworów.

Wykazano, że efekt działania tłuszczu pokarmowego na organizm człowieka jest bardziej związany z rodzajem i składem kwasów tłuszczowych, w mniejszym zaś stopniu z wielkością spożycia. Zasadnicza zmiana powinna polegać na zwiększeniu spożycia kwasów jednonienasyconych kosztem ograniczenia nasyconych [8, 15].

Mgr inż. A. Stachura, prof. dr hab. P. M. Pisulewski, dr inż. A. Kopeć, dr hab. inż. T. Leszczyńska, dr inż. R. Bieżanowska-Kopeć, Katedra Żywności Człowieka, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

Ważny jest również odpowiedni stosunek kwasów $n-6$ do $n-3$ w spożywanej żywności, który powinien wynosić 5-6 : 1 [20]. Zarówno niedobór, jak i nadmiar wielonienasyconych kwasów tłuszczowych może wywierać niekorzystny wpływ na organizm człowieka. Spośród kwasów $n-3$, EPA i DHA wywołują różne efekty metaboliczne. Kwas EPA wpływa głównie na układ sercowo-naczyniowy poprzez syntezę eikozanoidów wykazujących działanie przeciwzapalne i antyagregacyjne. Natomiast kwas DHA jest niezbędnym składnikiem błon komórkowych w centralnym układzie nerwowym. Wpływa na prawidłowy rozwój komórek nerwowych oraz ich funkcjonowanie, zwłaszcza w obrębie kory mózgowej i siatkówki oka. Niedobór DHA może również obniżać zdolności zapamiętywania, nasilać reakcje alergiczne, wywoływać zaburzenia systemu nerwowego, może też zwiększać odczucie stresu, agresji i nadpobudliwości [8, 11].

Celem podjętych badań była ocena spożycia tłuszczów ogółem, nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz cholesterolu przez młodzież szkolną w wieku od 16 do 18 lat. Określono także udział poszczególnych grup produktów spożywczych w dostarczaniu tych składników.

Material i metody badań

Badaniami objęto młodzież w wieku 16 - 18 lat, uczęszczającą do Technikum Żywności i Gospodarstwa Domowego w Żywcu, mieszkającą na wsi i żywiącą się indywidualnie. Dane dotyczące ilości i rodzaju produktów oraz potraw w racjach pokarmowych poszczególnych osób uzyskano, stosując metodę bieżącego notowania w ciągu dekady, w okresie jesiennym 2005 r. Ogółem wypełniono 500 zapisów żywieniowych.

Zawartość w racjach pokarmowych tłuszczów ogółem, kwasów tłuszczowych nasyconych, jednonienasyconych, wielonienasyconych z rodziny $n-3$ i $n-6$ oraz cholesterolu obliczano za pomocą programu komputerowego FOOD 2.0 (IŻŻ, Warszawa, 1998). Uzyskane dane porównano z normami i zaleceniami żywieniowymi Instytutu Żywności i Żywienia, uwzględniając płeć i wiek [30]. Dodatkowo wyniki spożycia odniesiono do zaleceń FAO/WHO oraz, w przypadku pobrania kwasów tłuszczowych nienasyconych, do rekomendacji International Society for The Study of Fatty Acids and Lipids – ISSFAL [21, 29]. Za prawidłowe przyjęto ilości spożycia różniące się o $\pm 10\%$ od wartości zalecanej normy.

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji. Istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami spożycia dziewcząt i chłopców obliczono za pomocą testu t-Studenta na poziomie istotności $p < 0,05$. Analizę przeprowadzono przy użyciu programu Microsoft Excel oraz Statistica.

Wyniki i dyskusja

Wykazano, że pomiędzy spożyciem tłuszczów i poszczególnych grup kwasów tłuszczowych przez dziewczęta i chłopców różnice statystycznie istotne na ogół nie występowały. Dlatego też omówienie wyników przeprowadzono najczęściej na podstawie średniego spożycia w populacji ogółem.

Z analizy zapisów żywieniowych wynika, że spożycie tłuszczów ogółem pokrywało normy krajowe w zakresie 90 - 106 % w przypadku dziewcząt oraz w 81 - 100 % w przypadku chłopców. Wykazane ilości pobrania stanowiły przeciętnie 33,8 % wartości energetycznej racji pokarmowej, przy czym w racjach pokarmowych dziewcząt zawartość tłuszczów odpowiadała 33,4 % energii, a w racjach chłopców 35,6 % (tab. 1). Różnice te nie były statystycznie istotne. Uzyskane wyniki wykraczają również poza rekomendowany przez FAO/WHO zakres spożycia tłuszczu, wynoszący 15 - 30 % [29].

Grupami produktów dostarczającymi najwięcej tłuszczów były: inne tłuszcze – 24,8 %, mięso, przetwory mięsne i ryby – 24,4 %, mleko i produkty mleczne – 15,4 %, masło i śmietana – 11,3 %, cukier i wyroby cukiernicze – 8,2 %, pieczywo i produkty zbożowe – 6,6 % oraz jaja – 5,5 %. Pozostałe produkty (ziemniaki, suche nasiona roślin strączkowych oraz warzywa i owoce) dostarczały łącznie 3,8 % tłuszczów. Podobne, do odnotowanego w niniejszej pracy, spożycie tłuszczu przez dzieci i młodzież, na ogół pokrywające normę (uwzględniając granicę tolerancji $\pm 10\%$), uzyskano również w innych krajowych publikacjach [7, 9, 13, 24, 26, 27, 28]. W przeciwieństwie do wyników niniejszych badań niektóre doniesienia wskazują jednak na mniejsze, w stosunku do zaleceń, spożycie tłuszczów przez dzieci i młodzież [2, 26], bądź zbyt duże [4, 9, 22, 25].

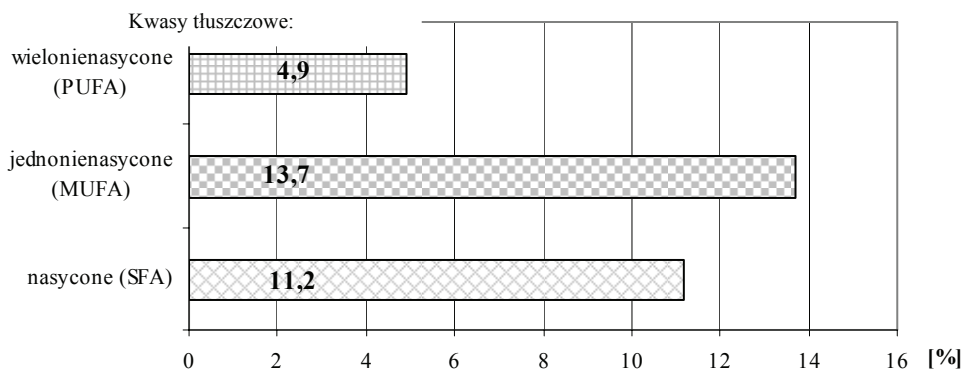
Spożycie kwasów tłuszczowych nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych przez dziewczęta i chłopców było zbliżone. Wykazano jednak tendencję do większej zawartości tych składników w racjach chłopców, odpowiednio o 14, 20 i 7%, (tab. 1).

Średnie spożycie nasyconych kwasów tłuszczowych przez badaną populację młodzieży wynosiło 29,0 g/osobę/dobę. Jednonienasycone kwasy tłuszczowe spożywano w ilości 35,5 g/osobę/dobę, a wielonienasycone w ilości 12,7 g/osobę/dobę. Wzajemny stosunek wymienionych grup kwasów w racjach wynosił 1,0 : 1,2 : 0,4, a udział energii z nich pochodzącej 11,1; 13,7; 4,9 % (tab. 1, rys. 1). W żywieniu młodzieży objętej niniejszymi badaniami dominowały zatem kwasy nasycone i jednonienasycone.

Tabela 1

Spżycie tłuszczów ogółem oraz kwasów tłuszczowych przez młodzież.
Intake of total fats and fatty acids by high school students.

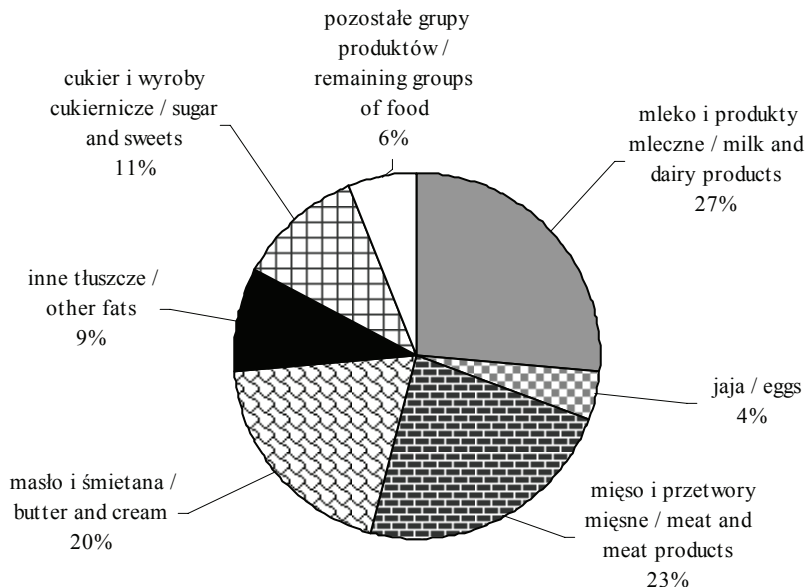
Składnik Ingredient	Dziew- częta Girls	Norma dla dziewcząt Dietary intake level as recom- mended for girls	Chłopcy Boys	Norma dla chłopców Dietary intake level as recommended for boys	Ogółem Total	Zalecana norma Recom- mended dietary intake level	Procent realizacji normy % Percent Rate of dietary intake standard accomplished
Tłuszcz ogółem [g/d] Total fat	85,6	75 - 95	94,9	88 - 112	90,3	81 - 95	90 - 106
Kwasy tłuszczowe nasycone [g/d] Saturated fatty acids	28,2	–	32,3	–	29,0	–	–
Kwasy tłuszczowe jednonienasycone [g/d] Monounsaturated fatty acids	34,2	–	40,9	–	35,5	–	–
Kwasy tłuszczowe wielonienasycone [g/d] Polyunsaturated fatty acids	12,5	–	13,5	–	12,7	–	–
NNKT <i>n</i> -3 [g/d] <i>n</i> -3 essential fatty acids	2,48	–	2,53	–	2,49	–	–
NNKT <i>n</i> -6 [g/d] <i>n</i> -6 essential fatty acids	10,1	–	10,9	–	10,2	–	–
Cholesterol [mg/d] Cholesterol	407,4	<300	467,8	<300	437,6	<300	–
Energia z tłuszczu ogółem [%] Energy from total fat	33,4	30	35,6	–	33,8	30	113
Energia z kwasów tłuszczowych nasyconych [%] Energy from saturated fatty acids	10,1	–	12,1	–	11,1	10	–
Energia z kwasów tłuszczowych jed- nonienasyconych [%] Energy from monoun- saturated fatty acids	13,3	–	15,3	–	14,3	16	–
Energia z kwasów tłuszczowych wielo- nienasyconych [%] Energy from polyunsatu- rated fatty acids	4,9	3	5,0	3	4,9	3	–



Rys. 1. Udział kwasów tłuszczowych nasyconych, jednonienasyconych oraz wielonienasyconych w wartości energetycznej diety badanej młodzieży.

Fig. 1. Content levels of saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids in the total daily energy intake of the high school students polled.

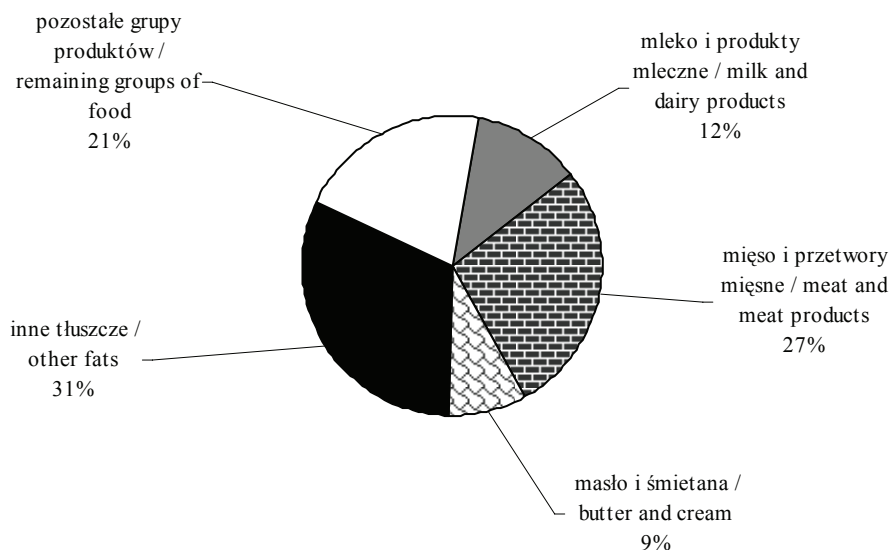
Źródłem kwasów tłuszczowych nasyconych w diecie badanej populacji były mleko i produkty mleczne (27 %), mięso i przetwory mięsne (23 %), masło i śmietana (20 %), cukier i wyroby cukiernicze (11 %), tłuszcze inne (9,1 %) oraz jaja (4 %). Pozostałe produkty dostarczały łącznie 6 % tych kwasów (rys. 2).



Rys. 2. Spożycie nasyconych kwasów tłuszczowych z różnych grup produktów spożywczych przez badaną grupę młodzieży.

Fig. 2. Intake of saturated fatty acids from different groups of food by examined students.

Głównym źródłem kwasów tłuszczowych jednonienasyconych w diecie badanej młodzieży były tłuszcze pochodzenia roślinnego, które dostarczały 31 % ogólnej ich ilości. Z mięsa i przetworów mięsnych pochodziło 27 % tych kwasów, z mleka i produktów mlecznych – 12 %, z masła i śmietany – 9 %, a z pozostałych produktów łącznie 21 % (rys. 3).



