



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 4 (71)

Kraków 2010

Rok 17

Redaktor naczelny: prof. dr hab. Tadeusz Sikora; tel./fax 12/ 293-50-54

Sekretarz redakcji: dr Ewa Ślawska; tel. 12/ 662-51-61
e-mail: wnpttz@wp.pl; ewaslawska@wp.pl

Redaktorzy: prof. dr hab. Bohdan Achremowicz, prof. dr hab. Włodzimierz Grajek,
prof. dr hab. Danuta Kolożyn-Krajewska, prof. dr hab. Bogusław Król, prof. dr hab. Krzysztof
Krygier, prof. dr hab. Mieczysław Pałasiński, prof. dr hab. Stefan Ziajka

Stali współpracownicy: prof. dr hab. Jacek Kijowski (Poznań), dr Grażyna Morkis (Warszawa),
dr inż. Anna Gręda (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. Józef Fornal, prof. dr hab. Teresa
Fortuna, prof. dr hab. Jan Gawęcki, 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. Piotr
Przybyłowski, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, prof. dr hab. Zdzisław Targoński,
prof. dr hab. Tadeusz Trziszka, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz, prof. dr hab. Erwin Wąsowicz

KONSULTANCI NAUKOWI: prof. dr hab. Zbigniew Duda, prof. dr hab. Adolf Horubała,
prof. dr hab. Jan Kiswa, prof. dr hab. Helena Oberman

RADA KONSULTACYJNA: prof. dr Henryk Daun (USA), prof. dr Jerzy Jankun (USA),
prof. dr Józef Korolczuk (Francja), prof. dr Marian Naczka (Kanada), prof. dr Jan Pokorny
(Czechy), prof. dr Roman Przybyłski (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 2010

Printed in Poland

Wydawanie publikacji dofinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wzwyższego

ISSN 1425-6959

ADRES REDAKCJI:

31-425 KRAKÓW, AL. 29 LISTOPADA 46

Nakład: 650 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 4 (71)

Kraków 2010

Rok 17

SPIS TREŚCI

Od Redakcji	3
ADRIANA NOWAK, KATARZYNA ŚLIŻEWSKA, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ: Probiotyki – historia i mechanizmy działania	5
ADRIANA NOWAK, KATARZYNA ŚLIŻEWSKA, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ, JERZY SOCHA: Probiotyki – efekty zdrowotne	20
JERZY SZPENDOWSKI, BOGUSŁAW STANIEWSKI, KRZYSZTOF BOHDZIEWICZ, KRZYSZTOF SIEMIANOWSKI, EMIL SZYMAŃSKI: Wpływ ekstruzji na właściwości fizykochemiczne i czystość mikrobiologiczną kazeiny	37
PIOTR DOMARADZKI, PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK, ZYGMUNT LITWIŃCZUK: Związek kolagenu z wybranymi parametrami technologicznymi mięsa cielęcego	50
EUGENIUSZ R. GREŁA, RYSZARD K. PISARSKI, EDYTA KOWALCZUK-VASILEV, AGATA RUDNICKA: Zawartość składników odżywczych, mineralnych i profil kwasów tłuszczowych w mięsie wybranych gatunków ryb w zależności od terminu odłowu	63
TERESA JAŚKIEWICZ, AGNIESZKA SAGAN, ANDRZEJ MASŁOWSKI: Wpływ czasu autoklawowania nasion krajowych odmian soi na zawartość lizyny reaktywnej	73
ELŻBIETA KLIMCZAK, BOGUSŁAW KRÓL: Oznaczanie zawartości różnych form kwasu elagowego w ubocznych produktach przerobu truskawek	81
ALICJA Z. KUCHARSKA, KATARZYNA KOWALCZYK, AGNIESZKA NAWIRSKA-OLSZAŃSKA, ANNA SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA: Wpływ dodatku aronii, truskawek i malin na skład fizykochemiczny przecieru dereniowego	95
BEATA SPERKOWSKA, GRZEGORZ BAZYŁAK: Wpływ warunków ekstrakcji na zawartość rozpuszczalnych szczawianów w wodnych naparach herbat zielonych i herbatek ziołowych	107
BARBARA WÓJCIK-STOPCZYŃSKA, PAULINA JAKOWIENKO, DOROTA JADCZAK: Ocena mikrobiologicznego zanieczyszczenia świeżej bazylii i mięty	122
RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA, ANETA KOPEĆ: Suplementacja diety studentów wyższych uczelni województwa małopolskiego witaminami i/lub składnikami mineralnymi	132
EWA BABICZ-ZIELIŃSKA, MARZENA JEŻEWSKA-ZYCHOWICZ, WACŁAW LASKOWSKI: Postawy i zachowania konsumentów w stosunku do żywności wygodnej	141
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	154
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Współczesny leksykon wiedzy o żywności	156
ANNA GRĘDA: Nowe książki	158
Technolog Żywności	161

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 4 (71)

Kraków 2010

Vol. 17

CONTENTS

From the Editor	3
ADRIANA NOWAK, KATARZYNA ŚLIŻEWSKA, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ: Probiotics – history and mechanisms of their effect	5
ADRIANA NOWAK, KATARZYNA ŚLIŻEWSKA, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ, JERZY SOCHA: Probiotics – health effects	20
JERZY SZPENDOWSKI, BOGUSŁAW STANIEWSKI, KRZYSZTOF BOHDZIEWICZ, KRZYSZTOF SIEMIANOWSKI, EMIL SZYMAŃSKI: Effect of extrusion on physicochemical properties and microbiological purity of casein.....	37
PIOTR DOMARADZKI, PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK, ZYGMUNT LITWIŃCZUK: Relationship between collagen and selected technological parameters of calf meat	50
EUGENIUSZ R. GRELA, RYSZARD K. PISARSKI, EDYTA KOWALCZUK-VASILEV, AGATA RUDNICKA: Content of nutrients and minerals, and fatty acid profile in some fish flesh depending on fishing period	63
TERESA JAŚKIEWICZ, AGNIESZKA SAGAN, ANDRZEJ MASŁOWSKI: Effect of autoclaving time on the content of reactive lysine in autoclaved seeds of local soybean varieties.....	73
ELŻBIETA KLIMCZAK, BOGUSŁAW KRÓL: Macro- and microelements in determination of different forms of ellagic acid in by-products from strawberry processing	81
ALICJA Z. KUCHARSKA, KATARZYNA KOWALCZYK, AGNIESZKA NAWIRSKA-OLSZAŃSKA, ANNA SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA: Effect of chokeberry, strawberry, and raspberry added to cornelian cherry purée on its physical and chemical composition	95
BEATA SPERKOWSKA, GRZEGORZ BAZYLAK: Effect of extraction conditions on the soluble oxalate content in water infusions of green and herbal teas	107
BARBARA WÓJCIK-STOPCZYŃSKA, PAULINA JAKOWIENKO, DOROTA JADCAK: Assessing microbiological contamination of fresh basil and mint	122
RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA, ANETA KOPEĆ: Diet supplementation with vitamins and/or minerals among the university students in the region of Małopolska.....	132
EWA BABICZ-ZIELIŃSKA, MARZENA JEŻEWSKA-ZYCHOWICZ, WACŁAW LASKOWSKI: Consumer attitudes and behaviours towards convenience food	141
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	154
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Food Science Lexicon	156
ANNA GRĘDA: Book reviews	158
The Food Technologist.....	161

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

nr 4 (71) naszego czasopisma zawiera różnorodnie tematycznie artykuły naukowe, prezentujące dorobek kilku krajowych ośrodków nauki o żywności. Mamy nadzieję, że spełnią one Państwa oczekiwania.

Ponownie informujemy, że Komunikatem nr 16 Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 21 czerwca 2010 r., w sprawie zmiany liczby punktów dla czasopism naukowych zmienione zostały dotychczasowe zasady punktowania czasopism. Zgodnie z tą decyzją **ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość** ma przyznane **9 punktów** za publikacje w niej zamieszczone (Ujednolicony wykaz czasopism naukowych, grupa B, poz.1788).

Nieustannie powtarzamy apel do Autorów, cytujemy polskich autorów publikujących w **ŻYWNOSCI** 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, wrzesień 2010 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

ADRIANA NOWAK, KATARZYNA ŚLIŻEWSKA, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ

PROBIOTYKI – HISTORIA I MECHANIZMY DZIAŁANIA

Streszczenie

Przekonanie o korzystnym wpływie bakterii fermentacji mlekowej na człowieka sięga czasów starożytnych. Wiadomo, że już Pliniusz Starszy zalecał stosowanie fermentowanych napojów z mleka w doległościach żołądkowo-jelitowych. Podstawy naukowe takich stwierdzeń podał jednak dopiero w XX w. rosyjski naukowiec, laureat nagrody Nobla, Ilija Miecznikow. Wiązał on stan zdrowia człowieka z obecnością określonych mikroorganizmów w przewodzie pokarmowym, szczególną uwagę zwracając na bakterie spożywane z takimi produktami, jak kefir czy jogurt. Od tamtego czasu obserwuje się rozwój badań charakteryzujących mikroflorę jelitową człowieka i rolę poszczególnych gatunków w nim występujących, a także poszukiwanie odpowiednich szczepów bakterii mlekowych wywierających korzystny wpływ na zdrowie człowieka.

W artykule omówiono historię i definicję probiotyków, ich korzystne działanie na funkcje organizmu oraz zmniejszenie ryzyka chorób. Przedstawiono mechanizmy działania probiotyków, komercyjne produkty zawierające szczepy probiotyczne i ich dawkowanie.

Słowa kluczowe: probiotyki, historia, definicja, mechanizmy działania

Wprowadzenie

Wiedza na temat ekosystemu jelitowego człowieka oraz jego roli w utrzymaniu zdrowia jest ciągle ograniczona. Zespół mikroorganizmów jelitowych jest ogromny, liczy około 100 bilionów bakterii, a w jelicie grubym jest najbardziej złożony – w jego skład wchodzi nawet kilkaset gatunków. Większości z nich nie można wykryć tradycyjnymi metodami mikrobiologicznymi, gdyż są to mikroorganizmy niehodowlane. Zespół ten nie jest kompletnie scharakteryzowany i niewiele wiadomo na temat jego różnorodności, zwłaszcza, że wzór mikroorganizmów jelitowych jest cechą unikatową (indywidualną) każdego człowieka. Układ jakościowy i ilościowy mikroorganizmów jelitowych człowieka może ulec zmianie pod wpływem wielu czynników, a zwłaszcza pod wpływem diety.

Dr A. Nowak, dr inż. K. Śliżewska, prof. dr hab. Z. Libudzisz Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź

Wraz ze wzrostem świadomości żywieniowej konsumentów wzrasta ich zainteresowanie produktami spożywczymi, które oprócz zaspokajania głodu, spełniają dodatkowe funkcje fizjologiczno-żywieniowe, wpływając na poprawę stanu zdrowia lub zapobiegając chorobom, takim jak: nowotwory, miażdżycę, nadciśnienie, próchnica. Jako przykłady takich produktów można wymienić produkty probiotyczne.

Koncepcja probiotyku

Historia i definicje

Wzmianki o fermentowanych produktach mlecznych znajdują się już w najwcześniejszych opisach dotyczących człowieka. W Biblii [cyt. za 15] w wielu miejscach są wzmianki o mleku kwaśnym. „Gdy Abraham ujrzał zbliżających się kilku ludzi zaprosił ich do siebie i podał im kwaśnego mleka i mleka słodkiego...” (Ks. Rdz. 8, 8). W Księdze Powtórzonego Prawa natomiast Mojżesz wylicza pokarmy, jakie Jahwe przyznał swojemu ludowi: „Dał im mleko kwaśne krów i mleko kóz z tłuszczem jagniąt i baranów...”.

Starożytni Rzymianie i Grecy znali różne sposoby przygotowywania fermentowanego mleka. W biografii rzymskiego cesarza Heliogabala (lata 218 - 222 n.e.) wzmiankowane są 2 przepisy dotyczące przygotowania mleka kwaśnego „*opus lactarum*” składającego się z kwaśnego mleka, miodu, owoców i mąki oraz „*oxygale*” przygotowywanego z kwaśnego mleka, warzyw i niektórych przypraw.

W starożytnym Egipcie spożywano pewien rodzaj mleka kwaśnego, zwanego „*leben raib*”, przyrządzonego z mleka bawołu, krowy lub kozy. Podobnego rodzaju „*jahurt*” był także szeroko znany pośród ludów półwyspu bałkańskiego.

W Indiach, fermentowane napoje mleczne znane były już 800 - 300 lat p.n.e., „*ajran*” – w Rosji Środkowej w XII w., węgierskie „*tarho*” w XIV w., a ok. VIII w. znane były również w Turcji [22]. W Rosji mleko kwaśne spożywane było jako „*prostokwasza*” czyli mleko, które zsiada się i kwasi samoczynnie lub „*wareniec*” czyli mleko gotowane, do którego dodawano drożdże [15].

Hippokrates, Avicenna, Galen i inni przypisywali kwaśnemu mleku właściwości lecznicze w chorobach żołądka, jelit, a także działanie przeciw arteriosklerozie. Znane jest stare hinduskie przysłowie: „pij mleko kwaśne, a będziesz długo żył”. Starożytni lekarze Bliskiego i Środkowego Wschodu przepisywali jogurt lub inne fermentowane produkty mleczne w leczeniu chorób żołądka, jelit, wątroby i dla stymulacji apetytu [22].

W 1857 r. Pasteur dowiódł, że fermentacja mleka zależy od drobnoustrojów nazywanych przez niego „*ferment*” lub „*levure lactique*”. Nie wydzielił on jednak czystej kultury bakterii mlekowych. Uczynił to 20 lat później Lister izolując „*Bacterium lactis*”, a w 1884 r. Hueppe wyodrębnił „*Bacillus acidi lactici*” [30].

Szczególne zainteresowanie bakteriami fermentacji mlekowej na początku XX w. wykazał rosyjski naukowiec, immunolog, pracujący w Instytucie Pasteura w Paryżu, laureat Nagrody Nobla z medycyny za prace nad odpornością (1907 r.) Ilija Miecznikow. Jak opisuje w książce „Zarysy filozofii optymistycznej” [15]: „latem mleko łatwo kwasi się i wiele pokarmów bogatych jest w kwas mlekony”, „lasecznik może osiedlać się w kiszkaach człowieka” oraz: „z różnymi pokarmami poddanimi fermentacji mlekowej i spożywanymi w stanie surowym (kwaśne mleko, kefir, kapusta, ogórki) ludzie wprowadzili do swego kanału pokarmowego ilości olbrzymie mikrobów mlekonych, które mogą tam także rozmnażać się”. Miecznikow uważał, że obecność odpowiednio wysokiej liczby bakterii mlekowych w przewodzie pokarmowym człowieka korzystnie oddziałuje na zdrowie. Wykazał, że niektóre bakterie sprzyjają, a inne hamują rozwój *Vibrio cholerae*. Ponadto propagował spożywanie produktów zawierających pałeczki kwasu mlekowego (obserwował wieśniaków rosyjskich i bułgarskich, których codziennym napojem był/jest jogurt).