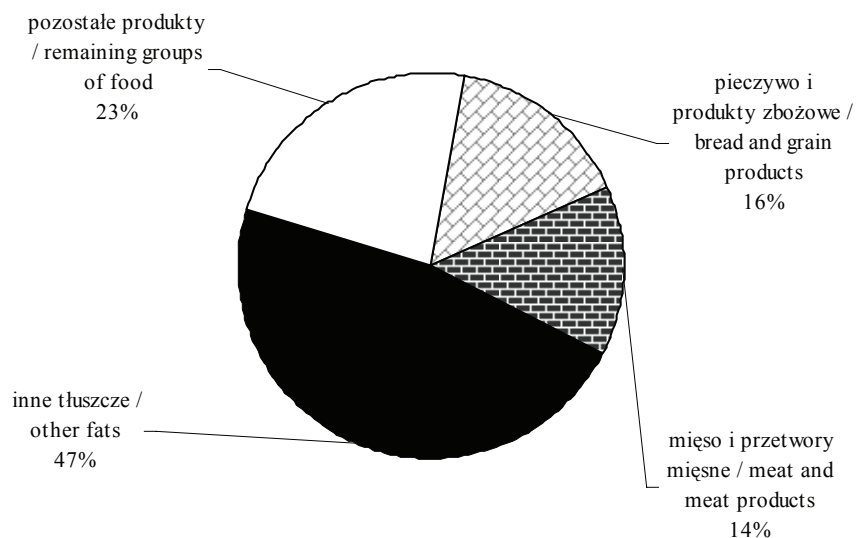
Rys. 3. Spożycie jednonienasyconych kwasów tłuszczowych z różnych grup produktów spożywczych przez badaną grupę młodzieży.

Fig. 3. Intake of monounsaturated fatty acids from different groups of food by the high school students polled.

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe pochodziły głównie z tłuszczów roślinnych (47,2 %). Mniejszych ilości tych kwasów dostarczały pieczywo i produkty zbożowe (16 %) oraz mięso i przetwory mięsne (14 %). Pozostałe produkty, m.in. mleko i produkty mleczne, jaja, ryby i przetwory rybne, ziemniaki, warzywa, owoce i ich przetwory oraz cukier i wyroby cukiernicze, dostarczały łącznie 23 % kwasów wielonienasyconych (rys. 4).

Spożycie kwasów tłuszczowych nasyconych przekraczało zalecane wartości spożycia, rekomendowane przez IŻŻ i Światową Organizację Zdrowia WHO/FAO, wynoszące nie więcej niż 10 % wartości energetycznej [29, 30]. Wyniki te nie były też zgodne z zaleceniami międzynarodowej organizacji ISSFAL, która proponuje, by kwasy należące do tej grupy stanowiły nie więcej niż 8 % wartości energetycznej [21, 23]. Otrzymane w niniejszej pracy wyniki średniej zawartości kwasów tłuszczowych nasyconych w racjach pokarmowych młodzieży zawierały się w granicach cytowanych przez Smorzewską-Czupryńską i wsp. [24], wynoszących 23,1 - 51,2 g. Przysiężna

i Kalisz [16], oceniając sposób żywienia młodzieży w wieku 16 - 18 lat, otrzymali również wyniki zbliżone do uzyskanych w niniejszej pracy. Stwierdzili oni bowiem, że kwasy tłuszczowe nasycone dostarczały 10 - 12 % energii. Podobne ilości tych kwasów w racjach pokarmowych studentek stwierdzili Przysiężna i Banachowicz [17]. Natomiast w dietach studentów przebadanych przez wymienionych autorów stanowiły one nawet 15 % wartości energetycznej.



Rys. 4. Spożycie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z różnych grup produktów spożywczych przez badaną grupę młodzieży.

Fig. 4. Intake of polyunsaturated fatty acids from different groups of food by the high school students polled.

Jak wykazano w niniejszych badaniach, jednonienasycone kwasy tłuszczowe spożywane były w ilości zalecanej przez Ziemiańskiego i wsp. [30] oraz przez FAO/WHO [29], stanowiącej ~13 % energii diety. Uzyskane wyniki średniej zawartości kwasów tłuszczowych jednonienasyconych, w racjach pokarmowych młodzieży zawierały się w granicach cytowanych przez Smorzewską-Czupryńską i wsp. [24], wynoszących 25,2 - 48,7 g. Mniejsze pobranie energii z omawianych kwasów wykazali natomiast Przysiężna i Kalisz [16], Przysiężna i Banachowicz [17] oraz Czezelewski i Raczyński [3].

Stwierdzone w niniejszej pracy spożycie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (4,9 % energii) mieściło się pomiędzy zakresem minimalnego zapotrzebowania podanego w normach żywienia dla ludności Polski, a stanowiącego 3 - 4 % energii ogółem, a wartością uznaną za optymalną – 6 - 7 % energii [30]. Równocześnie omawiane wyniki nie są zgodne z zaleceniami spożycia WHO/FAO [29], według których kwasy wielonienasycone powinny stanowić 6 - 10 % wartości energetycznej diety [29].

Mniejszą podaż energii z wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w porównaniu z obliczoną w niniejszych badaniach, otrzymali Przysiężna i Kalisz [16]. Autorzy ci wykazali, że udział energii z kwasów wielonienasyconych w całodziennych racjach pokarmowych młodzieży wynosił 2,5 - 3,6 %. Według Smorczewskiej-Czupryńskiej i wsp. [24] zawartość kwasów tłuszczowych wielonienasyconych w dietach młodzieży nie przekraczała 16 g, była zatem większa aniżeli w dietach uczniów objętych niniejszymi badaniami.

Badania prowadzone w ramach projektu Pol-Monica, oceniające jakość zdrowotną racji pokarmowych mieszkańców Warszawy w latach 1984 - 1993, wykazały zmniejszający się odsetek energii dostarczanej przez tłuszcze nasycone (~11,9 - 14,0 %), jednonienasycone (~14,4 - 16,7 %) oraz optymalny udział energii pochodzącej z kwasów wielonienasyconych (~6,0 - 6,5 %) [28]. Wykazany w niniejszych badaniach średni udział energii z kwasów tłuszczowych nasyconych i jednonienasyconych mieścił się w wymienionych wyżej zakresach, natomiast energia uzyskana z kwasów wielonienasyconych była poniżej wartości dolnego progu.

Średnie spożycie kwasów tłuszczowych wielonienasyconych z grupy *n-3* przez badaną populację młodzieży wynosiło 2,49 g/osobę/dobę, co stanowiło 0,95 % całkowitej wartości energetycznej tej diety (tab. 2). Podstawowym źródłem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych *n-3* w racjach pokarmowych były inne tłuszcze, z których pochodziło 59 % ogólnej ich ilości. Występowały one również w mleku i produktach mlecznych (7,3 %), pieczywie i produktach zbożowych (7,1 %), mięsie i przetworach mięsnych (6,9 %) oraz w maśle i śmietanie (5,5 %). Ryby i przetwory rybne wносиły do diety młodzieży tylko 2,8 % tych kwasów, zaś pozostałe grupy produktów 11,3 %.

Tabela 2

Spożycie NNKT z rodziny *n-3* i *n-6* przez młodzież.

Intake of essential polyunsaturated fatty acids from *n-3* and *n-6* groups by the high school students polled.

Kwasy tłuszczowe Fatty acids [g]	Dziewczęta Girls	Chłopcy Boys	Ogółem Total
<i>n-3</i>			
18:3 LNA	2,35	2,45	2,37
20:5 EPA	0,03	0,01	0,02
22:6 DHA	0,09	0,07	0,09
<i>n-6</i>			
18:2 LA	9,92	10,74	10,33
20:4 (p<0,05)	0,13	0,18	0,14

Średnie spożycie kwasu α -linolenowego (C18:3) przez uczniów wynosiło 2,37 g/osobę/dobę, co stanowiło 0,9 % wartości energetycznej diety (tab. 2). Spożycie kwasów DHA i EPA było bardzo małe. Kwasy tłuszczowe DHA i EPA spożywano z przeciętną racją pokarmową odpowiednio w ilościach 0,09 i 0,02 g/osobę/dobę. Łączne spożycie tych kwasów odpowiadało \sim 0,04 % wartości energetycznej diety (tab. 2). Kwas α -linolenowy w diecie badanej młodzieży pochodził w 62 % z tłuszczów, głównie pochodzenia roślinnego. Inne produkty dostarczały mniejszych ilości omawianego kwasu, a wśród nich mleko i produkty mleczne – 7,7 %, pieczywo i produkty zbożowe – 7,5 %, mięso i przetwory mięsne – 6,4 % oraz masło i śmietana – 5,8 %. Z pozostałych grup produktów pochodziło łącznie 10,6 % tego składnika, z czego zaledwie 0,8 % z ryb i ich przetworów.

Podstawowym źródłem kwasu tłuszczowego EPA w diecie badanej młodzieży były ryby i przetwory rybne, które wniosły ten składnik w ilości 79,2 %, natomiast mięso i przetwory mięsne 20,8 %. Głównym źródłem DHA były jaja (52,7 %), następnie ryby i ich przetwory (29 %) oraz mięso i przetwory mięsne (15,1 %). Nieznacznymi ilościami (łącznie 3,3 %) dostarczały: pieczywo i produkty zbożowe, inne tłuszcze oraz cukier i wyroby cukiernicze.

Wartość energetyczna uzyskana ze spożycia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych $n-3$ była zgodna z zaleceniami Ziemiańskiego i wsp. [30], według których energia pochodząca z tych kwasów nie powinna być mniejsza niż 0,2 - 0,3 %. Równocześnie była ona zbliżona do wartości dolnego zakresu udziału kwasów z tej grupy w całkowitej wartości energetycznej racji, zalecanego przez WHO/FAO, wynoszącego 1 - 2 % [29]. Dybkowska i wsp. [6] wykazali że przeciętna polska dieta zawiera kwasy $n-3$ w ilości stanowiącej 0,95 % wartości energetycznej. Natomiast w badaniach przeprowadzonych wśród młodzieży żywiącej się w stołówkach wrocławskich burs i internatów wykazano, że spożycie kwasów $n-3$ wynosiło 1,60 - 2,07 g/osobę/dobę [16]. Spożycie przez młodzież kwasu α -linolenowego ($n-3$) było zbliżone do zalecanego przez ISSFAL [21]. Podobne dane opublikowali Czeczulewski i Raczyński [3]. Autorzy ci wykazali iż racje pokarmowe dzieci w wieku 10 - 15 lat zawierały 1,7 - 2,6 g/osobę/dobę omawianego kwasu. W badaniach przeprowadzonych w Olsztynie, w 2000 roku, najmniejsza ilość tego kwasu w przeliczeniu na 100 g tłuszczu wynosiła średnio 2,82 g [19]. Natomiast w racjach pokarmowych mężczyzn z rejonu Wielkopolski zawartość kwasu α -linolenowego była wystarczająca do pokrycia zaleceń (0,2 - 0,3 % energii); [18]. W diecie dorosłych mieszkańców Warszawy średnia podaż tego kwasu wynosiła 1,87 g/osobę/dobę [10].

Sumaryczne spożycie przez ankietowaną młodzież DHA i EPA było nieznacznie mniejsze od wartości zalecanych przez ISSFAL, wynoszących 0,3 % energii (0,65 g/osobę/dobę), przy czym minimalne spożycie powinno stanowić nie mniej niż 0,1 % wartości energetycznej racji (0,22 g/osobę/dobę) [21, 23]. Większe pobranie tych kwa-

sów przez młodzież (0,22 g/osobę/dzień) wykazali Przysiężna i Kalisz [16]. Z kolei w racjach pokarmowych dorosłych mieszkańców Warszawy suma kwasów EPA i DHA wynosiła ~0,15 g [10].

Przeciętne spożycie kwasów tłuszczowych z rodziny *n-6* wynosiło 10,2 g/osobę/dobę, czyli 3,94 % całkowitej energii racji. Średnie spożycie kwasu linolowego (C18:2), 10,1 g/osobę/dobę, odpowiadało ~3,9 % wartości energetycznej, a spożycie kwasu arachidonowego (C20:4), 0,14 g/osobę/dobę, ~0,05 % wartości energetycznej diety. Podstawowym źródłem kwasu linolowego w diecie badanej młodzieży były tłuszcze (głównie pochodzenia roślinnego), które dostarczały 45 % tego składnika. Z pieczywa i produktów zbożowych pochodziło 18 % omawianego kwasu, zaś z mięsa i przetworów mięsnych 15,1 %. Mniejsze ilości zawierały jaja (5,2 %), cukier i wyroby cukiernicze (4,5 %), ziemniaki (3,6 %), owoce i warzywa pozostałe (3,3 %) oraz mleko i produkty mleczne (1,8 %). Z pozostałych grup produktów pochodziło łącznie 3,6 % tego kwasu. Najważniejszym źródłem kwasu arachidonowego było mięso i przetwory mięsne (69,7 %) oraz jaja (21,4 %). Cukier i wyroby cukiernicze oraz ryby i przetwory rybne wносиły odpowiednio 5,5 oraz 3,4 % składnika.

Głównym źródłem kwasów tłuszczowych *n-6* w diecie były inne tłuszcze, wprowadzające 44,3 % tych składników. Znaczących ilości dostarczały również pieczywo i produkty zbożowe – 17,7 % oraz mięso i przetwory mięsne – 15,9%. Mniejsze ilości kwasów *n-6* wносиły do diety jaja (5,4 %), cukier i wyroby cukiernicze (4,5 %), ziemniaki (3,5 %), owoce i warzywa pozostałe (3,2 %), mleko i produkty mleczne (1,8 %), warzywa i owoce obfitujące w witaminę C (1,3 %), masło i śmietana (1,2 %), ryby i przetwory rybne (0,7 %) oraz pozostałe (0,4 %). Spożycie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z grupy *n-6*, mieściło się w zakresie zalecanego optymalnego zapotrzebowania (3-7,5 %). Jednocześnie było ono na mniejszym poziomie od rekomendowanego przez WHO/FAO, wynoszącego 5 - 8 % wartości energetycznej diety [29]. Stwierdzone w niniejszej pracy spożycie kwasu linolowego (*n-6*) przekraczało wartość zalecaną przez ISSFAL, wynoszącą 4,44 g/osobę/dobę – 2 % wartości energetycznej [21]. Dybkowska i wsp. [5] wykazali, że przeciętna polska dieta zawiera kwasy *n-6* w ilości stanowiącej 5,21 % energii. Według badań Czezelewskiego i Raczyńskiego [3] górna wartość zakresu spożycia kwasu linolowego przez dzieci w wieku 10 - 15 lat, wynoszącego 7,1 - 9,8 g/osobę/dobę, była zbliżona do średniej wartości spożycia oszacowanej w niniejszej pracy. Natomiast według Kolanowskiego i wsp. [10], dieta mieszkańców Warszawy zawierała więcej, bo średnio 12,9 g omawianego kwasu. Zaobserwowana w niniejszej pracy struktura spożycia tłuszczów mogła mieć wpływ na nieprawidłowy poziom kwasów tłuszczowych wielonienasyconych *n-6*. Jak wiadomo, nadmierne spożycie tych kwasów może powodować silne reakcje zapalne i alergiczne, szczególnie gdy towarzyszy mu małe spożycie kwasów *n-3* [11, 15].

Proporcja kwasów tłuszczowych $n-6$ do $n-3$ wynosiła $\sim 5 : 1$ i była zgodna z zalecaną, wynoszącą $4 - 6 : 1$ [30] bądź $5 - 6 : 1$ [20]. Podobnie, jak w przypadku kwasów wielonienasyconych ogółem, nie wykazano różnic statystycznie istotnych pomiędzy spożyciem przez dziewczęta i chłopców tych dwóch grup kwasów. Porównywalne wyniki w zakresie proporcji tych dwóch grup kwasów uzyskali w badaniach Radzyńska i wsp. [19]. Natomiast Kolanowski i wsp. [10] stwierdzili, że stosunek obu rodzajów wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie dorosłych mieszkańców Warszawy wynosił średnio $7 : 1$. Zbliżony wynik (średnio $8 : 1$) otrzymano w badaniach żywieniowych przeprowadzonych wśród ludności z terenu Wielkopolski [10].

W niniejszej pracy nie wykazano różnic w spożyciu cholesterolu w zależności od płci. Średnia zawartość cholesterolu w diecie badanej młodzieży przekraczała dopuszczalną ilość 300,0 mg, wynosiła bowiem 437,6 mg (tab. 1). Źródłem cholesterolu były jaja – 59 % oraz mięso i przetwory mięsne – 18,9 %. Mleko i produkty mleczne dostarczały 10,3 % tego składnika, masło i śmietana – 6,5 %, natomiast pozostałe produkty, takie jak pieczywo i produkty zbożowe, ryby i ich przetwory, inne tłuszcze oraz cukier i wyroby cukiernicze dostarczały łącznie 5,3 % cholesterolu. Taki poziom spożycia cholesterolu potwierdzają wyniki badań prowadzonych w ostatnich kilku latach, w różnych regionach Polski wśród niektórych grup ludności [6, 12, 22].

Przegląd prac na temat oceny sposobu żywienia młodzieży szkolnej z kilkunastu krajów europejskich dowodzi, że skład diety nastolatków jest nieodpowiedni. Zawiera ona m.in. za dużo tłuszczów stanowiących przeciętnie 35 - 40 % ogółu energii. Zależnie od położenia geograficznego danego kraju zróżnicowany jest skład kwasów tłuszczowych pożywienia, np. w krajach śródziemnomorskich dominują kwasy jednonienasycone, które dostarczają przeciętnie 17 - 19 % energii, z kwasów nasyconych pochodzi ok. 13 % energii, a z wielonienasyconych 5 - 7 %. W żywieniu młodzieży zamieszkującej w państwach Europy środkowo-wschodniej przeważają kwasy nasycone, a ogólne spożycie tłuszczu przekracza zalecane normy [1, 14].

Wnioski

1. Spożycie tłuszczów ogółem przez dziewczęta i chłopców (młodzież wiejską Beskidu Żywieckiego) pokrywało zalecane normy odpowiednio w zakresie 90 – 106 % oraz 81 - 100 %, a udział składnika w całkowitej wartości energetycznej przeciętnej racji pokarmowej wynosił 33 i 36 % energii.
2. Wykazano zbliżone do prawidłowych proporcje kwasów tłuszczowych nasyconych do jednonienasyconych i równocześnie dwukrotnie mniejsze ilości kwasów wielonienasyconych.
3. Pomimo mniejszej, w stosunku do zalecanej, zawartości w racjach wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, zwłaszcza z rodziny $n-3$, proporcja $n-6$ do $n-3$ była prawidłowa.

4. Wykazane zbyt małe spożycie EPA i DHA przez młodzież można byłoby skorygować poprzez zwiększenie udziału w diecie ryb i przetworów rybnych.

Literatura


- [1] Amorim-Cruz J.A.: Dietary habits and nutritional status in adolescents over Europe – Southern Europe. *Eur. J Clin. Nutr.*, 2000, **54**, 29-35.
- [2] Czarnocińska J., Wądlowska L.: Preferencje pokarmowe dziewcząt a zagrożenia zdrowotne. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004, **Supl.**, 87-92.
- [3] Czezelewski J., Raczyński G.: Nutritional status versus diet composition of 10-15-year-old children from the Central-East-Poland. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006, **2**, 221-226.
- [4] Duda G., Gertig H., Maruszewska M., Przysławski J.: Wartość odżywcza całodziennych racji pokarmowych dzieci szkolnych. Część I. Składniki pokarmowe. *Żyw. Człow. Metab.*, 1997, **(24)**, **4**, 427-435.
- [5] Dybkowska E., Świdorski F., Waszkiewicz-Robak B.: Porównanie spożycia tłuszczu, izomerów *trans* i cholesterolu w diecie mieszkańców Warszawy w odniesieniu do polskiej racji pokarmowej. *Roczn. PZH.*, 2004, **(55)** **4**, 331-336.
- [6] Dybkowska E., Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F.: Assessment of *n-3* and *n-6* polyunsaturated fatty acid intake in the average Polish diet. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **4**, 409-414.
- [7] Gacek M., Fiedor M.: Ilościowa i jakościowa ocena zbiorowego żywienia młodzieży w wieku 16-18 lat na wakacyjnym obozie sportowym. *Roczniki PZH*, 2005, **(56)**, **3**, 253-258.
- [8] Gawęcki J., Hryniewiecki L. (pod red.): *Żywność człowieka. Podstawy nauki o żywieniu*. PWN, Warszawa 2000.
- [9] Iłow R., Regulska-Iłow B., Szymczak J.: Ocena sposobu żywienia chłopców ze szkół średnich z Głogowa i Lublina. Cz. II. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1999, **1**, 43-50.
- [10] Kolanowski W., Uchman Ż., Świdorski F.: Oszacowanie poziomu długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie dorosłych mieszkańców Warszawy. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004, **2**, 137-144.
- [11] Kozłowska-Wojciechowska M.: Kwasy tłuszczowe omega-3 we wtórnej prewencji chorób sercowo-naczyniowych. *Czynniki Ryzyka*, 2008, **1**, 50-54.
- [12] Leszczyńska T.: Ocena sposobu żywienia mieszkańców strefy ochronnej Huty im. T. Sendzimira. Cz. I. Energia oraz składniki podstawowe. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2001, **3**, 185-192.
- [13] Nazarewicz R., Babicz-Zielińska E., Oleradzka J.: Ocena sposobu żywienia dziewcząt na podstawie wywiadu z ostatnich 24 godzin. *Żyw. Człow. Metab.*, 2000, **Supl.**, 197-200.
- [14] Parizkova J.: Dietary habits and nutritional status in adolescents in Central and Eastern Europe. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2000, **1**, 36-40.
- [15] Pisulewski M.P., Achremowicz K., Kostogryś B.R., Franczyk M.: Biochemiczne mechanizmy prozdrowotnego oddziaływania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na stan zdrowia człowieka. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 2005, **6**, 101-116.
- [16] Przysiężna E., Kalisz P.: Oszacowanie zawartości tłuszczu w całodziennych racjach pokarmowych w stołówkach przy internatach. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2005, **3**, 241-246.
- [17] Przysiężna E., Banachowicz K.: Oszacowanie zawartości tłuszczu w dietach studentów. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2006, **3**, 229-236.
- [18] Przysławski J.: Wartość żywieniowa tłuszczów występujących w całodziennych racjach pokarmowych różnych grup ludności z rejonu Wielkopolski. Cz. V. Tłuszcze występujące w racjach pracowników niefizycznych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1992, **1**, 1-7.

- [19] Radzyńska M., Borejszo Z., Smoczyński S., Kurzyńska M.: Skład kwasów tłuszczowych w całodziennych posiłkach dzieci, uczniów i studentów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2** (43), 118-125.
- [20] Rekomendacje Grupy Ekspertów dotyczące spożycia i suplementacji diety kwasami omega-3 w populacji ludzi dorosłych. *Czynniki Ryzyka*, 2007, **1**, 5-6.
- [21] Report of the Sub-Committee on recommendations for intake of polyunsaturated fatty acids in healthy adults. ISSFAL, 2004.
- [22] Rogalska-Niedźwiedz M., Charzewska J., Wajszyzyk B., Chabros E., Lachowicz A.: Zmiany spożycia tłuszczu przez młodzież w latach 1982-1996. *Żyw. Człow. Metabol.* 1999, (26) **3**, 95-205.
- [23] Simopoulos A.P., Leaf A., Salem N.: Workshop on the essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *J. Am. Coll. Nutr.*, 1999, **5**, 487-489.
- [24] Smorzewska-Czupryńska B., Ustymowicz-Farbiszewska J., Kozłowska M., Karczewski J.: Ocena wartości energetycznej, zawartości kwasów tłuszczowych, cholesterolu i błonnika w diecie młodzieży gimnazjalnej zamieszkałej na terenie woj. podlaskiego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2006, **3**, 223-227.
- [25] Szponar L., Ciok J., Jarosz M., Dolna A., Ołtarzewski M.: Opcje polityki przeciwdziałania rosnącemu zagrożeniu otyłością. *Przekrojowe badania porównawcze (Polska). IŻŻ*, 2006.
- [26] Śmigiel-Papińska D.: Sposób żywienia uczniów klas pierwszych na przykładzie szkoły podstawowej z GOP-U. *Nowiny Lekarskie*, 1998, **2**, 194-200.
- [27] Trafalska E., Paradowska-Stankiewicz I., Grzybowski A.: Ocena wartości energetycznej i zawartości podstawowych składników odżywczych w całodzienniej racji pokarmowej wybranej grupy młodzieży. *Nowa Medycyna*, 2000, **108**, 12.
- [28] Waśkiewicz A.: Jakość zdrowotna racji pokarmowej mieszkańców prawobrzeżnej Warszawy w latach 1993-2001 - badania Pol-MONICA bis Warszawa. *Roczn. PZH.*, 2003, **2**, 197-205.
- [29] WHO/FAO Report on Joint WHO/FAO Expert Consultation. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Geneva 2003.
- [30] Ziemiański Ś. (pod red.): Normy żywienia człowieka. Fizjologiczne podstawy. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2001.

ASSESSING THE DIETARY INTAKE LEVEL OF TOTAL FATS AND FATTY ACIDS BY HIGH SCHOOL STUDENTS LIVING IN RURAL AREAS IN THE BESKID ŻYWIECKI REGION

S u m m a r y

The objective of this study was to assess the dietary intake level of: total fats, saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids, and cholesterol by the 16 to 18 year old high school students. The content of fats in average food rations of school students was 33.8 % of the total energy intake. The content levels of saturated (SFA) and monounsaturated (MUFA) fatty acids were close to the recommended levels (11.1 and 13.7 % of the energy value of food ration), whereas the content levels of poly-unsaturated acids from n-3 group, especially of docosahexanoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA), were too low (4.9 %). At the same time, it was found that the ratio of n-6 to n-3 acids was correct (~5 : 1). Thus, it would be reasonable to increase the consumption of fish and fish products.

Key words: high school students, daily food rations, total fat, fatty acids 

ELŻBIETA SIKORA, MIROSŁAW PYSZ, TERESA LESZCZYŃSKA

ZMIANY PODAŻY PODSTAWOWYCH GRUP PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH W GOSPODARSTWACH DOMOWYCH EMERYTÓW I RENCISTÓW W LATACH 1989-2004

Streszczenie

Celem podjętych badań było określenie zmian podaży podstawowych grup produktów spożywczych w gospodarstwach emerytów i rencistów, jakie miały miejsce na przestrzeni szesnastu lat, tj. od 1989 do 2004 r., a więc w okresie początku i stabilizacji gospodarki rynkowej w Polsce.

Materiał do badań stanowiły dane pochodzące z Roczników Statystycznych GUS z lat 1990-2005 z działu Budżety Gospodarstw Domowych, dotyczące podaży produktów zbożowych, mleka i przetworów mlecznych, mięsa i przetworów mięsnych, ryb i przetworów rybnych, masła i śmietany, jaj, innych tłuszczów, ziemniaków, owoców, warzyw i nasion roślin strączkowych oraz cukru i słodczy.

Proces urynkowienia gospodarski spowodował zarówno szereg pozytywnych, jak i negatywnych zmian w podaży grup produktów spożywczych. Do pozytywnych należy zaliczyć znaczne zmniejszenie podaży masła (50 %) i cukru (28 %), przy równoczesnym wzroście podaży owoców (25 %), zaś do negatywnych znaczne zmniejszenie podaży mleka i przetworów mlecznych (44 %), produktów zbożowych ogółem (20 %) oraz ziemniaków (33 %). W badanym okresie znacznym wahaniom podlegała podaż mięsa i przetworów mięsnych oraz ryb i przetworów rybnych. W konsekwencji jednak podaż mięsa wykazywała tendencję wzrostową zaś ryb spadkową.

Słowa kluczowe: podaż produktów spożywczych, emeryci i renciści, gospodarstwo domowe, Rocznik statystyczny GUS

Wprowadzenie

Obserwowany stały wzrost populacji osób starszych zarówno w Polsce, jak i na całym świecie spowodował, że czynnikiem wpływającym na proces starzenia się organizmu człowieka poświęca się coraz więcej uwagi. Zmiany fizjologiczne będące konsekwencją starzenia się ustroju mogą bezpośrednio wpływać na sposób żywienia, a w konsekwencji na stan odżywienia osób starszych. Wraz z wiekiem wzrasta zawar-

tość tłuszczu ustrojowego, z około 20 % w wieku 25 lat do około 36 % w wieku 70 lat i zmniejsza się zawartość tzw. tkanki aktywnej, głównie mięśniowej. W ustroju ludzi starszych zmniejszeniu do około 4 % ulega zawartość składników mineralnych – z około 6 % u ludzi młodych. W konsekwencji często dochodzi do demineralizacji układu kostnego [5, 14].

Szczególnie istotne zmiany zachodzą w układzie pokarmowym osób starszych. Mają one wpływ na procesy przyjmowania pożywienia, trawienia, wchłaniania oraz przyswajania składników pokarmowych. U osób tych obserwuje się też często ograniczenia w rozróżnianiu zapachu i smaku, co pociąga za sobą utratę apetytu. Zakłócenia w przyjmowaniu pożywienia są bardzo często wynikiem braków w uzębieniu. Prowadzi to do trudności w żuciu pokarmów, zaburzeń w trawieniu i wchłanianiu, a w następstwie do ich nietolerancji. Źle rozdrobnione pokarmy mogą powodować uczucie pełności i wzdęć w nadbrzuszu, często również niesmak w ustach, zwłaszcza po obfitym jedzeniu lub zdenerwowaniu. Rezultatem tego stanu jest ograniczenie spożycia wielu pełnowartościowych produktów, np. surowych warzyw i owoców, co zapoczątkowuje niedobory pokarmowe, pogłębiające i przyspieszające proces starzenia się ustroju [3, 5, 9, 14, 15, 17, 22].