Serkowski w 1907 r. [30] pisał natomiast „mleko kwaśne może zachować mleko od gnicia”, „w karmie dla zwierząt ważną rolę ma fermentacja mlekowa, bowiem pasza zafermentowana nie gnije”, „w gorzelnictwie stosuje się bakterie mlekowe, aby zapobiec innym fermentacjom szkodliwie działającym na moszcze” – „jeżeli więc fermentacja mlekowa wykazuje, że jest środkiem przeciwko gniciu, to dlaczego nie miałyby zatrzymywać gnicia w kanale pokarmowym ludzi?”. Te obserwacje i wiele innych dowodów na korzystne cechy „bakteryjki kwasu mlekowego” stały się podstawą teorii nazwanej przez Miecznikowa i jego zwolenników „teorią długowieczności”.

W 1907 r. doktor Bielonowski [cyt. za 14] w Instytucie Pasteura stwierdził, że „ferment mlekony” otrzymany z jahurtu i opisany pod nazwą „lasecznika bułgarskiego” działał jako „środek odkażający nie tylko z powodu swego kwasu mlekowego, ale jeszcze z powodu pewnego ciała szczególnego, jakie wytwarza”. Bielonowski żywił myszy pokarmem z dodatkiem „lasecznika bułgarskiego” lub czystego kwasu mlekowego. Próbę kontrolną stanowiły myszy, które dostawały pokarm bez dodatków. Najlepiej rozwijały się i dawały najliczniejsze potomstwo myszy, które otrzymywały „lasecznik bułgarski”. Ich odchody wyróżniały się najmniejszą liczbą mikroorganizmów, a nade wszystko rzadkością „mikrobów gnilnych”.

Według opinii Cybulskiego, cytowanego przez Serkowskiego w 1907 r. [cyt. za 30] „można stanowczo twierdzić, że drobnoustroje kwasu mlekowego są w ekonomii naszego ustroju czynnikiem w wysokim stopniu pożytecznym i że, troszcząc się o hodowanie ich w przewodzie pokarmowym, przyczyniamy się do wyrobienia pewnej odporności ustroju i zapobiegamy rozwojowi tych wszystkich szkodliwych wytworów, które według wszelkiego prawdopodobieństwa przyspieszają starość, a tem samem skracają życie. Stanowcze jednakże orzeczenie w tym względzie wymaga jeszcze wieletnich doświadczeń i spostrzeżeń”.

W 1917 r. niemiecki profesor Alfred Nissle wyizolował z kału żołnierza, który nie zachorował na salmonellozę podczas wybuchu epidemii, niepatogeny szczep *Escherichia coli*. Obecnie szczep Nissle 1917 jest jednym z przykładów probiotyków, niebędących bakteriami mlekowymi.

Jednym z pierwszych preparatów dietetycznych było mleko, do którego wprowadzano *Lactobacillus acidophilus*. W 1934 r. Henneberg zaproponował uzupełnienie tym szczepem mikroflory jogurtowej. Pierwsza przemysłowa produkcja szczepionek jogurtowych w Europie prowadzona była w latach 20. XX w. w firmie Danone. Z kolei Minoru Shirota, japoński mikrobiolog (Uniwersytet Medyczny w Kyoto), wyizolował szczep *Lactobacillus casei* – nazwany później szczepem Shirota. Szczep ten został zastosowany do produkcji fermentowanego napoju mlecznego o nazwie Yakult, wprowadzonego na rynek japoński w 1935 r. Kryterium izolacji szczepu była aktywność antagonistyczna w stosunku do mikroorganizmów chorobotwórczych. Wierzył, że spożycie tych bakterii będzie zapobiegało infekcjom jelitowym i śmierci ludzi, a szczególnie dzieci. Bakterie *Bifidobacterium* po raz pierwszy wyizolował Henry Tissier (z Instytutu Pasteura) od dziecka karmionego mlekiem matki i nazwał *Bacillus bifidus communis*. Tissier postulował, że bifidobakterie mogą wypierać bakterie powodujące biegunki, dlatego zalecał podawanie ich chorym dzieciom [cyt. za 31].

Najprawdopodobniej Ferdinand Vergin był osobą, która wprowadziła do stosowania termin „probiotyk” w 1954 r., kiedy to w artykule zatytułowanym „*Anti- und Probiotika*” [cyt. za 31] porównywał szkodliwe oddziaływania na mikroflorę jelitową antybiotyków i innych substancji przeciwdrobnoustrojowych z oddziaływaniami korzystnymi („*Probiotika*”) wywieranymi przez pożyteczne bakterie. Kilka lat później, w 1965 r., Lilly i Stillwell opisali probiotyki jako mikroorganizmy stymulujące wzrost innych mikroorganizmów. Definicja probiotyków zmieniała się i była wielokrotnie modyfikowana. Natomiast w 1989 r. Roy Fuller podkreślił, iż probiotyki muszą być żywymi mikroorganizmami oraz muszą wykazywać korzystny wpływ na zdrowie gospodarza (tab. 1).

Polskim naukowcem, który po raz pierwszy zajmował się pałeczkami kwasu mlekowego był pediatra i neurolog Józef Brudziński, który stosował hodowle bakterii mlekowych w pewnych chorobach jelit u niemowląt. W latach 70. i 80. XX w. mleczne napoje fermentowane były przedmiotem badań Zychowicza i Cieplińskiej [36], którzy wykazali antagonistyczne działanie *Lactobacillus acidophilus* w stosunku do pałeczek *Salmonella* i *Shigella*. W 1972 r. w lecznictwie pediatrycznym zastosowali po raz pierwszy fermentowany preparat mleczny – do leczenia dzieci w czasie wieloletniej epidemii czerwonki w Państwowym Domu Małych Dzieci w Mrągowie, bezskutecznie poddanych wcześniej zastrzonemu reżimowi sanitarnemu i leczonych za pomocą dostępnych środków farmaceutycznych. Preparat zawierał kulturę *Lactobacillus acidophilus* i nazwany był umownie mlekiem acidofilnym. Fermentowany preparat

Tabela 1

Definicje probiotyków.
Definitions of probiotics.

Rok	Definicje
1965	Substancje sprzyjające rozwojowi drobnoustrojów [13].
1971	Wyciągi tkankowe pobudzające wzrastanie bakterii [32].
1974	Organizmy i substancje wpływające na równowagę mikroflory jelitowej [20].
1989	Dodatki do pokarmu zawierające żywe mikroorganizmy, które mogą wywierać korzystny wpływ na organizm gospodarza zwierzęcego poprzez poprawę równowagi mikroflory jelitowej [7].
1992	Żywe monokultury lub mieszane hodowle mikroorganizmów, które podane zwierzęciu lub człowiekowi korzystnie wpływają na gospodarza poprzez poprawę właściwości mikroflory jelitowej [11].
1996	Żywe kultury mikroorganizmów lub zawierające je produkty żywnościowe, które korzystnie wpływają na zdrowie i stan odżywienia gospodarza [24].
1996	Żywe mikroorganizmy, których spożycie w odpowiednich ilościach przynosi korzyści zdrowotne przekraczające ich podstawowe funkcje odżywcze [28].
1999	Dodatek do diety będący mikroorganizmem, który korzystnie wpływa na przemiany fizjologiczne gospodarza poprzez modulowanie odporności śluzówkowej i ogólnej, jak również poprzez poprawę równowagi żywieniowej i mikrobiologicznej w przewodzie pokarmowym [16].
2001	Preparaty lub produkty zawierające wystarczającą liczbę żywych, ściśle zdefiniowanych drobnoustrojów, które wpływają (poprzez implantację lub kolonizację) na mikroflorę określonego obszaru organizmu gospodarza i dzięki temu wywierają korzystny efekt zdrowotny [25, 29].
2002	Żywe mikroorganizmy, które podawane w odpowiednich ilościach wywierają korzystne skutki zdrowotne [6].
2004	Żywe mikroorganizmy, które konsumowane przez ludzi lub zwierzęta wywierają korzystny efekt na zdrowie poprzez ilościowy i jakościowy wpływ na mikroflorę jelitową i/lub modyfikację układu immunologicznego [8, 33].

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

mleczny podawano początkowo w niewielkich ilościach dobowych (20 - 150 cm³ w dawkach podzielonych), uzyskując niewielką poprawę, wyrażającą się ustąpieniem objawów jelitowych przy dodatnich jeszcze wynikach posiewów. W drugiej połowie 1972 r. zwiększono ilość mleka acidofilnego do 60 - 600 cm³, podawanych w 2 - 3 dawkach dziennych. W okresie stosowania kultury bakteryjnej (fermentowanego mleka) dzieciom nie podawano żadnych środków przeciwbakteryjnych. Wykonywane systematycznie posiewy najczęściej już po 2 - 3 tygodniach były ujemne. Pod koniec 1972 r. u wszystkich dzieci w Zakładzie, jak również u personelu posiewy były ujemne. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt obserwowanych zmian w stanie zdro-

wotnym dzieci. Pod wpływem zastosowanego leczenia dietetycznego stwierdzono nie tylko ustąpienie objawów jelitowych i całkowite unormowanie wyników posiewów, ale zmiany w zachowaniu się dzieci, które stały się żywotniejsze, poprawił się ich apetyt, stały się bardziej odporne na infekcje wirusowe dróg oddechowych, poczyniły wyraźne postępy w rozwoju psychomotorycznym. Dotychczas nie ustalono na jakiej drodze następowała eliminacja chorobotwórczych bakterii z przewodu pokarmowego. Mogło to być hamowanie rozwoju drobnoustrojów przez wytwarzane substancje antybiotyczne (laktocydyna) lub poprzez zmianę pH środowiska. Ta druga właściwość nierozdzielnie wiąże się z wytwarzaniem przez *Lb. acidophilus* kwasów organicznych, m.in. kwasu octowego i mlekowego. Korzystny wpływ kultury bakteryjnej *Lb. acidophilus* zależał w dużym stopniu od podanej dawki. Dawki zbyt małe były niewystarczające do uzyskania pełnego efektu leczniczego, ale wyraźnie zmieniały przebieg kliniczny zakażenia w kierunku złagodzenia objawów. Korzystny wpływ kultury bakteryjnej *Lb. acidophilus* na zakażenia czerwonkowe nie ulegał wątpliwości. Wpływ ten był widoczny również w zakażeniach salmonelozowych [36].

Czym są probiotyki

Słowo probiotyk pochodzi z języka greckiego „*pro bios*”, co znaczy „dla życia”. Aktualnie obowiązującą definicją jest ta przedstawiona przez Organizację Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) oraz Światową Organizację Zdrowia (WHO) w 2002 roku (tab. 1). Jako probiotyki wykorzystuje się najczęściej bakterie z rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, ale stosuje się także drożdże *Saccharomyces cerevisiae* ssp *boulardii* oraz niektóre gatunki *Escherichia* oraz *Bacillus*.

Bakterie i produkty probiotyczne

Szczep, aby mógł być uznany za probiotyczny, musi wykazywać szereg udokumentowanych klinicznie korzyści zdrowotnych. Działanie probiotyczne może odnosić się jednak zawsze tylko do jednego testowanego szczepu, nie do gatunku, rodzaju lub do ogółu bakterii mlekowych [4, 17, 33, 37].

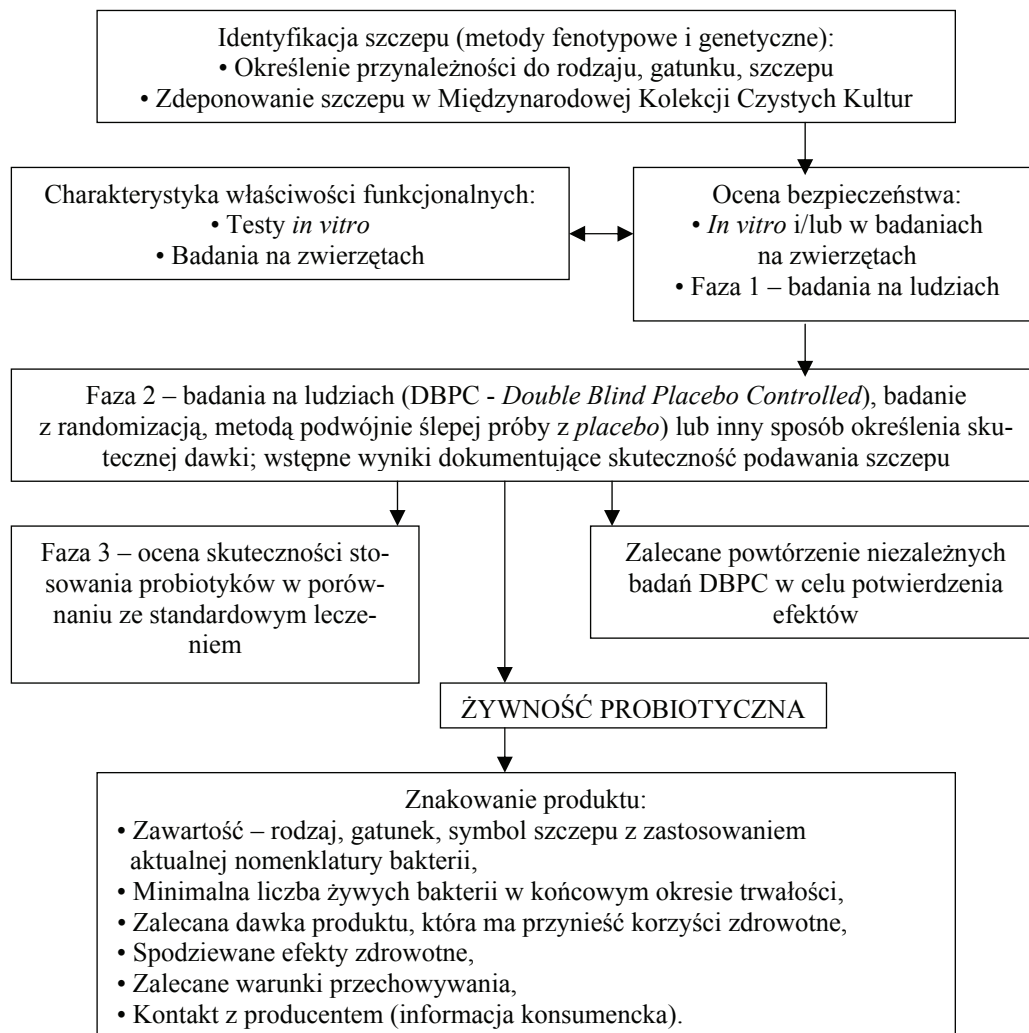
Probiotyki powinny charakteryzować się dokumentacją świadczącą o efektach zdrowotnych danego szczepu występującego w produkcie handlowym. Artykuły przeglądowe oraz prace badawcze dotyczące danego szczepu nie mogą być wykorzystywane do promocji innych szczepów, jako probiotycznych. Przy czym należy pamiętać, że badania dokumentujące właściwości probiotyczne danego szczepu w testowanej dawce nie świadczą o podobnych właściwościach przy zastosowaniu innej dawki szczepu. Duże znaczenie ma także rodzaj użytego nośnika/matrycy, który może obniżać żywotność szczepu i w ten sposób zmieniać jego właściwości [26].