Aktywność fizyczna ludzi w starszym wieku ulega znacznemu zmniejszeniu, osłabieniu ulega także siła mięśni oraz praca narządów wewnętrznych. Konsekwencją tego jest spowolnienie procesów przemiany materii o około 10 - 20 %, a tym samym zmniejszenie zapotrzebowaniu na energię oraz składniki odżywcze [5, 14, 15, 22].

Wiedza, że prawidłowe żywienie może łagodzić lub nawet znacznie ograniczyć wiele niekorzystnych objawów zdrowotnych ludzi w podeszłym wieku sprawia, że rośnie zainteresowanie problemami żywieniowymi tej grupy.

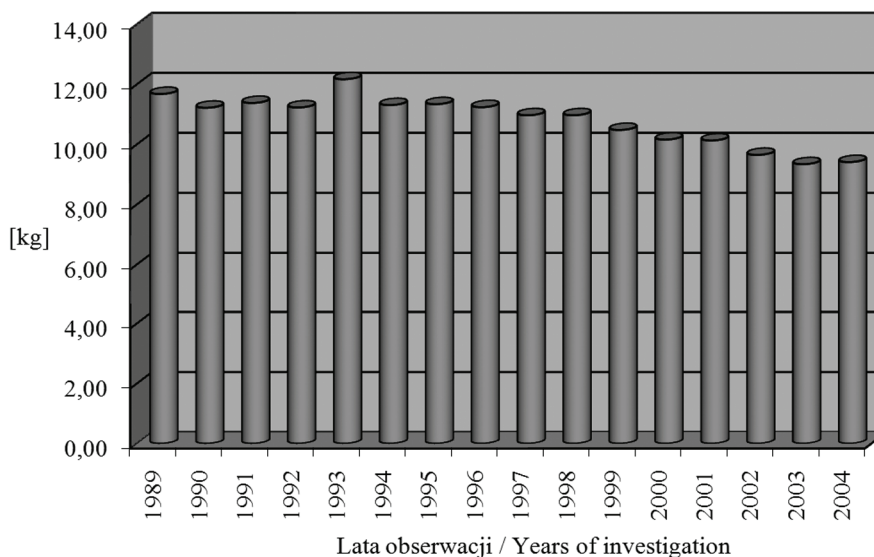
Dlatego celem podjętych badań było prześledzenie zmian podaży podstawowych grup produktów spożywczych w gospodarstwach emerytów i rencistów, jakie miały miejsce na przestrzeni szesnastu lat, tj. od 1989 do 2004 r., a więc w okresie początku i stabilizacji gospodarki rynkowej w Polsce.

Material i metody badań

Obliczeniową ocenę zmian podaży produktów zbożowych, mleka i przetworów mlecznych, mięsa i przetworów mięsnych, ryb i przetworów rybnych, masła i śmietany, jaj, innych tłuszczów, ziemniaków, owoców, warzyw i nasion roślin strączkowych oraz cukru i słodyczy w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w okresie od 1989 do 2004 roku przeprowadzono na podstawie danych pochodzących z Roczników Statystycznych GUS [13] z lat 1990 - 2005 z działu Budżety Gospodarstw Domowych.

Wyniki i dyskusja

Zmiany średniej miesięcznej podaży produktów zbożowych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989- 2004 przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Zmiany średniej miesięcznej podaży produktów zbożowych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

Fig. 1. Changes in average monthly supply of cereals in households of pensioners, in the years from 1989 to 2004.

Spożycie produktów zbożowych ogółem z przeciętną dzienną racją pokarmową na przestrzeni badanego okresu miało tendencję malejącą. Było to konsekwencją przede wszystkim znacznego zmniejszenia podaży mąki z około 2 kg/osobę/miesiąc w 1989 r. do ~1,5 kg/osobę w roku 2004 oraz mniejszego o 15 % spożycia pieczywa, którego spadek nastąpił dopiero po roku 1997. Spożycie kasz, ryżu i płatków na przestrzeni ostatnich 16 lat ulegało niewielkim wahaniom. W 1989 roku spożycie to wynosiło 0,9 kg/osobę/miesiąc, w kolejnych latach nastąpiło niewielkie zmniejszenie spożycia tych produktów do poziomu ~0,70 - 0,75 kg/osobę/miesiąc. Maksymalne spożycie kaszy, ryżu i płatków na poziomie 0,91 kg/osobę stwierdzono w roku 1993, od tego czasu następowało stałe zmniejszenie podaży tej grupy produktów zbożowych, aż do poziomu 0,7 kg/osobę/miesiąc w roku 2004. Spożycie makaronów, w odróżnieniu od pozostałych produktów spożywczych zaliczanych do grupy zbożowych, charakteryzowało się w badanym okresie znaczącym, równomiernym wzrostem. W ciągu tych szesnastu lat ich miesięczne spożycie wzrosło o ~108 % (z poziomu 0,23 kg/osobę, w 1988 r. do 0,5 kg/osobę w roku 2004). Główną przyczyną wzrostu sprzedaży maka-

ronów, ale równocześnie mniejszej podaży mąki mogło być pojawienie się na rynku bardzo szerokiego asortymentu tych wyrobów, znacznie przewyższającego swoimi walorami produkty dotychczas sprzedawane, co spowodowało częściową rezygnację z własnoręcznie przygotowywanych potraw i korzystanie z produktów gotowych.

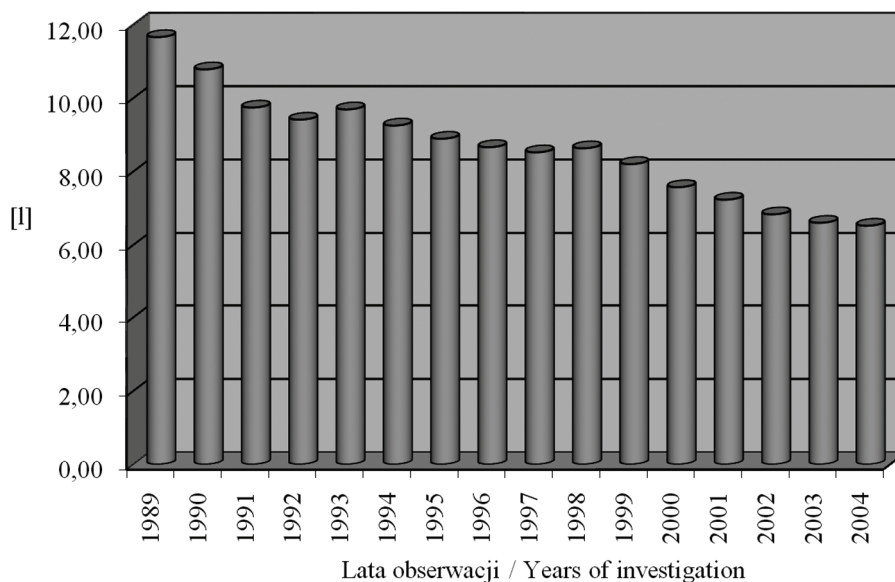
Podobne tendencje w spożyciu produktów zbożowych zaobserwowali autorzy międzynarodowego programu „MONICA” (Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease – „MONICA” WHO Project, w Polsce Pol-MONICA) realizowanego w latach 1984 - 1993 wśród mieszkańców prawobrzeżnej Warszawy w wieku 35 - 64 lat, (emeryci i renciści stanowili 27,8 % badanej populacji) [11]. W badaniach sposobu żywienia 70-letnich mieszkańców Warszawy Chwojnowska i wsp. [2] także zaobserwowali niskie spożycie produktów zbożowych. Mężczyźni realizowali normę na te produkty w 75 %, zaś kobiety w 47 %.

Niskie spożycie produktów spożywczych odnotowano również w badaniach indywidualnego spożycia żywności przeprowadzonych w 1990 r. wśród osób starszych w wieku 75 - 76 lat mieszkających w Markach k. Warszawy oraz w roku 1992 wśród 70-letnich mieszkańców Warszawy [21].

Zmiany średniej miesięcznej podaży mleka i napojów mlecznych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004 przedstawiono na rys. 2.

Mleko i napoje mleczne stanowią jeden z ważniejszych składników dobrze zbilansowanej diety ludzi starszych. Dlatego niepokojący jest fakt, że spożycie tej grupy produktów ciągle maleje. Od 1989 roku, kiedy średnie miesięczne spożycie mleka i napojów mlecznych wynosiło 11,7 litra/osobę/miesiąc, zaobserwowano 44 % spadek spożycia produktów tej grupy, do poziomu 6,5 litra/osobę/miesiąc w roku 2004. Jedynie spożycie serów od roku 1990 utrzymywało się na podobnym poziomie wynoszącym ~1 kg/osobę/miesiąc. Dowodzi to, że zmniejszeniu uległa głównie konsumpcja mleka spożywczego i napojów mlecznych.

Istotne zmniejszenie spożycia produktów mlecznych odnotowano także w badaniach Pol-MONICA [11]. Poniżej normy kształtowało się także spożycie tych produktów w badaniach sposobu żywienia ludzi starszych w Warszawie. W rezultacie stwierdzono niską podaż wapnia, głównie wśród kobiet, stanowiącą jedynie 63 % wartości normy. Takie spożycie przedłużające się w czasie może zwiększać ryzyko powstawania osteoporozy [2]. Średnie spożycie wapnia przez osoby badane w Polsce było jednym z najniższych w porównaniu ze spożyciem w innych krajach europejskich uczestniczących w programie SENECA (badającym sposób żywienia ludzi starszych metodą historii żywienia w trzynastu ośrodkach europejskich) [1]. Niskie spożycie produktów mlecznych odnotowano także w innych badaniach sposobu żywienia ludzi starszych w Polsce [21].



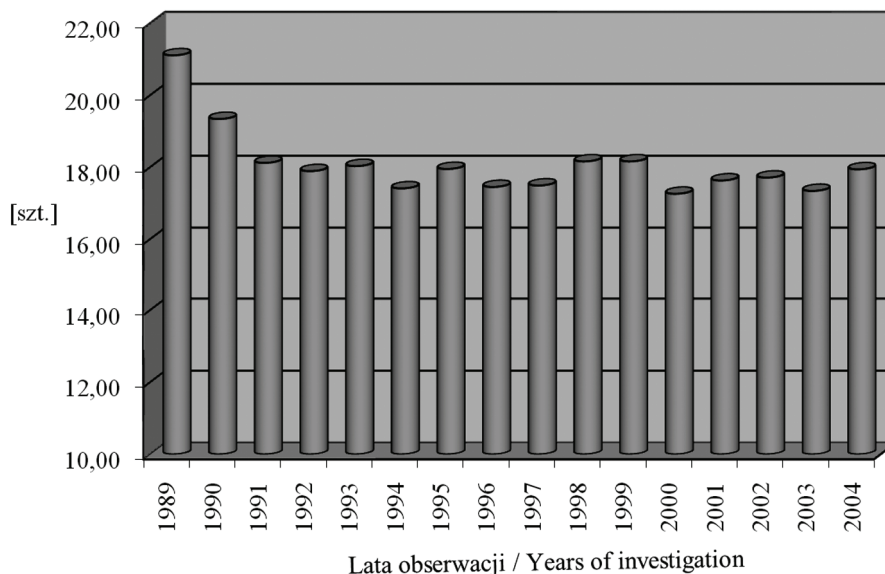
Rys. 2. Zmiany średniej miesięcznej podaży mleka i napojów mlecznych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

Fig. 2. Changes in average monthly supply of milk and milk-based drinks in households of pensioners, in the years from 1989 to 2004.

Zmiany średniej miesięcznej podaży jaj w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004 przedstawiono na rys. 3.

W badanym okresie stwierdzono znaczące zmniejszenie spożycia jaj w pierwszych trzech latach po urynkowaniu gospodarki z 21 szt./osobę/miesiąc do ~18 szt./osobę/miesiąc. W kolejnych latach, tj. od roku 1991 spożycie to utrzymywało się na podobnym poziomie wynoszącym 17-18 jaj/osobę/miesiąc.

Wyraźne tendencje malejące w spożyciu jaj zauważono w badaniach Pol-MONICA, zarówno w grupie emerytów i rencistów, jak i osób pracujących zarobkowo [11]. Poniżej normy (69 % jej wartości) kształtowało się również spożycie jaj przez badanych 70-letnich mieszkańców Warszawy, szczególnie przez mężczyzn [2]. Mniejsze spożycie jaj można tłumaczyć zmianami zaopatrzenia rynku oraz licznymi ogólnie dostępnymi informacjami w środkach masowego przekazu na temat szkodliwości nadmiernego spożywania jaj. Spadek ten można także tłumaczyć rezygnacją z samodzielnie przygotowywanych potraw, w których jaja odgrywają ważną rolę, w zamian za produkty gotowe, takie jak: kluski, pierogi, ciasta, makarony.



Rys. 3. Zmiany średniej miesięcznej podaży jaj w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

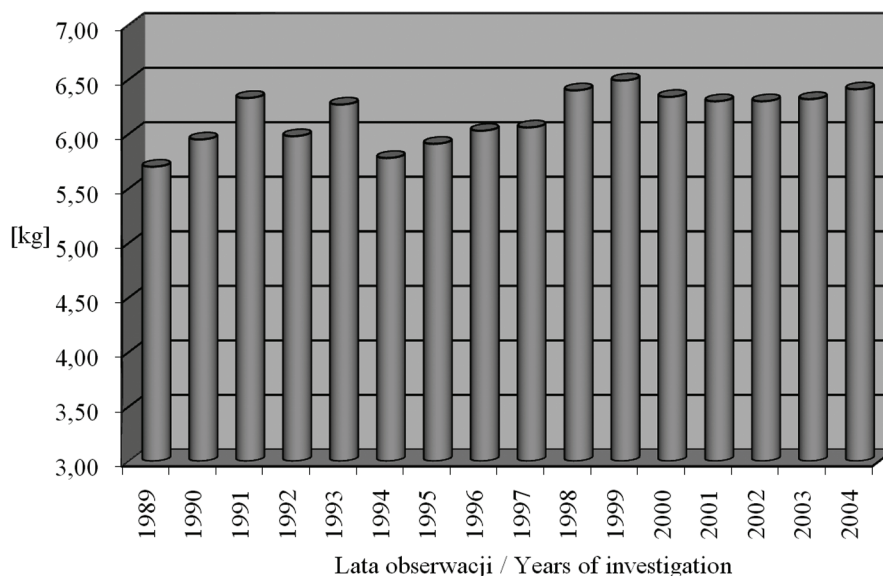
Fig. 3. Changes in average monthly supply of eggs in households of pensioners, in the years from 1989 - to 2004.

Zmiany średniej miesięcznej podaży mięsa i przetworów mięsnych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004 przedstawiono na rys. 4.

Udział tej grupy produktów w żywieniu emerytów i rencistów w szesnastoletnim okresie obserwacji kilkakrotnie ulegał wahaniom, przeważały jednak okresy wzrostu spożycia, które przypadały na lata 1989 - 1991 oraz 1994 - 1999. Dopiero od roku 2000 spożycie mięsa, podrobów i przetworów mięsnych zaczęło się stabilizować na poziomie 6,3 - 6,4 kg/osobę/miesiąc. Najmniejsze spożycie zanotowano w roku 1989 na poziomie 5,7 kg/osobę/miesiąc, zaś najwyższe w 1999 roku, 6,5 kg/osobę/miesiąc.

Istotne trendy wzrostowe spożycia produktów mięsnych w grupie emerytów i rencistów zaobserwowano także w badaniach Pol-MONICA [11]. Chwojnowska i wsp. [2] badając sposób żywienia 70-letnich mieszkańców jednej z warszawskich dzielnic stwierdzili, że spożycie mięsa i wędlin przez mężczyzn przekraczało o 38 % zalecaną dla tej grupy normę. Zaobserwowane zmiany w podaży mięsa, podrobów i przetworów mięsnych można tłumaczyć tym, że urynkwienie spowodowało poprawę zaopatrzenia rynku w mięso i przetwory, które przez szereg poprzednich lat należały do produktów reglamentowanych. Przyczyniło się to do wzrostu spożycia tych produktów, także w gospodarstwach emerytów i rencistów w początkowym okresie go-

spodarki rynkowej. W następnych latach popyt był z pewnością dostosowywany do ceny tych produktów, niemniej jednak spożycie produktów mięsnych utrzymywało się na dość wysokim poziomie, przy czym znaczny w nim udział miało mięso drobiowe i jego przetwory.



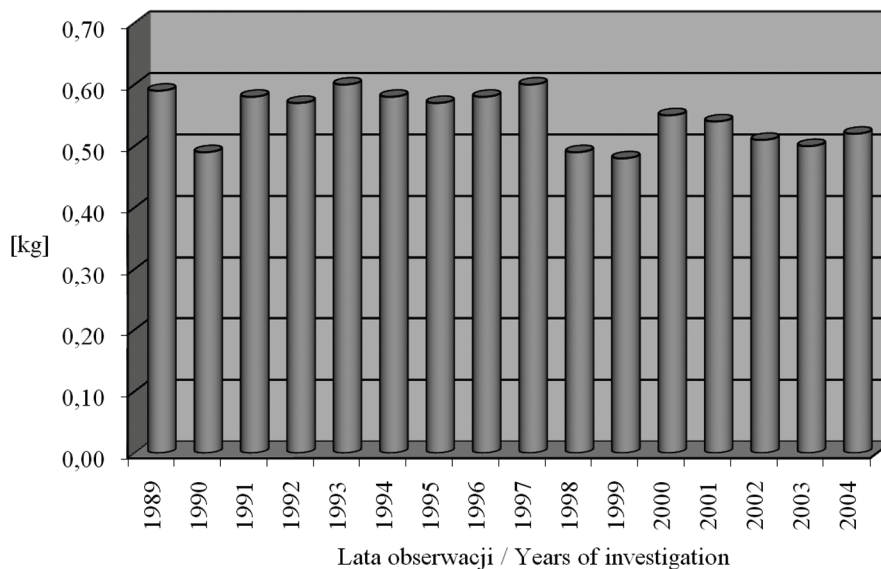
Rys. 4. Zmiany średniej miesięcznej podaży mięsa i przetworów mięsnych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

Fig. 4. Changes in average monthly supply of meat and meet products in households of pensioners, in the years from 1989 to 2004.

Zmiany średniej miesięcznej podaży ryb i przetworów rybnych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004 przedstawiono na rys. 5.

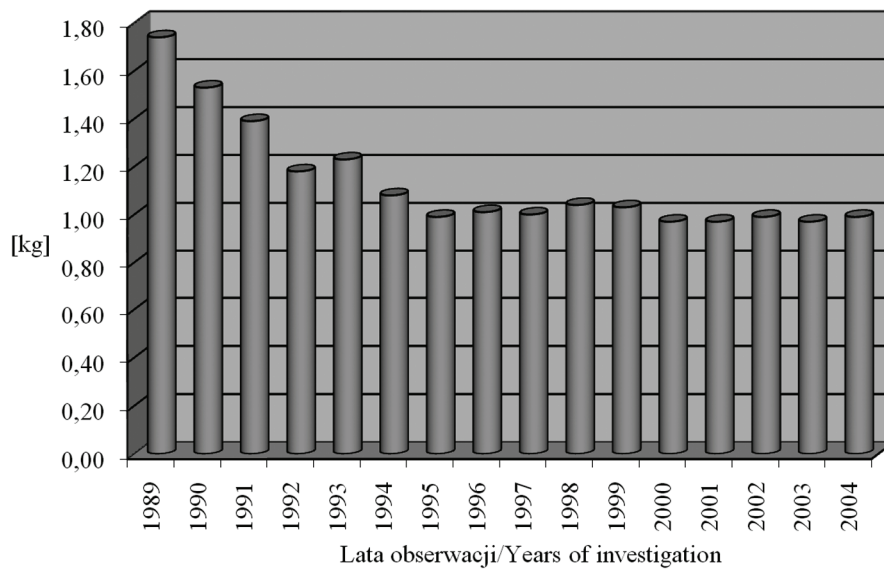
Ryby i przetwory rybne to produkty, których spożycie w Polsce jest stosunkowo niewielkie i takie też było w badanym okresie w gospodarstwach emerytów i rencistów. Wynosiło ono przeciętnie ~0,5 - 0,6 kg/osobę/miesiąc i do roku 1997 utrzymywało się na mniej więcej tym zbliżonym poziomie. W roku 1998 miesięczne spożycie ryb przez badaną grupę ludności zmniejszyło się do poziomu poniżej 0,5 kg/osobę, a w latach następnych było tylko nieznacznie wyższe. Emeryci i renciści rzadko włączali te wartościowe produkty do swojej diety, prawdopodobnie ze względu na ich stosunkowo wysoką cenę.

Zmiany średniej miesięcznej podaży masła i śmietany w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004 przedstawiono na rys. 6.



Rys. 5. Zmiany średniej miesięcznej podaży ryb i przetworów rybnych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

Fig. 5. Changes in average monthly supply of fish and fish products in households of pensioners, in the years from 1989 to 2004.

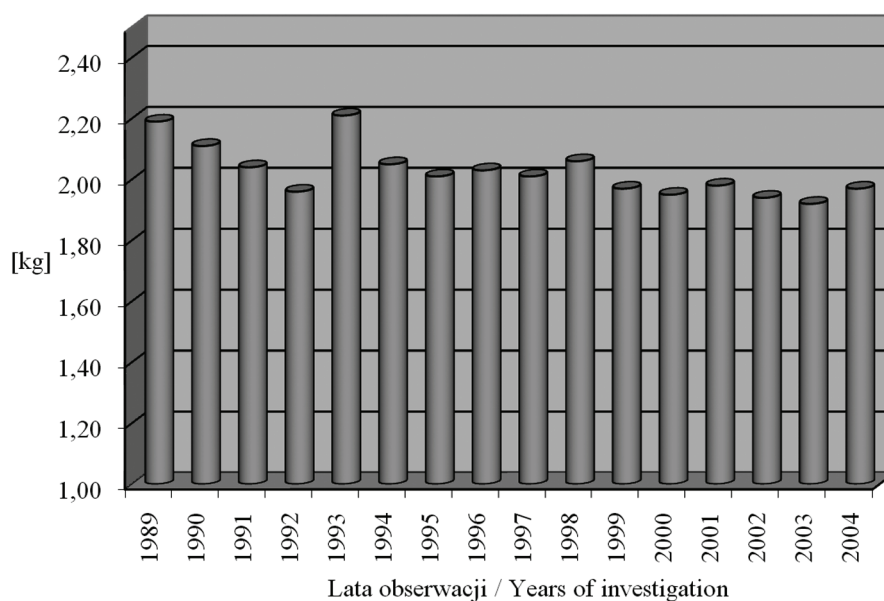


Rys. 6. Zmiany średniej miesięcznej podaży masła i śmietany w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

Fig. 6. Changes in average monthly supply of butter and cream in households of pensioners, in the years from 1989 to 2004.

W badanym okresie zaobserwowano znaczące zmiany w spożyciu tłuszczów mlecznych. Na przestrzeni badanych 16 lat spożycie masła i śmietany zmniejszyło się o ~43 %, z 1,74 kg/osobę/miesiąc w roku 1989 do 0,99 kg/osobę/miesiąc w roku 2004. Bardzo wyraźny spadek spożycia tych produktów zanotowano na początku lat dziewięćdziesiątych, w następnych latach, począwszy od roku 1994, ilość spożywanego masła i śmietany była zbliżona do 1,0 kg/osobę/miesiąc. Przyczyną tego znacznego spadku spożycia było najprawdopodobniej pojawianie się na rynku żywności dużego asortymentu margaryn miękkich, tańszych od masła, wzbogaconych w witaminy, o bardzo dobrych cechach sensorycznych. Dużą rolę w tej korzystnej dla starszych ludzi zmianie nawyków żywieniowych prawdopodobnie mogły odegrać media. Zarówno w audycjach radiowych i telewizyjnych oraz artykułach prasowych zaczęto wtedy podkreślać walory żywieniowe margaryn miękkich. Nie ulega wątpliwości, że były one także częścią intensywnej kampanii reklamowej tych produktów.

Podobne tendencje malejące w spożyciu masła na korzyść spożycia tłuszczów roślinnych zaobserwowano w całej populacji objętej badaniami Pol-MONICA [11]. Krajewski [8] analizując spożycie masła oraz tłuszczów roślinnych w badanych grupach ludności gospodarstw domowych również zaobserwował podobne zmiany w udziale tych produktów w żywieniu.



Rys. 7. Zmiany średniej miesięcznej podaży pozostałych tłuszczów jadalnych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

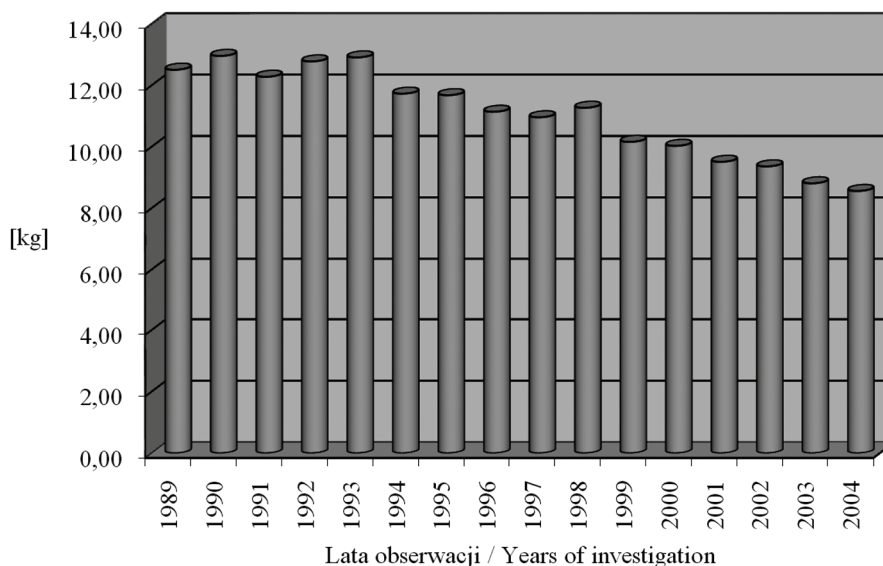
Fig. 7. Changes in average monthly supply of other fats in households of pensioners, in the years from 1989 to 2004.

Zmiany średniej miesięcznej podaży pozostałych tłuszczów jadalnych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004 przedstawiono na rys. 7.

Analizując przebieg wykresu trudno jednoznacznie określić kierunek zmian w spożyciu pozostałych tłuszczów jadalnych. Przeważały jednak tendencje spadkowe, chociaż zaobserwowane różnice nie były wielkie. W roku 1989 podaż tej grupy produktów spożywczych wynosiła 2,2 kg/osobę/miesiąc, w kolejnych latach następowało niewielkie, ale systematyczne zmniejszanie się spożycia tych tłuszczów, z wyjątkiem roku 1993, kiedy to odnotowano jednoroczny wyraźny wzrost spożycia innych tłuszczów do 2,2 kg/osobę/miesiąc. Od roku 1994 spożycie tych produktów oscylowało wokół wartości 2,0 kg/osobę/miesiąc.

Podobne wyniki uzyskali autorzy badań programu Pol-MONICA, którzy zauważyli statystycznie istotny spadek spożycia tłuszczów ogółem [11]. Według innych autorów, wraz z niewielkim spadkiem spożycia tłuszczów jadalnych w gospodarstwach emerytów i rencistów w latach 1990 - 1992, nastąpił wzrost spożycia tłuszczów roślinnych o około 30 % [4]. Podobne, pozytywne zmiany w spożyciu tłuszczów w gospodarstwach pracowniczych, pracowniczo-chłopskich, chłopskich oraz emerytów i rencistów zaobserwował Krajewski [8].

Zmiany średniej miesięcznej podaży ziemniaków w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004 przedstawiono na rys. 8.



Rys. 8. Zmiany średniej miesięcznej podaży ziemniaków w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

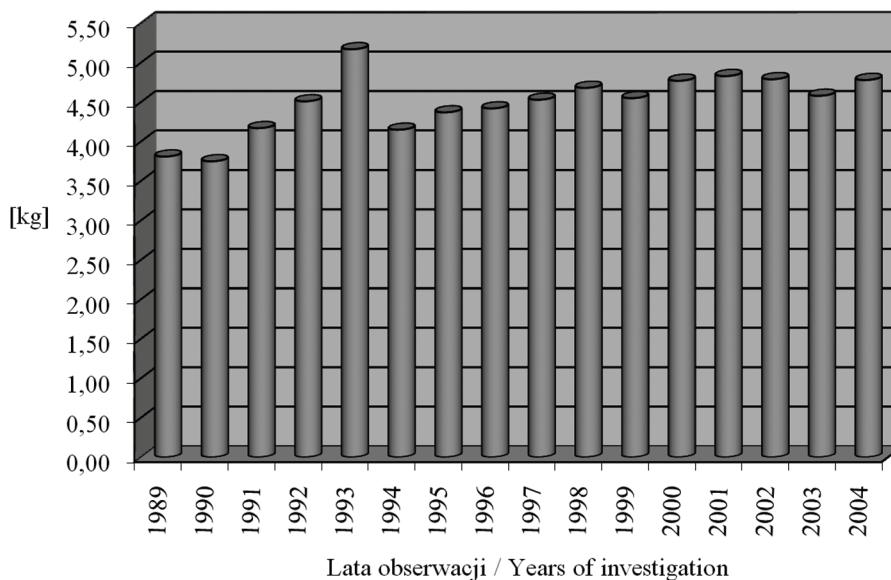
Fig. 8. Changes in average monthly supply of potatoes in households of pensioners, in the years from 1989 to 2004.