Szczepy mikroorganizmów można uznać za probiotyczne wtedy, gdy przejdą cały szereg badań (trwających nawet kilka lat) i powinny charakteryzować się następującymi właściwościami (rys. 1) [6, 28, 37]:

- zachowywać żywotność i aktywność w przewodzie pokarmowym,
- pochodzić od ludzi, jeżeli mają być stosowane u ludzi,
- być niepatogenne i nietoksynotwórcze,
- mieć ustaloną przynależność taksonomiczną (rodzaj, gatunek, szczep) nowoczesnymi metodami genetycznymi,
- wykazywać wysoką oporność na enzymy trawienne, kwas żołądkowy i żółć, co umożliwia przeżycie w przewodzie pokarmowym,
- być zdolne do adhezji do śluzówki jelitowej oraz do przeżycia w środowisku jelita, nawet jeżeli nie wykazują zdolności kolonizacji,
- wykazywać udokumentowany klinicznie korzystny wpływ na zdrowie człowieka (badania na ludziach z randomizacją – metodą podwójnej ślepej próby z *placebo*),
- być bezpieczne, tzn. nie wykazywać niepożądanych skutków ubocznych,
- wykazywać stabilność oraz możliwość produkcji biomasy na dużą skalę.

Szczep probiotyczny powinien być oznaczony w następującej kolejności: nazwa rodzajowa, nazwa gatunkowa oraz oznaczenie literowo-cyfrowe, np. *Lactobacillus casei* DN 114001, *Lactobacillus rhamnosus* GG. W działaniach marketingowych oraz nazwach handlowych producenci mogą stosować nazwy dowolne, na przykład LGG lub *Lactobacillus casei* Defensis (Actimel).

Nie wszystkie bakterie fermentacji mlekowej stosowane do produkcji są probiotykami, bowiem nie wszystkie szczepy wywołują w organizmie człowieka jednakowy efekt prozdrowotny. Właściwości probiotyczne bakterii są cechą określonego szczepu (biotypu) danego gatunku. Korzystne właściwości są szczepozależne, tzn. właściwe dla jednego, wyselekcjonowanego szczepu bakterii.



Rys. 1. Schemat badań probiotyków według FAO/WHO .

Fig. 1. Probiotic Research Outline according to FAO/WHO.

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [6] / the authors' own study on the basis of [6].

Produkty probiotyczne: jakość i dawkowanie

Obecnie na rynku dostępnych jest wiele produktów spożywczych i farmaceutycznych zawierających bakterie probiotyczne, występujących najczęściej w formie przetworów mlecznych lub w postaci tabletek, kapsułek i saszetek zawierających liofilizowaną biomasa bakterii probiotycznych (tab. 2). Stężenie bakterii w takich produktach wynosi od kilku milionów do kilku miliardów na dawkę. Ważna jest matryca stosowa-

na w produkcji probiotyków. W preparatach farmaceutycznych znajdują się liofilizowane szczepy probiotyczne o gęstości 10^{10-11} komórek/g produktu, w mleku w proszku dla niemowląt około 10^7 komórek/g, produktach mleczarskich około $2 - 5 \times 10^{10}$ komórek/100 g produktu, lodach około 10^7 komórek/g, sokach owocowych około $10^6 - 10^7$ komórek/100 cm³, a w czekoladach około 10^7 liofilizowanych komórek/g.

Dawka probiotyku musi być ustalona na podstawie **badania klinicznych**. W większości produktów stężenie probiotyku wynosi $1 \times 10^{9-10}$ jtk, choć niektóre wykazują wysoką efektywność przy zastosowaniu mniejszych, a inne dopiero większych dawek. Przyjmowanie dziennie 100 milionów jtk *Bifidobacterium infantis* 35264 łagodziło objawy zespołu jelita drażliwego, podczas gdy dopiero dawka $300 - 450 \times 10^{12}$ jtk/dzień produktu VSL#3 (mieszanka 1 szczepu *Streptococcus thermophilus*, 4 szczepów *Lactobacillus* spp. i 3 szczepów *Bifidobacterium* spp.) przynosiła podobny efekt [40]. Należy pamiętać, że dawka podawana nie jest taka sama, jak realna dawka efektywna, która dociera do jelita, gdyż, mimo że mikroorganizmy probiotyczne zaliczamy do mikroflory przejściowej (allochtonicznej), mogą się one namnożyć w jelicie, a ich liczba może wzrosnąć od 10 do 100 razy, w zależności od osoby i preparatu [38, 40].

Tabela 2

Przykładowe szczepy probiotyczne w produktach handlowych i ich właściciele.
Examples of probiotic strains in commercial products and their owners.

Szczep i/lub nazwa handlowa produktu Strain and/or commercial name of product	Producent Manufacturer
<i>Bifidobacterium animalis</i> ssp <i>lactis</i> DN 173 010 (Activia)	Danone (Nowy Jork)
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 (Good Start Natural Cultures)	Nestle, Chr. Hansen
<i>Bifidobacterium infantis</i> 35264 (Align)	Procter & Gamble
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> HN019 (DR10) (Howaru Bifido) <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001 (DR20) (Howaru Bifido)	Danisco (Madison WI, USA)
<i>Bifidobacterium longum</i> BB536 (sprzedawany jako składnik)	Morinaga Milk Industry (Japan)
<i>Enterococcus</i> LAB SF 68 (Bioflorin)	Cerbios-Pharma
<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917 (Mutaflor)	Ardeypharm
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5 (Acidolac)	Chr. Hansen
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM (sprzedawany jako składnik)	Danisco (Madison WI, USA)
<i>Lactobacillus casei</i> DN-114 001 (Actimel, DanActive)	Danone (Francja)
<i>Lactobacillus casei</i> CRL431 (sprzedawany jako składnik)	Chr. Hansen (USA)
<i>Lactobacillus casei</i> F19 (Cultura)	Arla Foods
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota (Yakult) <i>Bifidobacterium breve</i> Yakult (Yakult)	Yakult (Japonia)
<i>Lactobacillus johnsonii</i> LA1 (Lj1) (LC1)	Nestle
<i>Lactococcus lactis</i> L1A (Normejerier)	Essum AB (Szwecja)

c.d. Tab. 2

<i>Lactobacillus plantarum</i> 299V (GoodBelly, ProViva)	NextFoods Probi AB
<i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730 (BioGaia Probiotic)	BioGaia Biologics
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 53013 (LGG) (Vifit i in.)	Valio
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LB21 (Verum)	Essum AB (Umea, Szwecja)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (LGG) (Culturelle, Dannon Danimals)	Valio Dairy
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0011 (sprzedawany jako składnik)	Instytut Rosell (Montreal, Kanada)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> R0052 (sprzedawany jako składnik)	
<i>Lactobacillus salivarius</i> UCC118 (sprzedawany jako składnik)	University College (Cork, Irlandia)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (<i>boulardii</i>) lyo (DiarSafe, Ultravure i in.)	Wren Laboratories, Biocodex i in.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (<i>boulardii</i>) (Florastor)	Biocodex (Creswell OR)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> CL 1285 i <i>Lactobacillus casei</i> Lbc80r (Bio K ⁺)	Bio K ⁺ International
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GR-1 i <i>Lactobacillus reuteri</i> RC-14 (FermDophilus)	Chr. Hansen
VSL#3 (mieszanka 1 szczepu <i>Streptococcus thermophilus</i> , 4 szczepów <i>Lactobacillus</i> spp. i 3 szczepów <i>Bifidobacterium</i> spp.) (VSL#3)	Sigma-Tau Pharmaceuticals, Inc.
<i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 i <i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0011 (A'Biotica i in.)	Instytut Rosell
<i>Bacillus clausii</i> szczepy O/C, NR, SIN i T (Enterogermina)	Sanofi-Aventis

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [39, 40] / the authors' own study on the basis of [39, 40].

Jak dotąd nie sformułowano uniwersalnych, ściśle określonych lub narzuconych standardów, co do dawki oraz wymagań wobec produktów probiotycznych. Producenci powinni w taki sposób formułować informacje o produktach probiotycznych oraz tak je oznaczać, aby wzbudzić zaufanie konsumenta. Ze względu na stały wzrost zainteresowania produktami probiotycznymi stale rośnie liczba zarówno producentów, jak i sprzedawców tych produktów.

Probiotyki – mechanizmy działania

Prawidłowe oddziaływanie pomiędzy mikroorganizmami jelitowymi i organizmem gospodarza ma charakter symbiotyczny. Szczególnie ważną funkcję pełnią komórki Peyera, które stanowią część układu immunologicznego związanego z błoną śluzową przewodu pokarmowego. Jelita są ważnym organem odpowiedzialnym za utrzymanie odporności organizmu, około 60 - 70 % komórek odpornościowych w organizmie człowieka jest związanych z podśluzówką jelita [5]. Układ immunologiczny kontroluje odpowiedź komórkową organizmu na białka pochodzące z diety poprzez zapobieganie alergiom pokarmowym, a także w stosunku do mikroorganizmów patogennych, takich

jak wirusy (rotawirusy, poliovirusy), bakterie (*Salmonella* sp., *Listeria* sp., *Clostridium* sp. itp.) oraz pasożyty (*Toxoplasma*) [10, 27].

W licznych badaniach naukowych udokumentowano, że szczepy probiotyczne przywracają naturalny i właściwie funkcjonujący zespół mikroorganizmów jelitowych poprzez (tab. 4) [19, 26, 33]:

- współzawodnictwo o substancje odżywcze i miejsca receptorowe z mikroorganizmami patogennymi,
- syntezę niektórych witamin (głównie z grupy B, ale także PP i prawdopodobnie K),
- ochronę przed kolonizacją przez szkodliwe bakterie poprzez wytwarzanie na drodze fermentacji, głównie kwasu mlekowego i octowego, obniżających pH, co hamuje rozwój bakterii patogennych,
- stymulację produkcji śluzu.

Tabela 4

Mechanizmy interakcji probiotyków z organizmem gospodarza.

Mechanisms of interactions between probiotics and human host organism.

Korzyści dla zdrowia: proponowany mechanizm(y)

Health benefits: suggested mechanism(s)

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Znoszenie efektu nietolerancji laktozy: <ul style="list-style-type: none"> - działanie bakteryjnej β-galaktozydazy na laktozę. • Pozytywny wpływ na układ mikroorganizmów jelitowych: <ul style="list-style-type: none"> - eliminacja/obniżanie liczebności niekorzystnych dla zdrowia mikroorganizmów, - zmniejszenie produkcji toksycznych metabolitów, - właściwości antibakteryjne. • Profilaktyka zakażeń dróg jelitowych: <ul style="list-style-type: none"> - efekt zwiększenia produkcji przeciwciał, - stymulacja odpowiedzi immunologicznej lub systemowej, - zmiana warunków panujących w jelitach (pH, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, bakteriocyny), - kompetycja o miejsca adhezji do nabłonka jelitowego, - zmiana miejsca wiązania toksyn, - stymulacja produkcji śluzu jelitowego, - kompetycja o substancje odżywcze z innymi drobnoustrojami, głównie patogennymi. • Poprawa systemu immunologicznego: <ul style="list-style-type: none"> - aktywacja makrofagów do prezentacji antygenów dla limfocytów B, - zwiększenie wydzielania immunoglobulin A (IgA), - modulacja profilu cytokin, - indukcja odpowiedzi na antygeny żywności, - wzrost liczby leukocytów, limfocytów, komórek plazmatycznych i naturalnych komórek bójczych (NK) w surowicy krwi, - wzrost fagocytarnej aktywności leukocytów, |
|--|

c.d. Tab. 4

- wzrost aktywności makrofagów (zwiększone wydalenie hydrolaz lizosomalnych, aktywatora plazminogenu, kolagenazy, lizozymu) i wzrost aktywności limfocytów,
- wzrost poziomu interferonu γ w surowicy krwi.
- Działanie przeciwalergiczne:
 - przywrócenie homeostazy układu odpornościowego,
 - regulacja syntezy cytokin,
 - zapobieganie przedostaniu się antygenów do krwi.
- Aktywność przeciwnowotworowa:
 - wiązanie mutagenów/kancerogenów,
 - hamowanie nitroreduktaz bakteryjnych, katalizujących syntezę nitrozoamin,
 - usuwanie azotanów(III),
 - hamowanie/obniżanie, na drodze modyfikacji ekosystemu jelitowego, syntezy lub aktywności tzw. enzymów fekalnych (β -glukozydazy, β -glukuronidazy i azoreduktazy),
 - hamowanie wzrostu komórek rakowych,
 - obniżanie stężenia II rzędowych kwasów żółciowych.
- Wpływ na stężenie lipidów we krwi i ryzyko chorób serca:
 - obniżenie poziomu cholesterolu,
 - zmiany aktywności hydrolazy soli żółci,
 - efekt antyoksydacyjny.
- Obniżanie ciśnienia:
 - przekształcenie peptydaz w przeciwnadciśnieniowe tripeptydazy (inhibitory konwertazy angiotensyny),
 - działanie składników ściany komórki jako inhibitorów angiotensyny.
- Wpływ na infekcje moczowo-płciowe:
 - przyczepność do komórek dróg moczowych i pochwy,
 - aktywność antagonistyczna,
 - współzawodnictwo o substancje odżywcze z innymi drobnoustrojami, głównie patogennymi,
 - produkcja specyficznych inhibitorów (H_2O_2 , biosurfaktanty).
- Zakażenia wywołane przez *Helicobacter pylori*:
 - konkurencja o substancje odżywcze,
 - aktywność antagonistyczna,
 - produkcja kwasu mlekowego,
 - zmniejszenie aktywności ureazy *H. pylori* u ludzi po podaniu kultur *Lactobacillus*.
- Regulacja motoryki przewodu pokarmowego (zaparcia).
- Dobre samopoczucie.

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [3, 16, 21, 25, 26] / the authors' own study on the basis of [3, 16, 21, 25, 26].

Wiele badań świadczy o korzystnym działaniu probiotyków w schorzeniach układu pokarmowego (zespół jelita drażliwego, zapalenie jelit), ale nie tylko, na przykład w infekcjach pochwy (*vaginitis*) [1, 2, 9, 23]. Niektóre szczepy probiotyczne były również badane w kierunku zapobiegania atopowemu zapaleniu skóry, reumato-

idealnemu zapaleniu stawów oraz marskości wątroby [34]. Nieliczne dowody kliniczne świadczą o korzystnej roli probiotyków w obniżaniu poziomu cholesterolu, jednak wyniki nie są jednoznaczne [38]. Generalnie, najsilniejszym dowodem klinicznym świadczącym o korzystnym działaniu probiotyków na zdrowie człowieka jest zwiększenie odporności organizmu (immunomodulacja) [12, 18, 35].

Podsumowanie

Asortyment produktów probiotycznych na rynku spożywczym i farmaceutycznym jest szybko poszerzany dzięki promowaniu ich korzystnego wpływu na zdrowie człowieka. Rynek probiotyczny (zarówno produktów żywnościowych, jak i suplementów) w 2008 r. był wart ok. 15,7 miliardów dolarów i stanowił ok. 18 % żywności funkcjonalnej. Szacuje się, że na skutek intensywnego rozwoju tego sektora w roku 2013 rynek probiotyczny będzie wart około 19,6 miliardów dolarów [38]. Innowacją jest wprowadzanie na rynek coraz nowszych produktów probiotycznych, na przykład lodów i płatków zbożowych w USA, sera w Portugalii i na Węgrzech lub napojów energetyzujących w Szwajcarii i Portugalii.

Literatura

- [1] Abad C.L., Safdar N.: The role of lactobacillus probiotics in the treatment or prevention of urogenital infections - a systematic review. *J. Chemother.*, 2009, **21**, 243-252.
- [2] Anukam K., Osazuwa E., Ahonkhai I., Ngwu M., Osemene G., Bruce A.W., Reid G.: Augmentation of antimicrobial metronidazole therapy of bacterial vaginosis with oral probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Microbes Infect.*, 2007, **8**, 1450-1454.
- [3] Borchers A.T., Selmi C., Meyers F., Keen C.L., Gershwin M.E.: Probiotics and immunity. *J. Gastroenterol.*, 2009, **44**, 26-46.
- [4] Dominguez-Bello M.G., Blaser M.J.: Do you have a probiotic in your future? *Microbes Infect.*, 2008 **10**, 1072-1076.
- [5] Egert M., de Graaf A., Smidt H., de Vos W., Venema K.: Beyond diversity: functional microbiomics of the human colon. *Trends Microbiol.*, 2006, **14**, 86-91.
- [6] FAO: Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Kanada, 30 kwietnia i 1 maja 2002, (http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf).
- [7] Fuller R.: Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, 1989, **66**, 365-78.
- [8] Fuller R. What is a probiotic? *Biologist*, 2004, **51**, 232.
- [9] Gulati A.S., Dubinsky M.C.: Probiotics in pediatric inflammatory bowel diseases. *Curr. Gastroenterol. Rep.*, 2009, **11(3)**, 238-247.
- [10] Gupta V., Garg R.: Probiotics. *Indian J. Med. Microbiol.*, 2009, **27 (3)**, 202-209.
- [11] Havenaar R., Huis In't Veld J.M.J. Probiotics: a general view. In: Wood BJB, editor. *Lactic acid bacteria in health and disease*. Vol 1. Elsevier Applied Science Publishers, London 1992, pp. 151-170.

- [12] Huang Y., Zeng Y.: The probiotic *Lactobacillus acidophilus* reduces cholesterol absorption through the down-regulation of Niemann-Pick C1-like 1 in Caco-2 cells. *Br. J. Nutr.*, 2009, doi: 10.1017/S0007114509991991.
- [13] Lilly D.M., Stillwell R.H.: Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 1965, **147**, 747-748.
- [14] Mach T.: Clinical usefulness of probiotics in inflammatory bowel diseases. *J. Physiol. Pharm.*, 2006, **57** (9S), 23-33.
- [15] Miecznikow E.: O naturze ludzkiej - Zarys filozofii optymistycznej (tłumaczenie F. Wermiński). Wyd. Biblioteka Naukowa, Warszawa 1907.
- [16] Naidu A.S., Bidlack W.R., Clemens R.A.: Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1999, **39**, 13-126.
- [17] Neish A.S.: Microbes in gastrointestinal health and disease. *Rev. Bas. Clin. Gastroenterol.*, 2009, **136**, 65-80.
- [18] Nova E., Warnberg J., Gomez-Martinez S., Diaz L.E., Romeo J., Marcos A.: Immunomodulatory effects of probiotics in different stages of life. *Br. J. Nutr.*, 2007, **98** (S1), S90-95.
- [19] Oelschlaeger T.A.: Mechanisms of probiotic actions – a review. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2009, doi:10.1016/j.ijmm.2009.08.005.
- [20] Parker R.B.: Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim. Nutr. Health*, 1974, **29**, 4-8.
- [21] Raoult D.: Obesity pandemics and the modification of digestive bacterial flora. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2008, **27**, 631-634.
- [22] Rasic J.L.J., Kurmann J.A.: *Yoghurt. Scientific, Grounds, Technology, Manufacture and Preparations*, v.1, Technical Dairy Publ. House, Copenhagen 1988, Denmark.
- [23] Reiff C., Kelly D.: Inflammatory bowel disease, gut bacteria and probiotic therapy. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2009, doi:10.1016/j.ijmm.2009.08.004.
- [24] Salminen S.: Uniqueness of probiotic strains. *Int. Dairy Fed. Nutr. Newsl.*, 1996, **5**, 16-18.
- [25] Sanders M.E.: How do we know when something called „probiotic“ is really a probiotic? A guideline for consumers and health professionals. *Func. Food Rev.*, 2009, **1**, 3-12.
- [26] Sanders M.E., Gibson G., Harsharnjit S.G., Guarner F.: Probiotics: their potential to impact human health, CAST Issue Paper, 2007, **36**, 1-20.
- [27] Saulnier D.M.A., Spinler J.K., Gibson G.R., Versalovic J.: Mechanisms of probiosis and prebiosis: considerations for enhanced functional foods. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2009, **20**, 135-141.
- [28] Schaafsma G.: State-of-the-art concerning probiotic strains in milk products. *IDF Nutr. Newsl.*, 1996, **5**, 23-24.
- [29] Schrezenmeir J., de Vrese M.: Probiotics, prebiotics and synbiotics-approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, **73**, 361S-364S.
- [30] Serkowski S.: *Mleko i mleczarstwo w oświeceniu higieny i bakterjologii*. Wyd. Gebethner i Wolff, Warszawa 1907.
- [31] Smetanski R.: *Sfermentowane napoje mleczne*. Dział Wydawnictw Społem, 1948.
- [32] Sperti G.S.: *Probiotics*. West Point (CT): AVI Publishing Co. 1971.
- [33] Vasiljevic T., Shah N.P.: Probiotics – from Metchnikoff to bioactives. *Int. Dairy J.*, 2008, **18**, 714-728.
- [34] Werfel T.: Inside-Out. Probiotics and atopic dermatitis. *Hautarzt.*, 2009, **60**, 802-808.
- [35] Wickens K., Black P.N., Stanley T.V., Mitchell E., Fitzharris P., Tannock G.W., Purdie G., Crane J.: A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008, **122**(4), 788-94.
- [36] Zychowicz C., Cieplińska T.: Czy polskie probiotyki wywodzą się z Olsztyna? *Pediatrica Współczesna*, 2002, **4/1**, 89.

- [37] Clarification of the definition of a probiotic - <http://www.isapp.net>
[38] Global Probiotics Market Worth \$19.6B by 2013 - <http://www.naturalproductsinsider.com>
[39] Products with Probiotics - <http://www.usprobiotics.org>
[40] World Gastroenterology Organization (WGO) - <http://www.world.gastroenterology.org>

PROBIOTICS – HISTORY AND MECHANISMS OF THEIR EFFECT

S u m m a r y

Since ancient times, it has been believed that lactic acid bacteria have a beneficial effect on humans. It is known that Pliny the Elder recommended fermented drinks from milk to treat gastrointestinal ailments. However, as late as in the 20th century, Ilija Mechnikow, a Russian scientist and Nobel Prize winner was the first to provide a scientific basis for this statement. He linked the human health and the presence of a specific group of micro-organisms in gastrointestinal tract; in particular, his interest was devoted to bacteria contained in kefir or yoghurt eaten by people. Since that time, scientific investigations have been conducted in order to study and to characterize the intestinal micro-flora and the function of individual bacterial strains present therein. Additionally, searches have been continued with the aim to find appropriate strains of milk bacteria to exert advantageous impact on human health.

In this paper, the history and definitions of probiotics are presented, as well as their beneficial effects on the functions of human organism and on the disease risk reduction. The mechanisms of probiotic effects are characterized as are the commercial products containing probiotic strains and their dosing.

Key words: probiotics, history, definition, mechanisms of effects ☒

ADRIANA NOWAK, KATARZYNA ŚLIŻEWSKA, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ,
JERZY SOCHA

PROBIOTYKI – EFEKTY ZDROWOTNE

Streszczenie

W opracowaniu omówiono korzystne działanie probiotyków na zdrowie człowieka, a szczególnie ich rolę w ograniczaniu ryzyka chorób cywilizacyjnych, takich jak nowotwory, otyłość, alergię. Oddzielny rozdział poświęcono bezpieczeństwu stosowania (spożycia) produktów probiotycznych.

Słowa kluczowe: probiotyki, efekty zdrowotne

Wprowadzenie

Badania kliniczne świadczą o korzystnym działaniu probiotyków w schorzeniach układu pokarmowego (syndrom jelita drażliwego, zapalenie jelit, biegunki) oraz w schorzeniach alergicznych (atopowe zapalenie skóry). Najsilniejsze dowody oddziaływania probiotyków na zdrowie człowieka wskazują na zwiększenie odporności organizmu (immunomodulacja). Jednak nie wszystkie badania kliniczne wykazują jednoznacznie poprawę zdrowia człowieka po zastosowaniu probiotyków. Konieczne jest więc prowadzenie dalszych wielodzielnych badań nad pozyskiwaniem nowych szczepów probiotycznych, ich profilem genetycznym, ustaleniem dawki, bezpieczeństwem stosowania oraz badań klinicznych dokumentujących pożądane efekty zdrowotne. Badania te muszą być potwierdzone na ludziach i przez niezależne ośrodki naukowe, obejmować wystarczająco dużą grupę osób, a obserwacje powinny trwać wystarczająco długo, aby wykazać wpływ danego szczepu probiotycznego na organizm człowieka. Bieżący wgląd w działanie probiotyków w zastosowaniach klinicznych przedstawiono poniżej.

Dr A. Nowak, dr inż. K. Śliżewska, prof. dr hab. Z. Libudzisz, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź, prof. dr hab. Jerzy Socha, Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Immunologii, Instytut „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka” al. Dzieci Polskich 20, 04-730 Warszawa

Biegunki

Biegunki ostre

Różne szczepy probiotyczne, włączając *Lb. reuteri* ATCC 55730, *Lb. rhamnosus* GG, *Lb. casei* DN-114001 i *Saccharomyces cerevisiae (boulardii)*, skracają czas trwania (o około 1 dzień) ostrych biegunek infekcyjnych u dzieci. Do tej pory opublikowano wyniki metaanaliz z kilku badań klinicznych, w których otrzymano podobne rezultaty [65]. Sugerują one, że zastosowanie probiotyków jest bezpieczne i efektywne. Dowody efektywności probiotyków w biegunkach wirusowych są bardziej przekonujące niż w leczeniu biegunek bakteryjnych i pasożytniczych. Mechanizmy działania probiotyków są cechą szczepozależną i zależną od dawki, co wykazano w przypadku niektórych szczepów z rodzaju *Lactobacillus* (m.in. *Lb. rhamnosus* GG – stężenie $2 \times 10^{10-11}$ przez 5 dni, 2 razy dziennie; *Lb. reuteri* ATCC 55730 – stężenie 10^{10-11} 1 raz dziennie przez maksymalnie 5 dni) oraz drożdży *S. cerevisiae (boulardii)* w dawce 200 mg co 8 h. W zapobieganiu biegunek u dzieci najlepsze efekty wykazują na przykład szczepy *Lb. rhamnosus* GG, *S. cerevisiae (boulardii) lyo* i *Enterococcus faecium* LAB SF68 [2, 9, 11, 12]. W wyniku metaanalizy van Niel i wsp. [64] stwierdzili, że podawanie probiotyku minimum w stężeniu 10^{10} jtk istotnie skraca czas trwania biegunki. Najlepszy efekt był obserwowany po zastosowaniu najwyższego stężenia (10^{11} jtk).

Biegunki poantybiotykowe

Najsukuteczniejsze w leczeniu biegunek poantybiotykowych u dzieci oraz osób dorosłych są szczepy *Lb. rhamnosus* GG [54, 57, 63] oraz drożdże *S. cerevisiae (boulardii)* [53]. W badaniach randomizowanych Kotowskiej i wsp. [32] grupie 269 dzieci podawano doustnie *S. cerevisiae (boulardii)* w dawce 250 mg 2 razy dziennie, zgodnie ze standardami stosowania antybiotyków. U pacjentów otrzymujących drożdże probiotyczne biegunka występowała rzadziej (7,5 %) niż u dzieci z grupy placebo (23 %). Nie zaobserwowano żadnych negatywnych efektów ubocznych.

W innych badaniach stwierdzono, że *Lb. casei* DN-114001 jest równie efektywny u pacjentów hospitalizowanych z biegunką poantybiotykową, w tym wywołaną *Clostridium difficile* [24].

Biegunki po napromieniowaniu

Badania wykazały, że preparat probiotyczny VSL#3 (*Lactobacillus casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii*, *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis* i *Streptococcus thermophilus*) jest efektywny w leczeniu biegunek po napromieniowaniu podczas leczenia choroby nowotworowej [20].

Eradykacja zakażeń *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori jest bakterią przystosowaną do bytowania w żołądku, która może powodować chorobę wrzodową oraz przewlekłe zapalenie żołądka oraz dwunastnicy. Obecność *Helicobacter pylori* w błonie śluzowej wywołuje miejscowe procesy zapalne z pobudzeniem układu odpornościowego i produkcją cytokin zapalnych takich, jak: INF- γ , IL-2, IL-8, TNF- α .

Probiotyki działają antagonistycznie w stosunku do *H. pylori*, co wykazano w badaniach *in vitro* oraz *in vivo* na zwierzętach, jednak wyniki badań *in vivo* z randomizacją na ludziach nie są jednoznaczne.

W badaniach dotyczących wpływu bakterii probiotycznych na tolerancję terapii eradykacyjnej u pacjentów z przewlekłym zapaleniem błony śluzowej żołądka ze współistniejącym zakażeniem *Helicobacter pylori* wykazano, że podawanie probiotyków miało istotny statystycznie wpływ na tolerancję terapii. Wiele szczepów z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* zmniejsza niekorzystne efekty antybiotykoterapii, stabilizując ekosystem jelitowy oraz polepsza zdrowie pacjentów z zakażeniem *H. pylori*. Metaanaliza 14 badań klinicznych z randomizacją sugeruje [60], że dodatkowe stosowanie probiotyków podczas antybiotykoterapii zwiększa stopień eradykacji *H. pylori*. W badaniach na 16 zainfekowanych pacjentach wykazano, że *Lb. casei* Shiota w stężeniu 2×10^{10} jtk/dzień, podawany przez 6 tygodni w mleku fermentowanym, hamował wzrost *H. pylori* (o 64 % w grupie osób po podaniu probiotyku, a o 33 % w grupie kontrolnej) [10]. Podobną zależność wykazano w badaniach z wykorzystaniem szczepów *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 i *Lactobacillus acidophilus* La5 [66]. Konieczne jest zawsze jednoczesne stosowanie antybiotyków. Autorzy stwierdzają, że potrzebna jest kontynuacja badań klinicznych [7].