Ziemniaki to produkt spożywczy, który w Polsce zawsze był chętnie spożywany, przez wiele lat stanowił główne źródło witaminy C w diecie, stąd jego udział w dziennej racji pokarmowej jest bardzo znaczący. Z danych GUS-u wynika, że spożycie ziemniaków do 1993 roku utrzymywało się na podobnym poziomie, tj. powyżej 12 kg/osobę/miesiąc. Stopniowe zmniejszanie się ich spożycia rozpoczęło się w roku 1994, a w roku 2004 spożycie to było mniejsze o 33 %.

W populacji objętej badaniami Pol-MONICA zaobserwowano również spadek spożycia ziemniaków [11]. Zbyt niskie spożycie tego produktu stwierdzono wśród 70-letnich mieszkańców Warszawy, mężczyźni realizowali normę w 68 %, a kobiety tylko w 47 % [2]. Niskie spożycie ziemniaków przez osoby starsze odnotowano także w badaniach sposobu żywienia mieszkańców Warszawy i sąsiednich Marek [21]. Zjawisko to prawdopodobnie również wiąże się z dostępnością na rynku wielu innych atrakcyjnych artykułów, które zastąpiły tradycyjne ziemniaki.

Zmiany średniej miesięcznej podaży owoców w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004 przedstawiono na rys. 9.

W ostatnich, objętych badaniami, latach spożycie owoców wzrosło o ~25 % w porównaniu z rokiem 1989. Przyczyną tego zjawiska mogło być m.in. zwiększenie importu owoców cytrusowych, a w związku z tym większa dostępność szerszego asortymentu owoców przez cały rok i korzystne ich ceny.

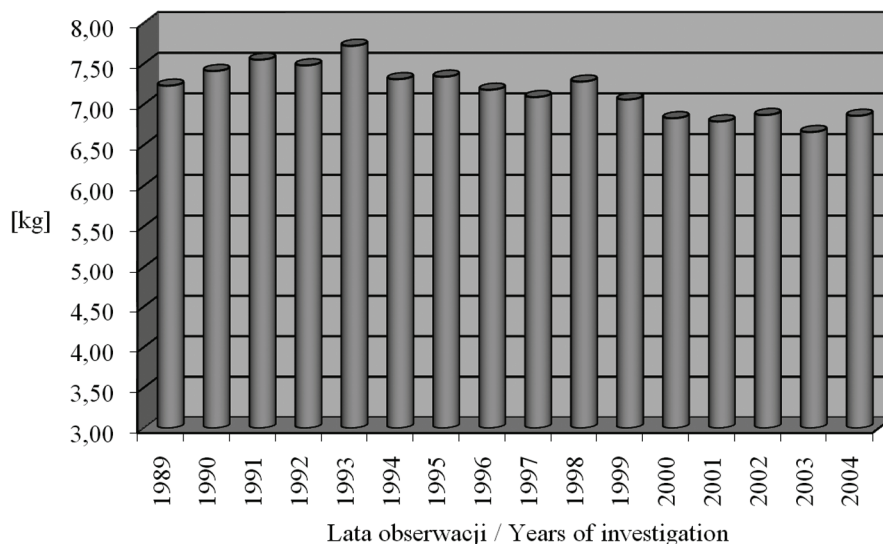


Rys. 9. Zmiany średniej miesięcznej podaży owoców w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

Fig. 9. Changes in average monthly supply of fruit in households of pensioners, in the years from 1989 to 2004.

Tendencje wzrostowe w spożyciu owoców odnotowano także w badaniach POLMONICA w całej badanej populacji [11]. Z badań budżetów gospodarstw domowych w latach 1990 - 1995 przeprowadzonych przez Kowrygo i wsp. [7] również wynikało, że spożycie owoców i ich przetworów wśród emerytów i rencistów wykazywało tendencję wzrostową. Do owoców najczęściej spożywanych w ww. gospodarstwach w 1992 roku należały: jabłka (41,4 %), owoce jagodowe (15,9 %) oraz owoce cytrusowe (11,4 %) [19].

Zmiany średniej miesięcznej podaży warzyw i nasion roślin strączkowych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004 przedstawiono na rys. 10.



Rys. 10. Zmiany średniej miesięcznej podaży warzyw i nasion roślin strączkowych w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

Fig. 10. Changes in average monthly supply of vegetables and legumes in households of pensioners, in the years from 1989 to 2004.

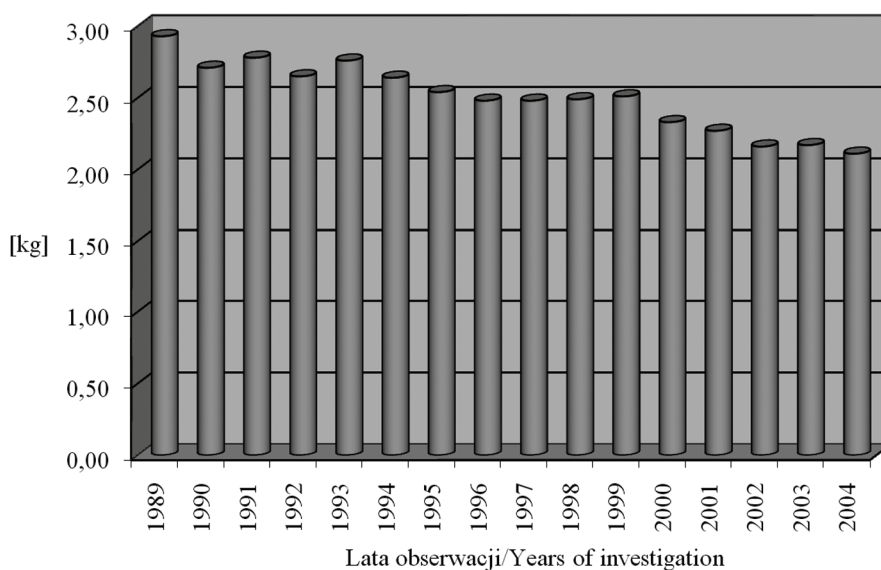
Analizowane dane statystyczne wskazują, że spożycie warzyw, grzybów i nasion roślin strączkowych przez ludzi starszych w latach 1989 - 2004 nie ulegało znaczącym zmianom. W początkowym okresie po urynkowaniu zanotowano niewielki wzrost spożycia tych produktów, o ~7 %, ale od 1994 roku zarysowała się niewielka tendencja spadkowa i począwszy od 2000 roku spożycie tych produktów wynosiło poniżej 7 kg/osobę/miesiąc.

W badaniach Kowrygo i wsp. [7] wykazano, że największe spożycie warzyw i ich przetworów, spośród wszystkich grup gospodarstw domowych, w latach 1990 i 1995, było w gospodarstwach emerytów i rencistów. Gospodarstwa te wyróżniały się

w wielkości konsumpcji prawie wszystkich podstawowych rodzajów warzyw, oprócz buraków [7]. Najczęściej spożywanymi warzywami w 1992 roku były: kapusta (15,9 %), pomidory (14,4 %) i marchew (12,6 %) [19].

Przegląd piśmiennictwa krajowego wskazuje na zbyt małe, w stosunku do zalecanej normy, spożycie warzyw i owoców wśród osób starszych, pomimo stwierdzonego przez zacytowanych powyżej autorów zauważalnego wzrostu ich spożycia na przestrzeni badanych lat [21].

Zmiany średniej miesięcznej podaży cukru w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004 przedstawiono na rys. 11.



Rys. 11. Zmiany średniej miesięcznej podaży cukru w gospodarstwach domowych emerytów i rencistów w latach 1989 - 2004.

Fig. 11. Changes in average monthly supply of sugar in households of pensioners, in the years from 1989 to 2004.

Analizowane w niniejszej pracy dane dotyczą jedynie spożycia cukru, brak jest natomiast danych o spożyciu produktów będących źródłem sacharozy, tj. słodczy, miodu, dżemów i wyrobów cukierniczych. Dlatego też informacje te nie przedstawiają pełnego obrazu spożycia produktów spożywczych z grupy „cukier i słodczy”. Z danych statystycznych wynika, że w spożyciu cukru w ostatnich 16 latach dokonały się pozytywne zmiany. Od 1989 roku, w którym emeryci i renciści spożywali cukier w ilości 2,9 kg/osobę/miesiąc, na skutek systematycznego zmniejszania się spożycia, w 2004 roku wynosiło 2,1 kg/osobę/miesiąc, czyli było o 28 % mniejsze. Zjawisko to może się wiązać z postępem niektórych chorób dietozależnych wśród ludzi w pode-

szłym wieku, przede wszystkim cukrzycy, jak również z lepszym dostępem do wygodnych słodzików.

Z badań nad sposobem żywienia ludzi starszych z Warszawy wynikało, że mężczyźni częściej spożywali cukier i słodycze, w wyniku czego przekraczali normę o 17 %, zaś kobiety realizowały normę tylko w 59 %. [2]. Małe spożycie cukru i słodyczy wśród ludzi starszych wykazano także w przeglądzie piśmiennictwa krajowego na przestrzeni lat [21].

Spożycie poszczególnych grup produktów spożywczych przez emerytów i rencistów zależy w dużej mierze od poziomu ich dochodów. Różnice pomiędzy najniższą a najwyższą grupą zamożności emerytów i rencistów są dosyć znaczne. Z danych statystycznych wynika, że w latach 1991 - 1992 wartość energetyczna dziennej racji pokarmowej w grupie o najniższej zamożności była o 21 % niższa od normy, a w grupie najzamożniejszej przewyższała normę o 32 %. W grupie osób o najniższych dochodach spożycie wszystkich podstawowych składników energetycznych kształtowało się poniżej normy: białka zwierzęcego o 20 %, białka roślinnego o 48 %, tłuszczów o 10 % i węglowodanów o 23 %. Natomiast w grupie o najwyższych dochodach spożycie białka zwierzęcego przekraczało normę o 70 %, tłuszczów o 59 % i węglowodanów o 19 % [4].

Rezultaty badań innych autorów dotyczących sposobu żywienia między innymi osób powyżej 60. roku życia dowodzą o powtarzających się nadal nieprawidłowościach. W większości z nich stwierdzano nadmierne spożycie białka i tłuszczów, co wpływało bezpośrednio na zbyt wysoką wartość energetyczną racji, a jednocześnie mniejsze spożycie węglowodanów w tym błonnika pokarmowego [12, 16, 18]. Niektóre badania wykazywały jednak mniejsze od zalecanych norm spożycie energii i podstawowych składników odżywczych [6, 10, 20]. Istniejące zatem w przeszłości i obecnie nieprawidłowości w żywieniu osób starszych wymagają korekty. Pomocna w tej mierze może być prozdrowotna edukacja żywieniowa, w postaci zwiększonej liczby publikacji w prasie codziennej, programów oświatowych poświęconych zasadom prawidłowego żywienia, uwzględniających problemy związane z wiekiem.

Wnioski

1. Proces urynkowania gospodarski spowodował zarówno szereg pozytywnych, jak i negatywnych zmian w podaży grup produktów spożywczych wśród emerytów i rencistów. Do pozytywnych należy zaliczyć znaczne zmniejszenie podaży masła (50 %) i cukru (28 %), przy równoczesnym wzroście podaży owoców (25 %), zaś do negatywnych znaczne zmniejszenie podaży mleka i przetworów mlecznych (44 %), produktów zbożowych ogółem (20 %) oraz ziemniaków (33 %).

2. Zmiana struktury spożycia produktów zbożowych dotyczyła zmniejszenia spożycia mąki (25 %) i pieczywa (15 %) przy równoczesnym dwukrotnym wzroście spożycia makaronów.
3. Znacznym wahaniom w badanym okresie podlegała podaż mięsa i przetworów mięsnych oraz ryb i przetworów rybnych. W konsekwencji podaż mięsa wykazywała tendencję wzrostową zaś ryb spadkową.

Literatura

- [1] Amorim Cruz J.A., Moreiras O., Brzozowska A.: Longitudinal changes in the intake of vitamins and minerals of elderly Europeans. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1996, **50** suppl. 2, 77-85.
- [2] Chwojnowska Z., Charzewska J., Rogalska-Niedźwiedz M., Chabros E., Wajszczyk B., Ziemiański Ś.: Ocena sposobu żywienia 70-letnich mieszkańców wybranej dzielnicy warszawskiej. *Żyw. Człow. Metab.*, 1993, **20**, 3, 189-200.
- [3] de Groot C.P., West C.E., van Staveren W.A.: Meeting nutrient and energy requirements in old age. *Maturitas*, 2001, **38**, 75-82.
- [4] Gulbicka B.: Stan wyżywienia społeczeństwa polskiego na początku lat dziewięćdziesiątych. *Przem. Spoż.*, 1993, **12**, 318-321.
- [5] Hasik J. (pod red.), Gawęcki J. (pod red.): *Żywność człowieka zdrowego i chorego*. Wyd. Nauk. PWN. Warszawa 2005.
- [6] Klebaniuk R., Kwiecień M., Matras J.: Proekologiczne modele odżywiania ludzi w wieku starszym. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003, **30**, 1/2, 353-356.
- [7] Kowrygo B., Sawicka B., Świstak E.: Zmiany w spożyciu owoców i warzyw w Polsce w latach 90. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1997, **3** (12), 61-69.
- [8] Krajewski K.: Wybrane czynniki kształtujące zmiany w spożyciu tłuszczów stołowych w Polsce w latach 1990-1995. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1996, **4** (9), 32-46.
- [9] Marshall T.A., Warren J.J., Hand J.S., Xie X.J., Stumbo P.J.: Oral health, nutrient intake and dietary quality in the very old. *J. Am. Dent. Assoc.*, 2002, **133**, 10, 1369-1379.
- [10] Myszowska-Ryciak J., Bujko J., Malesza M.: Ocena sposobu żywienia kobiet w podeszłym wieku zrzeszonych w Uniwersytecie Trzeciego Wieku w Warszawie. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003, **30**, 1/2, 357-361.
- [11] Pardo B., Sygnowska E., Waśkiewicz A., Piotrowski W., Broda G.: Zmiany spożycia żywności w populacji polskiej w latach 1984-1993. *Żyw. Człow. Metab.*, 1997, **24**, 1, 29-44.
- [12] Przysławski J., Grygiel B.: Ocena sposobu żywienia grup kobiet otyłych w okresie przed menopauzą i po menopauzie. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003, **30**, 1/2, 127-132.
- [13] *Roczniki statystyczne GUS z lat 1990-2005*.
- [14] Roszkowski W.: Specyfika żywienia ludzi starszych. *Przem. Spoż.*, 1997, **6**, 11-13, 38.
- [15] Sadowska J., Śliwińska U.: Ocena sposobu żywienia i stanu odżywienia osób w wieku starszym, zamieszkałych na terenach wiejskich. *Żyw. Człow. Metab.*, 2005, **32**, 3, 187-202.
- [16] Sikora E., Cieślak E., Filipiak-Florkiewicz A., Cetnarowicz I.: Ocena sposobu żywienia osób starszych zamieszkujących wybrane Domy Opieki Społecznej w Krakowie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1998, **4** (17), 61-69.
- [17] Szołtysek K.: Perspektywy i tendencje rozwoju produkcji żywności gerodietetycznej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **3** (28) Supl., 31-40.
- [18] Szponar L., Ołtarzewski M., Rychlik E.: Energia i białko w całodziennym pożywieniu różnych grup ludności w Polsce. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003, **30**, 1/2, 113-119.

- [19] Szponar L., Sekuła W.: Owoce, warzywa i ich przetwory w zapobieganiu i zwalczaniu chorób na tle wadliwego żywienia. *Żyw. Człow. Metab.*, 1994, **21**, 1, 64-78.
- [20] Wajszczyk B., Chwojnowska Z., Rogalska-Niedzwiedz M., Charzewska J., Chabros E., Kokosa J.: Sposób żywienia kobiet w wieku okołomenopauzalnym i pomenopauzalnym. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003, **30**, 1/2, 372-376.
- [21] Wierzbicka E., Brzozowska A., Roszkowski W.: Sposób żywienia oraz stan odżywienia ludzi starszych w Polsce w świetle danych z piśmiennictwa z lat 1980-1996. *Roczniki PZH*, 1997, **48**, 1, 87-101.
- [22] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: Żywnie a starość. Cz. I. Rola czynnika żywieniowego (energia, białko, tłuszcze, węglowodany) w procesie starzenia się organizmu. *Żyw. Człow. Metab.*, 1994, **21**, 3, 253-268.

CHANGES IN DAILY SUPPLY OF BASIC GROUPS OF FOOD PRODUCTS IN HOUSEHOLDS OF PENSIONERS IN THE YEARS FROM 1989 TO 2004


S u m m a r y

The objective of this study was to determine the changes in daily supply of basic groups of food products in households of pensioners during a sixteen year period from 1989 to 2004, i.e. at the beginning and stabilization of the market economy in Poland.

The research material included data from Statistical Yearbooks published from 1990 to 2005 by GUS (Central Statistical Office), Sections "Households Budgets". The data studied referred to the supply of cereals, milk and dairy products, meat and meat products, fish and fish products, butter and cream, eggs, other fats, potatoes, fruit, vegetables and legume, and sugar & sweets.

The process of market economy stabilization in Poland caused many positive and negative changes in the supply of food product groups. Amidst the positive changes, there are: essential decrease in the supply of butter (50 %) and sugar (28 %), and a simultaneous increase in the supply of fruit (25 %) whereas the negative changes involve a considerable decrease in the supply of milk and dairy products (44 %), total cereals (20 %), and of potatoes (33 %).

During the period studied, the supply of meat and meat products highly fluctuated as did the supply of fish and fish products. Generally, the supply of meat had an increasing tendency while the supply of fish – a decreasing tendency.

Key words: supply of food products, pensioners, household, Statistical Yearbooks published by CSO 

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP oraz w Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 30 września 2009 r.

Polskie akty prawne

1. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 2 lipca 2009 r. w sprawie minimalnej zawartości alkoholu w wyłokach i osadzie drożdżowym (Dz. U. 2009 r. Nr 113, poz. 943).
Zgodnie z rozporządzeniem, minimalna zawartość alkoholu w wyłokach i osadzie drożdżowym, uzyskanych podczas wyrobu wina z winogron zebranych z krzewów winorośli uprawianych na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, powinna wynosić nie mniej niż 0,4 % objętościowych.
2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 2 lipca 2009 r. w sprawie sposobu i miejsca pobierania próbek winogron, moszczu gronowego i wina gronowego w trakcie fermentacji oraz sposobu i miejsca ustalania naturalnej zawartości alkoholu w tych produktach (Dz. U. 2009 r. Nr 114, poz. 952).
Rozporządzenie określa sposób i miejsca pobierania próbek winogron, moszczu gronowego i wina gronowego w trakcie fermentacji oraz sposób i miejsca ustalania naturalnej zawartości alkoholu w tych produktach.
3. Ustawa z dn. 25 czerwca 2009 r. o rolnictwie ekologicznym (Dz. U. 2009 r. Nr 116, poz. 975).
Ustawa określa zadania oraz właściwość organów administracji publicznej i jednostek organizacyjnych w rolnictwie ekologicznym w zakresie wykonania przepisów rozporządzenia Rady (WE) nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie pro-

- dukcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylającego rozporządzenie (EWG) nr 2092/91.
4. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 21 lipca 2009 r. uchylające niektóre rozporządzenia w sprawie wymagań weterynaryjnych dla produktów pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. 2009 r. Nr 123, poz. 1024).
Traci moc prawną 7 rozporządzeń Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi dotyczących wymagań weterynaryjnych dla produktów pochodzenia zwierzęcego (produktów rybołówstwa; mięsa i wyrobów mięsnych).
 5. Ustawa z dn. 15 grudnia 2000 r. o Inspekcji Handlowej (Dz. U. 2009 r. Nr 151, poz. 1219).
Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 15 grudnia 2000 r. o Inspekcji Handlowej.
 6. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 3 września 2009 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie znakowania środków spożywczych (Dz. U. 2009 r. Nr 160, poz. 1271).
Wprowadzone zmiany dotyczą znakowania jaj, miodu i aromatów.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Komisji (WE) NR 606/2009 z dn. 10 lipca 2009 r. ustanawiające niektóre szczegółowe zasady wykonania rozporządzenia Rady (WE) nr 479/2008 w odniesieniu do kategorii produktów winiarskich, praktyk enologicznych i obowiązujących ograniczeń Dz. Urz. UE L 2009 r. Nr 193, s. 1).
Niniejsze rozporządzenie określa m.in. niektóre zasady:
 - sfery uprawy winorośli, z których wina mogą mieć całkowitą zawartość alkoholu nie większą niż 20 % obj.,
 - dozwolone praktyki enologiczne i ograniczenia,
 - eksperymentalne stosowanie nowych praktyk enologicznych,
 - praktyki enologiczne mające zastosowanie do kategorii win musujących,
 - praktyki enologiczne mające zastosowanie do win likierowych,
 - ogólne zasady dotyczące mieszania i kupażowania,
 - wymogi dotyczące czystości i tożsamości substancji stosowanych w praktykach enologicznych.
2. Rozporządzenie Komisji (WE) NR 607/2009 z dn. 14 lipca 2009 r. ustanawiające niektóre szczegółowe przepisy wykonawcze do rozporządzenia Rady (WE) nr 479/2008 w odniesieniu do chronionych nazw pochodzenia i oznaczeń geograficznych, określeń tradycyjnych, etykietowania i prezentacji niektórych produktów sektora wina (Dz. Urz. UE L 2009 r. Nr 193, s. 60).
W rozporządzeniu określono szczegółowe zasady dotyczące ochrony nazw pochodzenia i oznaczeń geograficznych, określeń tradycyjnych produktów oraz etykietowania i prezentacji niektórych produktów winiarskich. ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR

WSPÓŁCZESNY LEKSYKON WIEDZY O ŻYWNOSCI

Prezentujemy 39. część haseł *Współczesnego leksykonu wiedzy o żywności*. Druk leksykonu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 3 (28), 2001.

BIOAKUMULACJA / BIOACCUMULATION – skupianie, nagromadzanie, zdolność organizmów do akumulowania związków trujących w tkankach swego ustroju. Stężenie tych związków w tkankach może osiągnąć wyższy poziom niż w otaczającym je środowisku

CENTRUM STEREOGENICZNE / STEREOGENIC CENTRE – atom węgla, za sprawą którego cząsteczka nabiera cechy chiralności, nazywany atomem asymetrycznym (chiralnym) lub centrum stereogenicznym

CZYNNIKI CHAOTROPOWE / CHAOTROPIC AGENTS – związki, np. mocznik, chlorek lub tiocyjanian guanidyny, które osłabiają oddziaływania hydrofobowe, prawdopodobnie poprzez modyfikowanie struktury wody. W dużych stężeniach związki te powodują denaturację białek

ELUCJA BIOSPECYFICZNA / BIOSPECYFIC ELUTION – polega na zastosowaniu w eluencie małego stężenia substratu – lub jego analogu – zamiast soli wymywającej wszystkie białka

EUTROFIZACJA / EUTROPHICATION – proces prowadzący do nadmiernego przyrostu materii organicznej w zbiornikach wodnych. Zwiększona ilość soli mineralnych powoduje nadmierny rozwój glonów. Główną rolę w rozwoju eutrofizacji odgrywają fosforany i azotany dopływające do wód wraz ze ściekami

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

oraz spływające z pól nadwyżki nawozów mineralnych. Efektem tego jest gnicie materii organicznej, co powoduje zużywanie tlenu i może doprowadzić nawet do jego zaniku. Wtedy giną liczne organizmy m.in. ryby

FLOKULACJA / FLOCCULATION – proces łączenia się małych grup cząsteczek w większe zespoły (flokuly) łatwiej ulegające sedymentacji. Flokulacja jest wykorzystywana w oczyszczaniu wód ściekowych

HOMOLOGIA SEKWENCJI / HOMOLOGIES OF SEQUENCE – dotyczy podobieństwa sekwencji białek różnych antygenów, która warunkuje immunologiczne podobieństwo i reaktywność krzyżową (np. między różnymi trawami)

IMMUNOTERAPIA ALERGENOWA / ALLERGIC IMMUNOTHERAPY – jest szczególną metodą terapii stosowaną w leczeniu chorób alergicznych. Jej podstawową zasadą jest podawanie wzrastających, a następnie podtrzymujących dawek alergenu, który u pacjenta wywołuje objawy choroby alergicznej. Podawanie alergenu w miarę upływu czasu prowadzi do wzrastającej jego tolerancji. Immunoterapia alergenowa, tak jak każda metoda lecznicza, niesie z sobą ryzyko działań niepożądanych. Najczęściej powoduje występowanie uogólnione pokrzywki i reakcji astmatycznych

INDEKS HYDROPATII / HYDROPATHY INDEX – jest to typ skali, która powstała przez połączenie zmierzonych wartości entalpii swobodnej przejścia (np. podział aminokwasów między wodę i oktanol) z informacją o położeniu reszt danego aminokwasu w trójwymiarowej strukturze białek

INTERFERENT / INTERFERENT – składnik próbki, niebędący analitem, emitujący sygnał charakterystyczny dla analitu lub powodujący przez swoją obecność deformacje sygnału analitycznego, np. wzmocnienie lub tłumienie

LINKER / LINKER – szczepiacz, w chromatografii związek chemiczny pozwalający związać np. aminokwas z nośnikiem

OKLUZJA / OCCLUSION – mechaniczne zatrzymanie (zamknięcie) obcych jonów z roztworu macierzystego wewnątrz szybko rosnącego kryształu podczas strącania osadu związku trudno rozpuszczalnego. Powolny przebieg strącania zapobiega okluzji, i pozwala na otrzymanie czystych kryształów strącanego związku. Inne znaczenie okluzji dotyczy pochłaniania gazów przez substancje stałe np. wodoru przez pallad ☒

NOWE KSIĄŻKI

Sensoryczne badania żywności. Podstawy – metody – zastosowania

N. Baryłko-Pikielna, I. Matuszewska

Wydawnictwo: Wyd. Naukowe PTTŻ, Kraków 2009, ISBN 978-83-924646-9-3, stron 375, cena 59 zł

Zamówienia: e-mail: wnptz@wp.pl; fax: 012 293 50 54; tel.: 012 662 51 61

W książce przedstawiono aktualny stan wiedzy w zakresie podstaw badań sensorycznych żywności, warunków prawidłowego ich przeprowadzania oraz stosowanej metodyki i interpretacji uzyskanych wyników. Do opracowania monografii autorki wykorzystaly obszerną literaturę przedmiotu oraz wiedzę nabytą w ciągu wieloletniej pracy naukowej. Analityczne podejście do przedstawianych problemów, twórcza ich interpretacja i równoczesne ilustrowanie metod analizy sensorycznej licznymi przykładami zastosowań nadaje dziełu wymiar aplikacyjny.

Publikacja może stanowić cenny materiał źródłowy dla naukowców, posłuży jako pomoc dydaktyczna dla nauczycieli i studentów kształcących się na kierunkach związanych z naukami o żywności i żywieniu człowieka, umożliwi technologom dobór metod oceny sensorycznej zwłaszcza w projektowaniu nowych produktów żywnościowych, a także ułatwi podnoszenie kwalifikacji zawodowych pracownikom laboratoriów i zakładów przemysłu spożywczego.

Food Selection Preparation

[Wybór i przygotowanie żywności]

Conforti F.

Wydawnictwo: John Wiley & Sons, 2009, ISBN 978-0-8138-1488-9, stron 248, cena € 24,20

Zamówienia: Księgarnia Internetowa KLIO, kliosklep@kliosklep.pl

W książce przedstawiono podstawy i główne zasady przygotowywania żywności. Zawarto w niej wiedzę na temat składników żywności i ich funkcji odżywczych w zależności od natury produktu. Teorię wspomagają ćwiczenia, w których zamieszczono praktyczne wskazówki dotyczące przetwarzania żywności. Scharakteryzowano także procedury laboratoryjne. Wszystkie przepisy zostały poddane procesowi aktualizacji

w celu zapewnienia odpowiedniej jakości produktu, w tym jego cech prozdrowotnych. Uzupełnieniem publikacji jest słowniczek z objaśnieniami fachowej nomenklatury, istotnej z punktu widzenia poruszanej problematyki.

Process-induced Food Toxicants

[Substancje toksyczne w żywności powstające w procesie przetwarzania]

Stadler R.H.

Wydawnictwo: John Wiley & Sons, 2009, ISBN 978-0-470-07475-6, stron 723, cena € 115,0

Zamówienia: Księgarnia Internetowa KLIO, kliosklep@kliosklep.pl

W publikacji w sposób wyczerpujący dokonano przeglądu substancji toksycznych, które są generowane podczas przetwarzania żywności. Scharakteryzowano w niej różne metody przetwarzania stosowane w produkcji żywności, w tym obróbkę cieplną, suszenie, fermentację, konserwację, przetwórstwo tłuszczowe i przetwórstwo z wykorzystaniem wysokiego ciśnienia hydrostatycznego. Każda z tych metod stwarza ryzyko powstawania potencjalnych substancji zanieczyszczających, takich jak: akryloamid, heterocykliczne aminy aromatyczne (HAAs), policykliczne węglowodory aromatyczne (PAHs), furany, hydroksymetylofurfural (HMF), końcowe produkty zaawansowanej glikacji (AGEs), karbaminian etylu (uretan), nitrozoaminy, kwasy tłuszczowe trans i inne. W książce omówiono analizę, tworzenie, zagrożenia dla zdrowia oraz zarządzanie ryzykiem w przypadku każdego niebezpiecznego związku. Omówione także nowe technologie i ich wpływ na składniki odżywcze i alergen.