Alergie i atopowe zapalenie skóry (AZS)

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest przewlekłą, nawrotową dermatozą zapalną. Choroba ta charakteryzuje się występowaniem zmian skórnych (najczęściej o charakterze wyprysku i świądu) o typowej lokalizacji. Patogeneza AZS nie jest do końca poznana. Istotną rolę w zachorowaniu na AZS odgrywa ekspozycja na czynniki zewnętrzne i środowiskowe. Podstawowe znaczenie dla rozwoju tej choroby ma jednak nieprawidłowa odpowiedź układu odpornościowego, czyli reakcja na alergen (antygen zewnętrzny) [13].

Badania nad zastosowaniem probiotyków w zapobieganiu i leczeniu AZS prowadzone były przez niezależne ośrodki badawcze, m.in. przez fiński zespół pod kierunkiem Eriki Isolauri oraz zespół czeski prowadzony przez Raję Lodinową-Zadnikową. Grupa fińska podawała małym dzieciom z alergią na białka mleka krowiego hydrolizaty białkowe, zawierające szczep *Lb. rhamnosus* GG. Badanie przeprowadzono z ran-

domizacją, ale bez próby kontrolnej. Wyniki przedstawiono według skali SCORAD (*Scoring Atopic Dermatitis* – wskaźnik stopnia ciężkości AZS). Obniżenie indeksu SCORAD zaobserwowano w grupie przyjmującej probiotyki przez 1 miesiąc. Szczepy *Lactobacillus rhamnosus* GG lub *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 podawane były w mieszankach hydrolizatów białkowych. Po dwóch miesiącach uzyskano obniżenie indeksu SCORAD w obu grupach w porównaniu z grupą kontrolną. Badania te obejmowały małą populację dzieci, ale przyczyniły się do wzrostu zainteresowania probiotykami w leczeniu AZS [25, 39].

W innych badaniach *Lactobacillus rhamnosus* GG podawano kobietom ciężarnym z wywiadem atopowym, 1 raz dziennie w dawce 10^{10} , przez 2 do 4 tygodni przed porodem. Po porodzie nadal podawano probiotyk, zarówno matce, jak i dziecku przez okres około 6 tygodni. Badanie, które przeprowadzono z randomizacją, z użyciem placebo i podwójnej próby kontrolnej, obejmowało 159 kobiet i niemowląt. Wpływ działania probiotyku na częstość wystąpienia alergii oceniono po 2 i po 4 latach. W drugim roku życia w grupie, która otrzymywała probiotyki w tym okresie życia, dwa razy rzadziej wystąpiło AZS niż u dzieci otrzymujących placebo. Z 64 dzieci otrzymujących probiotyki AZS rozpoznano u 15, co stanowiło 23 %, a z 68 otrzymujących placebo choroba wystąpiła u 31, co stanowiło 46 %. W czwartym roku życia zmniejszone występowanie AZS utrzymywało się w populacji leczonej probiotykami. AZS rozpoznano u 47 % dzieci z grupy kontrolnej, w porównaniu z 26 % dzieci z grupy otrzymującej probiotyk [27, 28].

Kopp i wsp. [31] w badaniach DBPC nie potwierdzili powyższych wyników – suplementacja dzieci szczepem *Lb. rhamnosus* GG nie zapobiegała rozwojowi AZS, które zdiagnozowano u 28 % pacjentów w grupie probiotycznej i u 27,3 % pacjentów w grupie placebo.

Suplementacja mieszaniną bakterii probiotycznych (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* i *Lactobacillus acidophilus*) w okresie prenatalnym, jak i po urodzeniu, zapobiega rozwojowi AZS u dzieci obciążonych dużym ryzykiem [29].

Cukrowska i wsp. [14] przeprowadzili badania wpływu probiotycznych szczepów *Lactobacillus casei* i *paracasei* na przebieg kliniczny wyprysku atopowego (WA) u dzieci z alergią pokarmową na białka mleka krowiego. Badania randomizowane, łącznie z grupą kontrolną objęły 60 dzieci do 12 miesiąca życia (w grupie badanej $n = 29$, w grupie kontrolnej $n = 31$). Dzieciom podawano doustnie mieszaninę 3 szczepów: *Lactobacillus casei* LOCK 0900, *Lactobacillus casei* LOCK 0908 i *Lactobacillus paracasei* LOCK 0919 w formie zliofilizowanej w dawce 10^9 bakterii/dzień (preparat Latopic), przez okres 3 miesięcy. Grupa kontrolna natomiast otrzymywała hydrolizat kazeiny, będący nośnikiem bakterii. Wykazano, że ten probiotyk korzystnie wpływał na przebieg kliniczny WA, ale tylko w grupie dzieci z rozpoznaną alergią IgE-zależną.

Tradycyjne leczenie dietą eliminacyjną skutkowało poprawą u ponad połowy badanych (grupa kontrolna), podczas gdy stosowanie probiotyków zwiększyło odsetek dzieci wykazujących poprawę do ponad 90 % [14]. Najbardziej przekonujące dowody dotyczące przeciwdziałania alergiom dotyczą więc AZS u kobiet w ciąży oraz niemowląt do 12 miesiąca życia. Konieczne są jednak dalsze badania.

Zapalenie jelita grubego (IBD)

U chorych osób z rozpoznaniem IBD w jelicie grubym towarzyszyło zmniejszenie liczby bakterii beztlenowych gram dodatnich i gram ujemnych oraz bakterii z rodzaju *Lactobacillus* w jelicie grubym. Nie zaobserwowano zmian liczby bakterii tlenowych oraz z rodziny *Enterobacteriaceae*. Nie stwierdzono także różnicy w zespole mikroorganizmów związanych ze śluzówką jelitową, w porównaniu do osób zdrowych [38].

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego (colitis ulcerosa)

W badaniach na grupie 25 pacjentów wykazano, że drożdże probiotyczne *S. cerevisiae (boulardii)* u 71 % powodowały remisję choroby [22]. Podobne rezultaty otrzymano po zastosowaniu preparatu probiotycznego VSL#3, który podawany był w bardzo wysokiej dawce, bo $3,6 \times 10^{12}$ bakterii/dzień przez 6 dni. Indukował on remisję u 77 % pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego [6]. Z kolei w badaniach Zocco i wsp. [67] jedna grupa pacjentów otrzymywała *Lactobacillus rhamnosus* GG w dawce $1,8 \times 10^{10}$ bakterii/dziennie jednocześnie z lekiem 5-ASA (mesalazyna) (w dawce 2,4 g/dzień). Druga grupa pacjentów otrzymywała tylko sam lek, natomiast trzecia grupa placebo. W wyniku przeprowadzonych badań nie zaobserwowano nawrotu klinicznego choroby w grupach otrzymujących probiotyk i lek oraz w grupie otrzymującej sam lek. Z kolei preparat *Escherichia coli* Nissle 1917 podawany przewlekłe chorym zapobiegał nawrotom klinicznym choroby równie skutecznie, jak lek [23]. W najnowszych badaniach wykazano, że po podaniu pacjentom preparatu VSL#3 w dawce od $4,5 \times 10^{10}$ do $1,8 \times 10^{11}$ bakterii dziennie wraz ze standardowym leczeniem, u 92,8 % pacjentów nastąpiła remisja choroby. W grupie pacjentów poddawanych standardowemu leczeniu remisja choroby następowała tylko u 36,4 % pacjentów [41]. Sood i wsp. [55] badali wpływ VSL#3 (w większej dawce, bo $3,6 \times 10^{12}$ jtk, 2 razy dziennie, przez 12 tygodni) na remisję choroby w grupie 77 pacjentów. Stwierdzili, że remisja choroby nastąpiła u 42,9 % pacjentów w grupie probiotycznej, podczas gdy w grupie placebo u 15,7 % chorych, co może wskazywać, że większa dawka probiotyku nie powoduje wzmożonego efektu leczniczego.

Wyniki przytoczonych badań nie świadczą jednak o podobnym efekcie innych szczepów probiotycznych, gdyż zawsze dana cecha jest szczepozależna.

Zapalenie błony śluzowej zbiornika jelitowego (*pouchitis*)

Przyczyna tej choroby nie jest do końca poznana, ale głównymi jej czynnikami jest przebyte wrzodziejące zapalenie jelita grubego oraz zachwianie równowagi w układzie mikroorganizmów jelitowych, a zwłaszcza zmniejszona liczba bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. Podstawą diagnozy jest ocena objawów klinicznych, co powinno być potwierdzone biopsją. Leczenie polega na podawaniu antybiotyków, bakterii probiotycznych, 5-ASA, kortykosteroidów, leków modyfikujących układ immunologiczny [38]. Preparat VSL#3 istotnie zmniejszał ryzyko nawrotu choroby (profilaktyka wtórna), a także jej wystąpienie po raz pierwszy (profilaktyka pierwotna). W badaniach 40 pacjentów zastosowano 9-miesięczną terapię tym preparatem (w dawce 3×10^{11} bakterii, 6 g). Terapia okazała się bardzo efektywna, nawrót choroby w grupie VSL#3 występował u 15 % pacjentów, podczas gdy w grupie placebo wynosił 100 % [21]. W innych badaniach na grupie 36 pacjentów, preparat VSL#3 podawano w dawce $1,5 \times 10^{12}$ bakterii/dzień, przez 1 rok. Nawrót choroby nastąpił u 15 % pacjentów w grupie przyjmującej probiotyk, podczas gdy w grupie otrzymującej placebo u 94 % [42]. Probiotyki te mogą więc być rekomendowane pacjentom o łagodnym przebiegu zapalenia zbiornika kałowego, a także w profilaktyce przeciwko remisji choroby.

Szczep probiotyczny *Lb. rhamnosus* GG (podawany w dawce 0,5 - 1×10^{10} jtk/kapsułkę, przez okres 3 miesięcy) okazał się nieefektywny w terapii pacjentów z zapaleniem błony śluzowej zbiornika jelitowego [34]. Być może mieszanina szczepów jest skuteczniejsza, zastosowana dawka probiotyku *Lb. rhamnosus* GG mogła być zbyt mała, a czas jego stosowania zbyt krótki.

Choroba Crohna

Po podaniu 40 pacjentom preparatu VSL#3 (6 g/dzień) wraz z lekiem 5-ASA (4 g/dzień) stwierdzono endoskopowy nawrót choroby u 10 % pacjentów, podczas gdy w grupie otrzymującej tylko sam lek (5-ASA, 4 g/dzień) nawrót choroby nastąpił u 40 % chorych [57, 59]. W randomizowanych badaniach Marteau i wsp. [40] z udziałem 98 pacjentów, przez 6 miesięcy stosowano liofilizowany preparat *Lactobacillus johnsonii* LA1 w dawce 2×10^9 jtk lub placebo. Endoskopowy nawrót choroby Crohna obserwowano u 49 % pacjentów z grupy probiotycznej i u 64 % z grupy placebo.

Niestety otrzymane wyniki nie są zadowalające. Brak jest jednoznacznych wyników wskazujących, że stosowanie probiotyków łagodzi lub zwiększa szansę na uzyskanie remisji choroby.

Zespół jelita drażliwego (IBS)

Probiotyki mogą wykazywać działanie terapeutyczne, mogą redukować ból i wzdęcia jelit, co wykazano po zastosowaniu szczepu *Bifidobacterium infantis* 35624

[8] oraz mieszaniny *Lb. rhamnosus* GG, *Lb. rhamnosus* LC705, *B. animalis* subsp. *lactis* Bb12 i *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* JS (każdy szczep w stężeniu 1×10^7 jtk/ cm^3 napoju probiotycznego) [26]. Francuscy naukowcy grupie 100 pacjentów z IBS przez 4 tygodnie podawali preparat probiotyczny (w dawce 1×10^{10} jtk) złożony w 29 % z *Bifidobacterium longum* LA 101, w 29 % z *Lactobacillus acidophilus* LA 102, w 29 % z *Lactobacillus lactis* LA 103 i w 13 % ze *Streptococcus thermophilus* LA 104 lub placebo [18]. Niestety, nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w porównaniu z grupą kontrolną (mierzone m.in. takie parametry, jak natężenie bólu brzucha i rytmy wypróżnień).

Poszczególne probiotyki mogą łagodzić główne objawy zespołu jelita drażliwego u pacjentów [19], ale wyniki nie zawsze są jednoznaczne, dlatego ważna jest kontynuacja badań klinicznych. Wykazano natomiast, że *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 likwidował bóle i objawy związane z kolką jelitową już po tygodniu od rozpoczęcia stosowania probiotyku, co wykazano, badając 90 niemowląt z kolką jelitową karmionych piersią [44].

Martwicze zapalenie jelit

Choroba ta dotyczy noworodków – głównie wcześniaków. Śmiertelność takich dzieci jest bardzo wysoka, wynosi około 50 %. Jedną z przyczyn tej choroby może być nieprawidłowo ukształtowany zespół mikroorganizmów jelitowych, ale mechanizm choroby nie jest do końca poznany [43]. Wykazano, że po podaniu *Lb. rhamnosus* GG grupie wcześniaków następowało zmniejszenie częstości występowania martwiczego zapalenia jelit, ale efekt nie był statystycznie istotny w porównaniu z grupą placebo [15]. Lin i wsp. [37] z kolei zaobserwowali zmniejszenie częstości występowania tej choroby oraz śmiertelności noworodków po podaniu probiotyku – preparatu Inflanor (złożonego z *Lb. acidophilus* i *B. infantis* w dawce 125 mg/kg, 2 × dziennie). Wyniki metaanaliz wydają się potwierdzać to działanie [1, 16]. Stwierdzono, że podawanie probiotyków wcześniakom urodzonym poniżej 33 tygodnia ciąży zmniejszało ryzyko występowania martwiczego zapalenia jelit i obniżało śmiertelność.

Nowotwory jelita grubego

Prowadzone są badania dotyczące zdolności szczepów probiotycznych do zapobiegania lub spowalniania procesów prowadzących do rozwoju nowotworów jelita grubego. Precyzyjny mechanizm tego działania wciąż nie jest poznany. Może to być działanie pośrednie, poprzez modyfikację składu zespołu mikroorganizmów jelitowych lub bezpośrednie, poprzez aktywację odpowiedzi immunologicznej gospodarza do antykarcyngenety, produkcję antymutagennych i antykarcyngennych substancji, zmianę warunków fizykochemicznych w jelicie grubym lub zmianę aktywności metabolicznej mikroorganizmów jelitowych [52]. Innym mechanizmem może być reakcja

pośrednia z potencjalnymi związkami rakotwórczymi przedostającymi się do jelita grubego ze źródeł zarówno egzo-, jak i endogennych [47, 48], poprzez ich wiązanie i/lub degradację, co wykazano w warunkach *in vitro* w przypadku: fenolu i p-krezolu [46], indolu [45] oraz heterocyklicznych amin aromatycznych IQ, MeIQx i PhIP [49].

W celu stwierdzenia czy probiotyki i prebiotyki (synbiotyki) rzeczywiście wykazują właściwości przeciwnowotworowe, w 2000 r. zaczęto realizować projekt SYNCAN, finansowany przez Unię Europejską. W celu lepszego zrozumienia mechanizmów antykarcyngenogenezy, projekt ten jest wspierany badaniami *in vitro* nad pre/probiotykami oraz doświadczeniami na zwierzętach, a także badaniami klinicznymi z udziałem ochotników (pacjentów z gruczolakami). Wyniki tych doświadczeń są wysyłane do sieci BIOMARKER i poddawane analizie. Celem projektu jest potwierdzenie w badaniach ludzi wcześniejszych obserwacji o antynowotworowym działaniu synbiotyków, stwierdzanych na modelach eksperymentalnych [69]. Najnowsze rezultaty wskazują, że fruktooligosacharydy (SYN1) oraz *Lactobacillus rhamnosus* GG i *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 obniżają ryzyko występowania nowotworu jelita grubego, o czym świadczy zmiana biomarkerów wskazujących na rozwój tej choroby u pacjentów z nowotworem, jak i po wycięciu polipa [50]. Po spożyciu synbiotyków zaobserwowano mniejszy stopień uszkodzenia DNA, a także mniejszy stopień proliferacji kolonocytów [62].

Badania dotyczące związku diety i aktywności mikroorganizmów jelitowych z nowotworami przewodu pokarmowego (głównie jelita grubego) muszą być kontynuowane, ważne jest wykazanie na przykład w jaki sposób profil genetyczny człowieka kształtuje zespół mikroorganizmów jelitowych, u jakich osób zmiana diety mogłaby wpłynąć na indywidualny skład mikroorganizmów jelitowych, jakie metabolity o aktywności przeciwnowotworowej są produkowane i czy probiotyki mogą stymulować ich wytwarzanie, a także czy zdolność ta jest cechą indywidualną, uwarunkowaną genetycznie. Odpowiedzi na powyższe pytania pozwoliłyby opracować dietę prowadzącą do korzystnej modyfikacji składu i aktywności mikroorganizmów jelitowych.

Otyłość

Przyczyną 80 % chorób cywilizacyjnych jest nieprawidłowa masa ciała. Nadwaga i otyłość może być wynikiem specyficznego składu mikroorganizmów jelitowych. Niektóre bakterie mogą metabolizować wiele substratów docierających do jelit i uzyskiwać energię w sposób bardziej wydajny niż inne mikroorganizmy. W badaniach *in vivo* stwierdzono [3], że udział *Bacteroidetes* jest znacząco mniejszy u myszy otyłych, niż u chudych. U chudych myszy udział *Bacteroidetes* wynosił 40 %, podczas gdy u myszy otyłych tylko 20 % (na podstawie analizy sekwencji 16S w próbach kału). Z kolei myszy *germ-free* były bardzo chude aż do momentu wprowadzenia mikroorga-

nizmów jelitowych, kiedy następowało zwiększenie ich masy ciała [3]. Z kolei badania mikroorganizmów jelitowych 12 otyłych ludzi [36] wykazały, że *Bacteroidetes* i *Firmicutes* były dominujące u wszystkich ludzi, zarówno otyłych, jak i szczupłych. W czasie podawania diety względny udział bakterii typu *Bacteroidetes* wzrastał, a zmniejszał się udział bakterii typu *Firmicutes*. Wzrost liczby *Bacteroidetes* był skorelowany z procentowym ubytkiem masy ciała. W przewodzie pokarmowym ludzi otyłych zwiększony jest udział bakterii silnie fermentujących z typu *Firmicutes*, w tym prawdopodobnie bakterii z rodzaju *Clostridium*, a więc bakterii o wysokiej aktywności fermentacyjnej, co pozwala na bardziej wydajne trawienie spożytego pokarmu [51, 59].

Najnowsze badania wskazują, że po wprowadzeniu mikroorganizmów jelitowych człowieka do gnotobiotycznych samic myszy, mikroflora jest dziedziczona przez potomstwo. U myszy takich po zastosowaniu diety wysokotłuszczowej i bogatej w cukier zaobserwowano bardzo szybkie zmiany populacji mikroorganizmów jelitowych oraz szybki przyrost tkanki tłuszczowej, w porównaniu do myszy karmionych dietą niskotłuszczową. Po przeniesieniu mikroorganizmów jelitowych myszy karmionych dietą wysokotłuszczową i bogatą w cukier do myszy *germ-free*, u tych ostatnich zaobserwowano bardzo szybki przyrost tkanki tłuszczowej, mimo stosowania diety niskotłuszczowej [61]. Wykazano zatem, że otyłość może być uwarunkowana składem mikroorganizmów jelitowych, nic nie wiadomo natomiast, jakie bakterie z typu *Firmicutes* były odpowiedzialne za zaobserwowane efekty [58]. Stwierdzono, że bakterie probiotyczne mogą wspomagać leczenie otyłości. Lee i wsp. [35] badali wpływ *Lactobacillus rhamnosus* PL60 (w stężeniu 10^9 jtk, przez 8 tygodni) na otyłość myszy, będących na diecie wysokotłuszczowej (szczep ten wytwarza kwas linolenowy, który przyczynia się do redukcji tkanki tłuszczowej w organizmie). U myszy karmionych probiotykiem wykazano znaczne zmniejszenie masy. Mechanizm działania był prawdopodobnie związany z apoptozą oraz ekspresją mRNA w tkance tłuszczowej białej. Stwierdzono jednak, że *Lactobacillus rhamnosus* PL60 nie powodował zmniejszenia rozmiaru komórek tłuszczowych, ale znacznie redukował ich ilość. Ponieważ liczba komórek tłuszczowych w organizmie dorosłego człowieka jest stała, a otyłość związana jest ze zmianą rozmiaru komórek tłuszczowych, dlatego mechanizm ten nie może odnosić się do ludzi. Wyniki te jednak wskazują, że odpowiednia modulacja mikroorganizmami jelitowymi może być sposobem zapobiegania/leczenia otyłości.

Inne korzyści zdrowotne

Wykazano, że *Lactobacillus reuteri* może redukować martwiczo-wrzdziejące zapalenie dziąseł oraz hamować krwawienie z dziąseł [33].

Lactobacillus casei Shirota prawdopodobnie może znosić objawy stanu lękowego [63], a poprzez wpływ na układ nerwowy usprawniać działanie mózgu [68].

Pionierskie badania przeprowadzone na myszach w USA wykazały, że probiotyki mogą zapobiegać infekcjom pasożytniczym wywoływanym przez *Toxoplasma gondii* oraz *Cryptosporidium*. Prawdopodobnie komensalne bakterie jelitowe są odpowiedzialne za stymulację odpowiedzi immunologicznej organizmu podczas zakażenia tymi pasożytami. Ponadto poprzez adherencję do nabłonka jelitowego „dobre bakterie” wypierają pasożyty ze środowiska i w ten sposób zapobiegają ich przyleganiu i infekcjom jelit. Następnym etapem badań ma być identyfikacja, które bakterie komensalne wykazują ten korzystny efekt [4]. Z kolei pionierskie badania Kirpicha i wsp. [30] dowiodły, że preparat probiotyczny zawierający *Bifidobacterium bifidum* i *Lactobacillus plantarum* 8PA3 polepszał stan zdrowia pacjentów z alkoholowym uszkodzeniem wątroby. Po 5 dniach suplementacji probiotykami zaobserwowano wzrost ogólnej liczby *Bifidobacterium* (z 6,3 do 7,0 log jtk/g) i *Lactobacillus* (z 3,15 do 4,2 log jtk/g). Badania te wskazywały także, że choroba alkoholowa istotnie niekorzystnie zmienia zespół mikroorganizmów jelitowych. Powyższe rezultaty wymagają kontynuacji badań z randomizacją i podwójną próbą kontrolną.

Wiele badań klinicznych dowodzi skuteczności stosowania probiotyków, a rekomendowane dawki probiotyku to te, które zostały zastosowane w konkretnym eksperymencie.

Bezpieczeństwo produktów probiotycznych

Niektóre gatunki bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* są naturalną częścią zespołu mikroorganizmów jelitowych, podczas gdy inne bytują w przewodzie pokarmowym człowieka w mniejszej ilości. Tradycyjne bakterie mlekowe związane z fermentacją żywności są generalnie bezpieczne do spożywania zarówno w postaci dodatków do żywności, jak i suplementów diety, w tradycyjnie stosowanych dawkach. W wielu krajach brak jest regulacji prawnych dotyczących stosowania suplementów diety lub są one o wiele bardziej łagodne niż te, które dotyczą stosowania leków [17]. Dostępne na rynku produkty znacznie różnią się od siebie, w zależności od wytwórcy. Skuteczność oraz efekty niepożądane mogą prawdopodobnie być zależne od szczepu i produktu.

Problem bezpieczeństwa stosowania probiotyków polega głównie na wykazaniu, czy można je podawać pacjentom poważnie chorym. Stosowanie probiotyków u takich osób jest ograniczone do szczepów o udowodnionym działaniu klinicznym. Stosowanie innych szczepów może być dopuszczone tylko za zgodą niezależnej komisji etycznej. Raport FAO/WHO z 2002 r. [20] stwierdza, że ważne są wielodziedzinowe badania nad pozyskiwaniem nowych szczepów probiotycznych, które obejmowałyby efekt patogenny, genetyczny, toksyczny, immunologiczny, gastroenterologiczny i mikrobiologiczny. Konwencjonalne metody szacowania ryzyka bezpieczeństwa nie są wystarczające.

Doustne preparaty probiotyczne **muszą być podawane wyłącznie drogą pokarmową** (doustnie) w postaci tabletek, kapsułek, bądź produktów spożywczych, ale nigdy wprost do jelita poprzez sondę tak, jak przeprowadzono to w badaniach klinicznych w 15 holenderskich ośrodkach medycznych działających przy 8 uniwersytetach. Wyniki tych badań opublikowano w czasopiśmie „Lancet” w lutym 2008 r. [5, 70]. W eksperymencie z randomizacją i podwójną próbą kontrolną badano wpływ preparatu probiotycznego u 296 pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki. Osoby te otrzymywały bezpośrednio do jelita (poprzez sondę) profilaktycznie preparat probiotyczny (152 osoby) lub placebo (144 osoby) 2 razy dziennie przez 28 dni. Zastosowany produkt probiotyczny miał nazwę Ecologic®641 i składał się z 6 szczepów: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum* i *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Szczepy te są powszechnie stosowane do wzbogacania produktów spożywczych lub jako suplementy diety i mają status GRAS (*Generally Recognised As Safe*) [70]. Preparat podawany był w dawce 10^{10} bakterii, a więc o wiele wyższej niż trafiłaby do jelit po przejściu przez przewód pokarmowy. Stwierdzono, że powikłania infekcyjne pojawiły się u 46 pacjentów z grupy przyjmującej preparat probiotyczny i u 41 z grupy przyjmującej placebo, natomiast 24 pacjentów z grupy probiotycznej zmarło, podczas gdy z grupy placebo zmarło ich tylko 9. U tych pacjentów wystąpiło niedokrwienie jelita grubego, podczas gdy nie zaobserwowano takiego efektu u pacjentów z grupy placebo. Dlatego tak ważne jest, aby doustne produkty probiotyczne były podawane wyłącznie drogą doustną [71].

Probiotyki mogą niekiedy wykazywać efekty uboczne, a najczęstsze to nadmierne gazowanie w jelitach, wzdęcia oraz dyskomfort brzuszny, są one jednak sporadyczne i bardzo łagodne. Bardzo rzadko mogą powodować infekcje, ale tylko u osób z uszkodzoną śluzówką nabłonka jelitowego. Większym problemem jest występowanie reakcji alergicznych zarówno na sam probiotyk, jak i inne składniki preparatu, żywności lub suplementu.

Europejski Urząd Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) 2 października 2009 r. ogłosił najnowsze poprawki odnośnie wymagań zdrowotnych (*health claims*) dla produktów probiotycznych, z których wynika, że bakterie probiotyczne powinny być genetycznie scharakteryzowane na poziomie szczepu (typowanie genetyczne), z zastosowaniem ogólnie przyjętych międzynarodowych metod genetyki molekularnej (np.: PCR z DGGE lub tRFLP, qPCR, rtPCR, FISH, hybrydyzacja „dot-blot”, sekwencjonowanie genów 16S rRNA, *fingerprinting*). Szczepy te powinny być nazwane zgodnie z Międzynarodowym Kodeksem Nomenklatury, powinny być przechowywane w Międzynarodowej Kolekcji Czystych Kultur i oznaczone specjalnym kodem, ułatwiającym kontrolę [71]. Probiotyk w postaci produktu farmaceutycznego musi spełniać nie tylko

wymogi FAO/WHO, ale także wszystkie międzynarodowe warunki instytucji nadzorujących oraz dyrektywy Unii Europejskiej.

Na rynku pojawia się coraz więcej doustnych preparatów probiotycznych, ale tylko nieliczne z nich mają w pełni udokumentowane efekty bioterapeutyczne. Na etykiecie znajduje się często mylna dla konsumenta informacja dotycząca jego przeznaczenia zdrowotnego. Ponadto produkty te nie mają odpowiednio sklasyfikowanych co do gatunku oraz szczepu mikroorganizmów, z prawidłowo podaną nomenklaturą. Brak jest często również podania zalecanej dawki indukującej w organizmie korzystne reakcje.

Przyszłość probiotyków

W koncepcji probiozy wiele jeszcze pytań pozostaje bez odpowiedzi. Nie wiadomo jaki ekosystem jelitowy jest korzystny dla ludzi, w tym jaki dla noworodka, dziecka, człowieka dorosłego czy starego. Jakie jest dopuszczalne zróżnicowanie rodzajowe/gatunkowe mikroflory, które nie powodowałyby jeszcze zakłóceń funkcjonowania jelit, jakie gatunki w obrębie występujących rodzajów są korzystne, czy różnorodność (zmiennność) gatunkowa jest pożądana dla człowieka? Nie ma również pełnej odpowiedzi na pytanie, jakie jest miejsce różnych szczepów probiotycznych w ekosystemie jelitowym, jak trwale kolonizują przewód pokarmowy, czy są zgodne z „własnymi” gatunkami bakterii mlekowych w jelitach. Czy interakcje (komunikacja) między autochtonicznymi bakteriami jelitowymi a szczepami probiotycznymi są indywidualne dla poszczególnych ludzi, czy obowiązują tu generalne zasady. Czy nie zawsze jednoznaczne wyniki badań nad wpływem probiotyków na organizm człowieka są związane z indywidualnym (specyficznym dla danego człowieka) ekosystemem.

Należy pamiętać, że probiotyki, zarówno w produktach spożywczych, jak i w postaci preparatów farmaceutycznych nie są lekami (brak regulacji *Food and Drug Administration*). To, w jaki sposób działają, może zależeć od szczepu, a także komponentów użytych do produkcji danego preparatu probiotycznego.

Dalsze badania nad probiotykami powinny wykazać, czy mogą być one stosowane w profilaktyce różnych chorób, jak długo mogą być stosowane, czy jest możliwe ich przedawkowanie lub zastosowanie w nieprawidłowy sposób. Poza tym badania muszą wskazać, które szczepy probiotyczne zapobiegają określonym schorzeniom. Korzystne działanie probiotyków na zdrowie człowieka musi być potwierdzone badaniami klinicznymi ludźmi. Nieliczne szczepy probiotyczne zostały poddane ocenie w prawidłowo zaplanowanych badaniach klinicznych, dlatego istnieje potrzeba ich kontynuacji (z randomizacją i podwójną próbą kontrolną), ponadto powinny być wzięte pod uwagę takie czynniki, jak standaryzacja warunków przeprowadzanego eksperymentu, indywidualny wzór zespołu mikroorganizmów każdego człowieka, ustalenie optymalnej dawki probiotyku, wydłużony czas badań oraz większe grupy badawcze.