Health Benefits of Organic Food

[Walory zdrowotne żywności naturalnej]

Givens D.

Wydawnictwo: CAB International, 2008, ISBN 978-1-84593-459-0, stron 352, cena € 92,90

Zamówienia: Księgarnia Internetowa KLIO, kliosklep@kliosklep.pl

Obawy zdrowotne i środowiskowe związane ze skutkami stosowania różnych środków chemicznych w produkcji roślinnej i zwierzęcej doprowadziły do zwiększenia popytu na produkty naturalne. Są one zwykle promowane i często postrzegane jako zawierające mniej substancji zanieczyszczających, a więcej składników odżywczych oraz mające pozytywny wpływ na środowisko przyrodnicze. W książce omówiono tak kluczowe problemy, jak: rola niektórych składników pokarmowych w zapobieganiu i wzmaganiu chorób przewlekłych, potencjalne korzyści zdrowotne ze związków bioaktywnych w roślinach, występowanie w żywności pestycydów i patogenów oraz lokalne i global-

ne czynniki środowiskowe, które mogą wpływać na ewentualne różnice między żywnością ekologiczną a produkowaną w sposób konwencjonalny.

Żywienie w sporcie. Kompletny przewodnik

Bean A.

Wydawnictwo: Zysk i S-ka; Warszawa 2008, ISBN: 978-8-37506-221-2; stron 318, cena 46,00 zł

Książka może być przydatna dla tych czytelników, których interesuje zwiększenie siły i wytrzymałości, czyli cech decydujących o wydolności sportowej – własnej lub podopiecznych. W niniejszym wydaniu zamieszczono przydatne informacje, pozwalające: 1) obliczyć własne zapotrzebowanie kaloryczne, węglowodanowe oraz białkowe; 2) poprawić nawodnienie organizmu i wygląd sylwetki; 3) ocenić oraz znaleźć odpowiednie suplementy, odżywki i środki podwyższające sprawność organizmu, powodujące dodatkowe wspomaganie i poprawiające wydolność; 4) stworzyć codzienne plany żywieniowe, dzięki którym (zależnie od potrzeb) można zredukować tkankę tłuszczową, zyskać masę mięśniową lub lepiej przygotować kondycję organizmu przed zawodami. Podręcznik pomoże znaleźć odpowiedzi na pytania związane nie tylko z żywieniem sportowców, ale także aktywnych ruchowo dzieci oraz wegetarian uprawiających sport.

Opracował: *Stanisław Popek*

XXXIX SESJA KOMITETU NAUK O ŻYWNOSCI PAN „POSTĘP W WYTWARZANIU I OCENIE ŻYWNOSCI”

W dniach 29.06 - 01.07. 2009 r., w Poznaniu, odbyła się XXXIX Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN, zorganizowana przez poznańskie środowisko naukowe reprezentowane przez Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz Oddział Wielkopolski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności.

W Sesji udział wzięło 220 osób ze wszystkich krajowych ośrodków akademickich i instytutów prowadzących badania w zakresie szeroko rozumianej nauki o żywności i żywieniu. Program Sesji obejmował obrady plenarne oraz obrady w czterech sekcjach tematycznych, realizowane w formie sesji referatowych i posterowych.

W ramach obrad plenarnych uczestnicy Sesji wysłuchali czterech wykładów.

Pierwszy z nich, przedstawiony przez prof. dr Iciar Martinez z Norwegii reprezentującą Uniwersytet w Tromsø oraz organizację naukowo-badawczą SINTEF Fisheries and Aquaculture, dotyczył tematu „Analytical methodologies suitable to verify traceability information” (Metodologia w badaniach mających na celu weryfikację informacji określających pochodzenie). Autorka przedstawiła zagrożenia bezpieczeństwa żywnościowego i najnowsze osiągnięcia i metody mające zastosowanie w identyfikacji pochodzenia surowca.

Drugi wykład nt. „Rola innowacji w gospodarce europejskiej” wygłosił prof. dr hab. Henryk Górecki z Instytutu Technologii Nieorganicznej Nawozów Mineralnych Politechniki Wrocławskiej. Autor przedstawił ideę innowacyjności i jej realizację w realiach naukowo-gospodarczych Unii Europejskiej i na tej podstawie omówił sytuację w naszym kraju.

W trzecim wykładzie pod tytułem „Dokąd zmierzają badania nad aromatem żywności?” prof. dr hab. Henryk Jeleń z Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu przedstawił historię, drogi rozwoju oraz współczesne trendy i problemy w badaniach aromatów i ich przemian w drodze od surowca do produktu.

Ostatni wykład plenarny nt. „Nowe trendy w suszeniu żywności”, autorstwa prof. dr hab. Doroty Witrowej-Rajchert i prof. dr hab. Andrzeja Lenarta z Katedry Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji SGGW, dotyczył m.in. współczesnych rozwiązań systemów suszenia i monitorowania ich przebiegu w odniesieniu do wybranych surowców.

Wykłady plenarne cieszyły się dużym zainteresowaniem i wywoływały ożywioną dyskusję wśród uczestników Sesji, zarówno po ich wysłuchaniu, jak i w kularach.

Na konferencję zgłoszono ogółem 230 doniesień naukowych, w tym 41 referatów i 189 posterów. Najliczniej prezentowano prace z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego, Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie oraz z Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego.

Autorzy przedstawili bardzo szeroki zakres tematyczny, obejmujący z pewnością tylko część problematyki badawczej, którą zajmują się ich macierzyste jednostki.

W sekcji A: „Jakość żywności w żywieniu człowieka” tematyka 17 referatów i 31 posterów dotyczyła wybranych aspektów jakości przetworów spożywczych, szczególnie nowych oraz zachowań i postaw konsumentów wobec różnych grup produktów spożywczych. Przedmiotem analiz były składniki odżywcze, składniki aktywne biologicznie i zanieczyszczenia chemiczne. Najczęściej badanymi produktami były miody i ich przetwory.

W sekcji B: „Biotechnologia żywności” zakres tematyczny 7 referatów i 50 plakatów obejmował głównie obszar badań genetycznych, enzymologię, procesy fermentacyjne i syntezę związków chemicznych o określonych właściwościach oraz badanie aktywności przeciwbakteryjnych substancji pochodzenia naturalnego. W sekcji prezentowane były również prace związane z biotechnologią środowiskową.

W sekcji C: „Technologia przetwórstwa surowców pochodzenia roślinnego” zakres tematyczny 10 doniesień ustnych i 70 posterowych był również bardzo szeroki i obejmował wybrane procesy technologiczne, ocenę właściwości przeciwutleniających surowców roślinnych oraz właściwości fizycznych, a także ocenę towaroznawczą. Prezentowano wyniki badań dotyczące głównie owoców i warzyw oraz produktów zbożowych.

W sekcji D: „Technologia przetwórstwa surowców pochodzenia zwierzęcego” w 7 referatach i na 27 posterach zaprezentowano wyniki badań o charakterze technologicznym oraz dotyczących oceny jakości różnych surowców, mianowicie mięsa wieprzowego, wołowego, jagnięcego, drobiowego oraz masła i mleka. Tematyka była bardzo zróżnicowana, a dotyczyła jakości mięsa oraz wędlin, zastosowania różnego rodzaju dodatków, głównie preparatów otrzymanych z MOM-u. Prezentowano także prace dotyczące zanieczyszczenia surowców i przetworów insektycydami chloroorganicznymi oraz aminami heterocyklicznymi.

Zdecydowana większość prac prezentowanych w poszczególnych sekcjach wykonana była na dobrym i bardzo dobrym poziomie. Stosowano w nich metody badań wykorzystujące sprzęt najnowszej generacji. Wyniki badań po ich opublikowaniu stanowiąc będą źródło cennych informacji dla rozwoju nauk o żywności oraz dla praktyki przemysłowej. Większość referatów przedstawiana była przez młodych pracowników naukowych, w tym również przez doktorantów. Jest to pozytywny przykład ciągłości pokoleniowej w rozwoju nauki o żywności i żywieniu. Należy podkreślić, że obok wysokiej wartości merytorycznej, wystawiane plakaty oraz materiały ilustracyjne do referatów charakteryzowały się z reguły bardzo wysokim poziomem edytorskim.

Wśród pozamerytorycznych elementów programu Sesji należy podkreślić zorganizowaną pierwszego dnia wizytę w Bazie Wojsk Lotniczych w Krzesinach. Uczestnicy mieli niepowtarzalną okazję obejrzeć w powietrzu i na ziemi myśliwce F16, a także usłyszeć wiele interesujących informacji na ich temat z ust najlepszych fachowców – pilotów, na co dzień użytkujących te maszyny.

Zbigniew Czarnecki, Bożena Danyluk, Jan Michniewicz

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 19 Nr 5

październik 2009

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 27.10. br. odbyło się ostatnie w tej Kadencji posiedzenie Zarządu Głównego Towarzystwa, na którym omówiono przede wszystkim sprawy związane z przebiegiem Walnego Zebrania delegatów, które odbędzie się pod koniec roku.

Oddział Szczeciński

W dniu 25.05.2009 r. odbyło się zebranie sprawozdawczo-wyborcze Oddziału Szczecińskiego PTTŻ. Nowym prezesem Oddziału został dr inż. Arkadiusz Żych.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYNARODOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2010 r.

Czerwiec

23 – 24 POZNAŃ = IV Międzynarodowa Konferencja Naukowa z cyklu „Mięso w przetwórstwie i żywieniu człowieka” nt.: „Uwarunkowania produkcji mięsa i przetworów mięsnych w świetle przesłań tradycji i współczesnych oczekiwań”. Organizatorzy: Instytut Technologii Mięsa UP w Poznaniu, Oddział Wielkopolski PTTŻ i IUFoST.

Kontakt: www.up.poznan.pl/meat2010

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, RAISIO POLSKA FOODS Sp. z o.o. Karczew, FRITO – LAY POLAND Sp. z o.o. Grodzisk Mazowiecki, HORTIMEX Sp. z o.o. Konin.**

Przy Oddziale Łódzkim: **POLFARMEX S.A.**

Przy Oddziale Małopolskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO BIELMAR Sp. z o.o., Bielsko-Biała.**

Przy Oddziale Szczecińskim: **TECHNEX Sp. z o.o., Szczecin.**

Przy Oddziale Warszawskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO S.A., WARSZAWA.**

Przy Oddziale Wielkopolskim: **PRZEDSIĘBIORSTWO PRZEMYSŁU FERMENTACYJNEGO „AKWAWIT” S.A., Leszno, HORTIMEX Sp. z o.o., Konin, SŁAWSKI ZAKŁAD PRZETWÓRSTWA MIĘSA I DROBIU s.c. „BALCERZAK I SPÓŁKA”, Wróblów k. Sławy, POZMET S.A., Poznań.**

Przy Oddziale Wrocławskim: **REGIS Wieliczka.**

Material zawarty w Nr 5 (66)/2009 Biuletynu podano według stanu informacji do 1 października 2009 r. Materiały do Nr 6(66) /2009 prosimy nadsyłać do 1 grudnia 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**

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

PREZES / ODDZIAŁ	ADRES
Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska Prezes PTTŻ	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 022 843 87 11 e-mail: danuta_kolozyn_krajewska@sggw.pl
Dr inż. Stanisław Kalisz Sekretarz PTTŻ	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA e-mail: stanislaw_kalisz@sggw.pl
Dr hab. Maria Śmiechowska, prof. AM Oddział Gdański	AM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: 058 690 15 62; e-mail: smiemari@am.gdynia.pl
Dr inż. Joanna Stadnik Oddział Lubelski	UP, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN Tel.: 081 462 33 41; e-mail: joanna.stadnik@up.lublin.pl
Prof. dr hab. Lucjan Krala Oddział Łódzki	PL, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ Tel.: 042 631 34 54 (66); e-mail: lucjan.krala@p.lodz.pl
Dr hab. inż. Grażyna Jaworska, prof. UR Oddział Małopolski	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW Tel. 012 662 47 54; e-mail: rrgjawor@cyf-kr.edu.pl
Dr hab. Katarzyna Majewska, prof. UWM Oddział Olsztyński	UWM, ul. Słoneczna 44A, 10-718 OLSZTYN Tel.: 089 523 41 70; e-mail: kasia@uwm.edu.pl
Dr inż. Arkadiusz Żych Oddział Szczeciński	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 3, 71-550 SZCZECIN Tel.: 091 449 66 00 wew. 6583; e-mail: arkadiusz.zych@zut.edu.pl
Dr inż. Dorota Nowak Oddział Warszawski	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 022 593 75 62; e-mail: dorota_nowak@sggw.pl
Dr hab. Grażyna Lewandowicz, prof. UP Oddział Wielkopolski	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 061 846 60 03, e-mail: prezes.ow.pttz@gmail.com
Dr hab. inż. Agnieszka Kita Oddział Wrocławski	UP, ul. Norwida 25/27, 50-375 WROCŁAW Tel.: 071 320 50 38; e-mail: agnieszka.kita@wnoz.up.wroc.pl
SEKCJE	
Doc. dr hab. Renata Jędrzejczak Analizy i Oceny Żywności	IBPRS, ul. Rakowiecka 36, 02-532 WARSZAWA Tel. 022 849 02 24; 0606 38 76; Fax: 022 849 04 26
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	WSliZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 022 646 20 60; e-mail: krajewski@wsiiz.pl
Prof. dr hab. Edward Pospiech Technologii Mięsa	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 061 848 72 60; e-mail: pospiech@up.poznan.pl
Prof. dr hab. Krzysztof Krygier Chemii i Technologii Tłuszczów	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 022 847 58 17; E-mail: krzysztof_krygier@sggw.pl
Prof. dr hab. Waław Leszczyński Technologii Węglowodanów	UP, ul. Norwida 25/27, 50-375 WROCŁAW Tel.: 071 320 52 21; Fax: 071 320 52 73
Prof. dr hab. Janusz Czapski Technologii Prod. Poch. Roślinnego	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 061 848 72 72; e-mail: czapski@up.poznan.pl
Dr inż. Katarzyna Marciniak-Łukasiak Młodej Kadry Naukowej	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA e-mail: katarzyna_marciniak_lukasiak@sggw.pl