Podsumowanie

Wykorzystywanie wiedzy na temat zespołu mikrobiocenozy przewodu pokarmowego i korzystnego działania bakterii probiotycznych nabiera coraz większego znaczenia w uprzemysłowionym świecie wobec szerzących się tzw. chorób cywilizacyjnych i starzenia się społeczeństwa. Spożywanie coraz większej ilości żywności wstępnie przygotowanej (tzw. *fast food*), zawierającej często zbyt dużo tłuszczu, a za mało warzyw, jest również czynnikiem, który niekorzystnie modyfikuje skład mikroorganizmów jelitowych człowieka. Nie ma w tej chwili już wątpliwości, że zespół mikroorganizmów jelitowych i ich pożądana modyfikacja z wykorzystaniem preparatów i produktów probiotycznych może chronić przed schorzeniami jelitowymi oraz wpływać na ogólną poprawę zdrowia ludzi.

Literatura

- [1] Alfaleh K., Bassler D.: Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2008, **23**, CD005496.
- [2] Arvola T., Laiho K., Torkkeli S., Mykka'nen H., Salminen S., Maunula L., Isolauri E.: Prophylactic *Lactobacillus GG* Reduces Antibiotic-Associated Diarrhea in Children With Respiratory Infections: A Randomized Study. *Pediatrics*, 1997, **104**, 1-4.
- [3] Backhed F., Ding H., Wang T., Hooper L.V., Koh G.Y., Nagy A., Semenkovich C.F., Gordon J.I.: The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *PNAS*, 2004, **101**, 15718-15723.
- [4] Benson A., Pifer R., Behrendt C.L., Hooper L.V., Yarovinsky F.: Gut Commensal Bacteria Direct a Protective Immune Response against *Toxoplasma gondii*. *Cell Host Microbe*, 2009, 187-196.
- [5] Besselink M.G.H., van Santvoort H.C., Buskens E., Boermeester M.A., van Goor H., Timmerman H.M., Nieuwenhuijs V.B., Bollen T.L., van Ramshorst B., Witteman B.J., Rosman C., Ploeg R.J., Brink M.A., Schaapherder A.F., Dejong C.H., Wahab P.J., van Laarhoven C.J., van der Harst E., van Eijck C.H., Cuesta M.A., Akkermans L.M., Gooszen H.G.: Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*, 2008, **371**, 651-659.
- [6] Bibiloni R., Fedorak R.N., Tannock G.W., Madsen K.L., Gionchetti P., Campieri M., De Simone C., Sartor R.B.: VSL#3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. *Am. J. Gastroenterol.*, 2005, **100**, 1539-1546.
- [7] Boonyaritichai S., Kuwabara K., Nagano J., Kobayashi K., Koga Y.: Long-term administration of probiotics to asymptomatic pre-school children for either the eradication or the prevention of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, 2009, **14** (3), 202-207.
- [8] Brenner D.M., Chey W.D.: *Bifidobacterium infantis* 35624: a novel probiotic for the treatment of irritable bowel syndrome. *Rev. Gastroenterol. Disord.*, 2009, **9** (1), 7-15.
- [9] Canani R.B., Cirillo P., Terrin G., Cesarano L., Spagnuolo M.I., de Vincenzo A., Albano F., Passariello A., de Marco G., Manguso F., Guarino A.: Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomized clinical trial of five different preparations. *Br. Med. J.*, 2007, doi:10.1136/bmj.39272.581736.55.

- [10] Cats A., Kuipers E.J., Bosschaert M.A., Pot R.G., Vandenbroucke-Grauls C.M., Kusters J.G.: Effect of frequent consumption of *Lactobacillus casei*-containing milk drink in *Helicobacter pylori*-colonized subjects. *Alimen. Pharm. Ther.*, 2003, **17**, 429-435.
- [11] Chmielewska A., Ruszczyński M., Szajewska H.: Ocena skuteczności *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 w leczeniu ostrej biegunki infekcyjnej u dzieci: metaanaliza badań z randomizacją. *Ped. Współ. Gastroenterol. Hepatol. Żyw. Dziecka*, 2008, **10**, 32-36.
- [12] Cremonini F., Di Caro S., Nista E.C., Bartolozzi F., Capelli G., Gasbarrini G., Gasbarrini A.: Meta-analysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhea. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2002, **16**, 1461-1467.
- [13] Cukrowska B., Ceregra A., Rosiak I.: Probiotyki w profilaktyce i leczeniu atopowego zapalenia skóry. *Zakażenia*, 2006, **2**, 58-61.
- [14] Cukrowska B., Ceregra A., Rosiak I., Klewicka E., Śliżewska K., Motyl I., Libudzisz Z.: Wpływ probiotycznych szczepów *Lactobacillus casei* i *paracasei* na przebieg kliniczny wyprysku atopowego u dzieci z alergią pokarmową na białka mleka krowiego. *Ped. Współ. Gastroenterol. Hepatol. Żyw. Dziecka*, 2008, **10**, 15-18.
- [15] Dani C., Biadaioli R., Bertini G., Martelli E., Rubartelli F.: Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. A prospective double-blind study. *Biol. Neonate*, 2002, **82**, 103-108.
- [16] Deshpande G., Rao S., Patole S.: Probiotics prevention of necrotizing enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomized controlled trials. *Lancet*, 2007, **369**, 1614-1620.
- [17] Donohue D.C., Salminen S.: Safety of probiotic bacteria. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 1996, **5**, 25-28.
- [18] Drouault-Holowacz S., Bieuvelet S., Burckel A., Cazaubiel M., Dray X., Marteau P.: A double blind randomized controlled trial of a probiotic combination in 100 patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 2008, **32**, 147-152.
- [19] Fan Y.J., Chen S.J., Yu Y.C., Si J.M., Liu B.: A probiotic treatment containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Enterococcus* improves IBS symptoms in an open label trial. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.*, 2006, **7** (12), 987-991.
- [20] FAO: Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Londyn Ontario, Kanada, 30.04. – 1.05. 2002, (http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf).
- [21] Gionchetti P., Rizzello F., Venturi A.: Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterol.*, 2000, **119**, 305-309.
- [22] Guslandi M., Giollo P., Testoni P.A.: A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2003, **15**, 697-698.
- [23] Henker J., Müller S., Laass M.W., Schreiner A., Schulze J.: Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) for successful remission maintenance of ulcerative colitis in children and adolescents: an open-label pilot study. *Z. Gastroenterol.*, 2008, **46** (9), 874-875.
- [24] Hickson M., D'Souza A.L., Muthu N., Rogers T.R., Want S., Rajkumar C., Bulpitt C.J.: Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomized double blind placebo controlled trial. *Br. Med. J.*, 2007, **335** (7610), 80.
- [25] Isolauri E., Arvola T., Sutas Y., Moilanen E., Salminen S.: Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin. Exp. Allergy*, 2000, **30**, 1604-1610.
- [26] Kajander K., Myllyluoma E., Rajilić-Stojanović M., Kyrönpalo S., Rasmussen M., Järvenpää S., Zoetendal E.G., de Vos W.M., Vapaatalo H., Korpela R.: Clinical trial: multi-species probiotic supplementation alleviates the symptoms of irritable bowel syndrome and stabilizes intestinal microbiota. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2008, **27**, 48-57.

- [27] Kaliomaki M., Salminen S., Arvilommi H., Kero P., Koskinen P., Isolauri E.: Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo – controlled trial. *Lancet*, 2001, **357**, 1076-1079.
- [28] Kaliomaki M., Salminen S., Poussa T., Arvilommi H., Isolauri E.: Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of randomized placebo – controlled trial. *Lancet*, 2003, **361**, 1869-1871.
- [29] Kim J.Y., Kwon J.H., Ahn S.H., Lee S.I., Han Y.S., Choi Y.O., Lee S.Y., Ahn K.M., Ji G.E.: Effect of probiotic mix (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*) in the primary prevention of eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2009, doi: 10.1111/j.1399-3038.2009.00958.
- [30] Kirpich I.A., Solovieva N.V., Leikhter S.N., Shidakova N.A., Lebedeva O.V. Sidorov P.I., Bazhukova T.A., Soloviev A.G., Barve S.S., McClain C.J., Cave M.: Probiotics restore bowel flora and improve liver enzymes in human alcohol-induced liver injury: a pilot study. *Alcohol*, 2008, **42**, 675-682.
- [31] Kopp M.V., Hennemuth I., Heinzmann A., Urbanek R.: Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus* GG supplementation. *Pediatrics*, 2008, **121** (4), e850-856.
- [32] Kotowska M., Albrecht P., Szajewska H.: *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2005, **21**, 583-590.
- [33] Krasse P., Carlsson B., Dahl C., Paulsson A., Nilsson A., Sinkiewicz G.: Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotics *Lactobacillus reuteri*. *Swed. Dent. J.*, 2006, **30**, 55-60.
- [34] Kuisma J., Mentula S., Jarvinen H., Kahri A., Saxelin M., Farkkila M.: Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG on ileal pouch inflammation and microbial flora. *Aliment. Pharm. Ther.*, 2003, **17**, 509-515.
- [35] Lee H.Y., Park J.H., Seok S.H. Baek M.W., Kim D.J., Lee K.E., Paek K.S., Lee Y., Park J.H.: Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60 produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, **1761**, 736-744.
- [36] Ley R.E., Tumbaugh P., Klein S., Gordon J.I.: Human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 2006, **444**, 1022-1023.
- [37] Lin H.C., Su B.H., Chen A.C., Lin T.W., Tsai C.H., Yeh T.F. Oh W.: Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics*, 2005, **115**, 1-4.
- [38] Mach T.: Clinical usefulness of probiotics in inflammatory bowel diseases. *J. Physiol. Pharm.*, 2006, **57** (9S), 23-33.
- [39] Majamaa H., Isolauri E.: Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1997, **99**, 179-185.
- [40] Marteau P., Lemann M., Seksik P. Laharie D., Colombel J.F., Bouhnik Y., Cadiot G., Soulé J.C., Bourreille A., Metman E., Lerebours E., Carbonnel F., Dupas J.L., Veyrac M., Coffin B., Moreau J., Abitbol V., Blum-Sperisen S., Mary J.Y.: Ineffectiveness of *Lactobacillus johnsonii* LA1 for prophylaxis of postoperative recurrence in Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled GETAID trial. *Gut*, 2006, **55**, 842-847.
- [41] Miele E., Pascarella F., Gianetti E., Quagelietta L., Baldassano R.N., Staiano A.: Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am. J. Gastroenterol.*, 2009, **104**, 437-443.
- [42] Mimura T., Rizzello F., Helwig U. Poggioli G., Schreiber S., Talbot I.C., Nicholls R.J., Gionchetti P., Campieri M., Kamm M.A.: Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. *Gut*, 2004, **53**, 108-114.

- [43] Mshvildadze M., Neu J.: Probiotics and prevention of necrotizing enterocolitis. *Early Hum. Dev.*, 2009, doi:10.1016/j.earlhumdev.2009.08.021.
- [44] Niv E., Naftali T., Hallak R., Vaisman N.: The efficacy of *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 in the treatment of patients with irritable bowel syndrome—a double blind, placebo-controlled, randomized study. *Clin. Nutr.*, 2005, **24** (6), 925-931.
- [45] Nowak A., Arabski M., Libudzisz Z.: Ability of intestinal Lactic Acid Bacteria to bind or/and metabolise indole. *Food Technol. Biotechnol.*, 2008, **46** (3), 299-304.
- [46] Nowak A., Libudzisz Z.: Ability of intestinal lactic bacteria to bind or/and metabolise phenol and p-cresol. *Annals Microbiol.*, 2007, **57** (3), 329-335.
- [47] Nowak A., Libudzisz Z.: Karcynogeny w przewodzie pokarmowym człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **4** (59), 5-21.
- [48] Nowak A., Libudzisz Z.: Karcynogenna aktywność mikroorganizmów jelitowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **6** (61), 25-39.
- [49] Nowak A., Libudzisz Z.: Ability of probiotic *Lactobacillus casei* DN 114001 to bind or/and metabolise heterocyclic aromatic amines (HCA) *in vitro*. *Eur. J. Nutr.*, 2009, **48** (7), 419-427.
- [50] Rafter J., Bennett M., Caderni G., Clune I., Hughes R., Karlsson P.C., Klinder A., O’Riordan M., O’Sullivan G., Pool-Zobel B., Rechkemmer G., Roller M., Rowland I.R. Salvadori M., Thijs H., Van Loo J., Watzl B., Collins J.K.: Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *Am J. Clin. Nutr.*, 2007, **85** (2), 488-496.
- [51] Raoult D.: Obesity pandemics and the modification of digestive bacterial flora. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2008, **27**, 631-634.
- [52] Rowland I.R.: The role of the gastrointestinal microbiota in colorectal cancer. *Curr. Pharm. Des.*, 2009, **15**, 1524-1527.
- [53] Salazar-Lindo E., Miranda-Langschwager P., Campos-Sanchez M., Chea-Woo E., Sack R.B.: *Lactobacillus casei* strain GG in the treatment of infants with acute watery diarrhea: a randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial. *BMC Pediatr.*, 2004, **4**, 18, doi:10.1186/1471-2431-4-18.
- [54] Sazawal S., Hiremath G., Dhingra U., Malik P., Deb S., Black R.E.: Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect. Dis.*, 2006, **6**, 374–82.
- [55] Sood A., Midha V., Makharia G.K., Ahuja V., Singal D., Goswami P., Tandon R.K.: The Probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 2009, doi:10.1016/j.cgh.2009.07.016.
- [56] Szajewska H., Mrukowicz J.Z.: Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: A systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Ped. Gastroenterol. Nutr.*, 2001, **33**, S17-S25.
- [57] Szajewska H., Skórka A., Ruszczyński M., Gieruszczak-Białek D.: Meta-analysis: *Lactobacillus* GG for treating acute diarrhoea in children. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2007, **25**, 871–881.
- [58] Tennyson C.A., Friedman G.: Microecology, obesity and probiotics. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.*, 2008, **15** (5), 422-427.
- [59] Tilg H., Moschen A.R., Kaser A.: Obesity and the microbiota. *Gastroenterol.*, 2009, **136**, 1476-1483.
- [60] Tong J.L., Ran Z.H., Shen J., Zhang C.X., Xiao S.D.: Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2007, **25**, 155–168.
- [61] Turnbaugh P.J., Ridaura V.K., Faith J.J., Rey F.E., Gordon J.I., Knight R.: The effect of diet on the human gut microbiome: A metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Science Translational Med.*, 2009, **1**, doi: 10.1126/scitranslmed.3000322
- [62] van Loo J., Clune Y., Bennett M., Collins J.K.: The SYNCAN project: goals, set-up, first results and settings of the human intervention study. *Br. J. Nutr.*, 2005, **93** (1S), S91-98.

- [63] Vanderhoof J.A., Whitney D.B., Antonson D.L., Hanner T.L., Lupo J.V., Young R.J.: *Lactobacillus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children J. Pediatr., 1999, **135 (5)**, 564-568.
- [64] van Niel C.W., Feudtner C., Garrison M.M., Christakis D.A.: A *Lactobacillus* therapy for acute infectious diarrhea in children: Meta-analysis. Pediatrics, 2002, **109**, 678-684.
- [65] Vasiljevic T., Shah N.P.: Probiotics – from Metchnikoff to bioactives. Int. Dairy J., 2008, **18**, 714-728.
- [66] Wang K.Y., Li S.N., Liu C.S., Perng D.S., Su Y.C., Wu D.C. Jan C.M., Lai C.H., Wang T.N., Wang W.M.: Effects of ingesting *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*-containing yoghurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. Am. J. Clin. Nutr., 2004, **80**, 737-741.
- [67] Zocco M.A., Zireli Dal Verme L., Armuzzi A.: Comparison of *Lactobacillus* GG and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis and Crohn's disease. Gastroenterol., 2003, **124 (1S)**, A201.
- [68] Probiotics may ease anxiety: Pilot study - <http://www.nutraingredients.com>
- [69] Synbiotics and Cancer Prevention Projects <http://www.syncan.be>
- [70] ISAPP response to Utrecht warning about probiotics - <http://www.isapp.net>
- [71] Nutrition and Health claims - <http://www.efsa.europa.eu/en/faqs/faqnutrition.htm>

PROBIOTICS – HEALTH EFFECTS

S u m m a r y

Beneficial effects of probiotics on human health were discussed in this paper, and, in particular, their role in reducing risks of civilization diseases, such as: tumours, obesity, allergies. A separate chapter was devoted to the safety aspects of using (consuming) probiotic products.

Key words: probiotics, health effects ☒

JERZY SZPENDOWSKI, BOGUSŁAW STANIEWSKI, KRZYSZTOF
BOHDZIEWICZ, KRZYSZTOF SIEMIANOWSKI, EMIL SZYMAŃSKI

WPLYW EKSTRUZJI NA WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE I CZYSTOŚĆ MIKROBIOLOGICZNĄ KAZEINY

Streszczenie

Badania wykazały, że proces ekstruzji technicznej kazeiny kwasowej i podpuszczkowej wpływał istotnie na poprawę czystości mikrobiologicznej tych preparatów białkowych, dzięki czemu mogły spełniać wymogi Polskiej Normy. W czasie ekstruzji zachodziło częściowe przemieszczanie się żelaza, miedzi, cynku i cyny do ekstrudowanych preparatów kazeinowych oraz występowały interakcje pomiędzy kazeiną a niskocząsteczkowymi związkami azotowymi. Kazeina ekstrudowana tworzyła 2-krotnie bardziej lepki roztwór w 0,5 % ortofosforanie dwusodowym, w porównaniu z kazeiną niepoddaną ekstruzji. W procesie ekstruzji zachodziła modyfikacja zwartej i upakowanej struktury kazeiny w strukturę porowatą o powierzchni rozwiniętej, przy czym kazeina kwasowa wykazywała lepszą podatność na strukturyzację niż kazeina podpuszczkowa.

Słowa kluczowe: ekstruzja, kazeina kwasowa, kazeina podpuszczkowa, lepkość, mikrostruktura

Wprowadzenie

Kazeina jest głównym białkiem mleka zaliczanym do fosfoproteidów i ze względu na wysoką wartość odżywczą należy do ważnych składników diety człowieka. Kazeinę uzyskuje się z mleka odtłuszczonego poprzez wytrącenie jej za pomocą kwasów lub enzymów koagulujących. W zależności od sposobu wytrącania rozróżnia się kazeinę kwasową – otrzymaną w wyniku koagulacji białka w punkcie izoelektrycznym poprzez dodatek kwasów lub kazeinę podpuszczkową otrzymaną w wyniku działania podpuszczki (enzymu koagulującego). Koagulat kazeiny, po oddzieleniu serwatki, wypłukaniu i wysuszeniu stanowi trwały koncentrat białkowy, stosowany jako dodatek funkcjonalny podnoszący wartość odżywczą wielu produktów spożywczych [10, 13]. Jednym z warunków, który musi spełniać kazeina jest jej wysoka czystość mikrobiolo-

Prof. dr hab. inż. J. Szpendowski, dr hab. B. Staniewski, prof. UWM w Olsztynie, dr inż. K. Bohdziewicz, mgr inż. E. Szymański, inż. K. Siemianowski, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn

giczna oraz zgodny z wymogami normy skład chemiczny. Poprawę czystości mikrobiologicznej kazeiny można uzyskać, stosując metodę ekstruzji, która zaliczana jest do procesów HTST. W czasie ekstruzji zachodzi krótkotrwałe działanie wysokiej temperatury, ciśnienia i sił ścinających, które powodują skuteczne zniszczenie komórek drobnoustrojów, przy jednoczesnym nieznacznym wpływie na składniki preparatów białkowych poddawanych temu procesowi [6]. W branży mleczarskiej proces ekstruzji stosowany jest w technologii kazeinianów, serów topionych, serów parzonych, analogów serów i mięsa oraz do poprawy czystości mikrobiologicznej koncentratów białek serwatkowych [6, 17, 18, 20, 22].

Wpływ procesu ekstruzji na białka mleka nie jest do końca zbadany. Dlatego też podjęto badania nad wpływem ekstruzji na właściwości fizykochemiczne i mikrobiologiczne kazeiny otrzymanej przemysłowo w formie kwasowej i podpuszczkowej.

Material i metody badań

Do badań użyto kazeiny wyprodukowanej przemysłowo w formie kwasowej lub podpuszczkowej, którą ze względu na nadmierne zakażenia mikrobiologiczne zaklasyfikowano do kazeiny technicznej [14]. Preparaty kazeiny kwasowej i podpuszczkowej wyprodukował na zlecenie Zakładu Przetwórczego Kazeiny w Murowanej Goślinie – Zakład Mleczarski (Ostawski Mołocznoj Zawod) w miejscowości Postawy (Białoruś). Preparaty kazeiny poddawano modyfikacji ekstruzyjnej na linii technologicznej wyposażonej w dwuślimakowy, czterosekcyjny ekstruder CLEXTRAL BC 92 wraz z urządzeniami pomocniczymi do przemiału surowca oraz ekstrudowanych produktów. Proces ekstruzji kazeiny o wielkości cząstek 60 mesh prowadzono w temp. 110 - 120 °C, przy wilgotności surowca 8 - 10 %. Kazeinę ekstrudowaną wychładzano, rozdrabniano i mielono do wielkości cząstek 60 mesh. Przeprowadzono po 6 produkcji doświadczalnych, używając jako surowca kazeiny technicznej klasy I. Rezultaty badań są średnią pomiarów z 6 produktów analizowanych w 2 powtórzeniach.

W kazeinach przed procesem oraz po procesie ekstruzji oznaczano zawartość: wody, białka, tłuszczu i popiołu według AOAC [2], laktozy metodą fenolową według IDF [9] i związków azotowych niebiałkowych wg Alaisa [1].

Zawartość żelaza, miedzi, cynku, cyny, ołowiu, arsenu, kadmu i rtęci oznaczano przy użyciu spektrofotometru absorpcji atomowej SP-2900, Pye Unicam, z korekcją tła w systemie płomieniowym, z zastosowaniem odpowiednich lamp katodowych wg Whiteside [23].

Mikrostrukturę preparatów badano przy użyciu mikroskopu elektronowego skaningowego QUANTA 200 FEI Company. Próbkę umieszczano bezpośrednio na płytce mikroskopu i wykonywano zdjęcia przy następujących parametrach pracy urządzenia: napięcie przyspieszające (HV) – od 10 do 30 kV, ciśnienie – 100 kPa (do małych powiększeń) i 150 kPa (do dużych powiększeń), detektor GSED – do dużych powięk-

szeń, detektor ETD – do małych powiększeń. Wykonano serię zdjęć, które były podstawą opisu mikrostruktury preparatów.

Lepkość pozorną 2,5 % roztworów kazeiny w 0,5 % ortofosforanie dwusodowym wykonywano przy użyciu lepkościomierza Rheotest-2 wg O'Suliwana i Mulvihilla [12]. Pomiar lepkości wykonywano w temp. 20 °C, stosując końcówkę pomiarową (cylinder – walec) typu S₁, w zakresie szybkości ścinania Dr od 3 do 1312 s⁻¹.

Badania mikrobiologiczne surowca i kazeiny ekstrudowanej obejmowały oznaczenia: ogólnej liczby drobnoustrojów w 1 g, pleśni i drożdży w 1 g, obecności bakterii z grupy *coli* w 0,1 g, *Staphylococcus aureus* w 0,1 g, pałeczek *Salmonella* w 25 g i *Listeria monocytogenes* w 1 g [15].

Wyniki i dyskusja

Celem przeprowadzonego procesu ekstruzji była poprawa czystości mikrobiologicznej kazein, przy nieznacznych tylko zmianach podstawowych składników tych preparatów białkowych.

Badania czystości mikrobiologicznej kazein przed ekstruzją wykazały znaczny stopień zanieczyszczenia drobnoustrojami (tab. 1). Ogólna liczba drobnoustrojów w kazeinach wynosiła od $2,7 \times 10^5$ do $2,8 \times 10^5$ jtk/g, liczba bakterii z grupy *coli* od 20 do 30 jtk w 0,1 g oraz drożdży i pleśni od 400 do 500 jtk/g. Pod wpływem procesu ekstruzji stwierdzono ponad 1000-krotny spadek ogólnej liczby drobnoustrojów w badanych preparatach białkowych (do $1,4 \times 10^2$ - $1,8 \times 10^2$ jtk/g). W kazeinie ekstrudowanej nie wykazano obecności bakterii z grupy *coli* w 0,1 g oraz drożdży i pleśni w 1 g. Zarówno przed, jak i po procesie ekstruzji w kazeinach nie stwierdzono obecności bakterii chorobotwórczych – *Listeria monocytogenes* i *Staphylococcus aureus* w 1 g i *Salmonella* w 25 g. Z przeprowadzonych badań wynika, że proces ekstruzji jest bardzo efektywną metodą poprawy czystości mikrobiologicznej preparatów białkowych z mleka. Wcześniejsze badania Szpendowskiego i Śmietany [18] wykazały, że w procesie ekstruzji kazeiny zawierającej 760 tysięcy jtk/g otrzymano całkowicie sterylne kazeinian sodu i wapnia. W procesie ekstruzji zachodziło całkowite zniszczenie przetrwalników bakterii, bakterii termofilnych oraz drożdży i pleśni. Doświadczenia przeprowadzone przez Bacę i wsp. [3] dowiodły, że w procesie ekstruzji kazeiny kwasowej zachodziło obniżenie liczby drobnoustrojów od 1,1 miliona do 320 jtk/g. Badania Queguinera i wsp. [16] wykazały, że proces ekstruzji może być zastosowany do redukcji liczby komórek bakterii *Streptococcus thermophilus* w koncentracji białek serwatkowych otrzymanych przy użyciu procesu ultrafiltracji. Proces ekstruzji prowadzonej w temp. 133 °C wpłynął na redukcję liczby bakterii *Streptococcus thermophilus* od 1×10^5 do około 10 jtk/g.

Tabela 1

Wyniki analizy mikrobiologicznej preparatów kazeinowych.
Results of microbiological analysis of casein preparations.

Kazeina Casein	Ogólna liczba drobnoustrojów w 1 g Total amount of microorganisms in 1 g	Bakterie z grupy <i>coli</i> w 0,1 g Coliforms in 0.1 g	Drożdże i pleśnie w 1 g Yeasts and moulds in 1 g	<i>Listeria monocytogenes</i> w 1 g <i>Listeria monocytogenes</i> in 1 g	<i>Staphylococcus aureus</i> w 0,1 g <i>Staphylococcus aureus</i> in 0,1 g	<i>Salmonella</i> w 25 g <i>Salmonella</i> in 25 g
Kazeina podpuszczkowa: Rennet casein:						
- przed ekstruzją before extrusion	2,7×10 ⁵	30	400	nb / ab	nb / ab	nb / ab
- po ekstruzji after extrusion	2,1×10 ²	nb / ab	nb / ab	nb / ab	nb / ab	nb / ab
Kazeina kwasowa: Acid casein:						
- przed ekstruzją before extrusion	2,8×10 ⁵	20	500	nb / ab	nb / ab	nb / ab
- po ekstruzji after extrusion	1,4×10 ²	nb / ab	nb / ab	nb / ab	nb / ab	nb / ab

nb – nieobecny / absent

Można sądzić, że w czasie ekstruzji zachodzi destrukcja komórek drobnoustrojów nie tylko pod wpływem wysokiej temperatury, lecz również w wyniku intensywnych sił tarcia oraz gwałtownej redukcji ciśnienia, po opuszczeniu przez wstęgę białka dyszy wylotowej ekstrudera. Nieznaczna liczba drobnoustrojów w kazeinie ekstrudowanej jest prawdopodobnie skutkiem reinfekcji, która może zachodzić w czasie etapów wychładzania, mielenia i pakowania produktów.

W dalszym etapie doświadczenia podjęto badania wpływu procesu ekstruzji na podstawowe składniki (tab. 2) i mikroelementy kazeiny (tab. 3.).

Kazeina kwasowa, w porównaniu z kazeiną podpuszczkową, wykazywała większą zawartość białka w suchej masie (95,66 % wobec 89,51 %) i tłuszczu (1,45 % wobec 1,24 %) oraz mniejszą zawartość laktozy (0,99 % wobec 1,12 %) i związków mineralnych w postaci popiołu (1,42 % wobec 7,27 %). Badania wykazały, że proces ekstruzji wpływał statystycznie istotnie (na poziomie $\alpha = 0,05$) na zmniejszenie zawartości wody (od 9,11 - 11,23 % do 5,29 - 6,01 %). Natomiast zawartość białka, tłuszczu, laktozy i popiołu w suchej masie kazeiny pod wpływem procesu ekstruzji nie ulegała istotnym zmianom.

Tabela 2

Podstawowy skład chemiczny preparatów kazeiny.
Basic chemical composition of casein preparations.

Kazeina Casein	Woda Water [%]	Składniki w suchej masie / Components in dry matter [%]			
		białko protein	tłuszcz fat	laktoza lactose	popiół ash
Kazeina podpuszczkowa: Rennet casein:					
- przed ekstruzją before extrusion	11,23 ^A (± 0,40)	89,51 ^A (± 1,43)	1,24 ^A (± 0,12)	1,12 ^A (± 0,11)	7,37 ^A (± 0,65)
- po ekstruzji after extrusion	5,29 ^B (± 0,34)	89,41 ^A (± 1,39)	1,27 ^A (± 0,11)	1,10 ^A (± 0,13)	7,39 ^A (± 0,59)
Kazeina kwasowa: Acid casein:					
- przed ekstruzją before extrusion	9,11 ^C (± 0,32)	95,66 ^B (± 1,51)	1,45 ^B (± 0,13)	0,99 ^B (± 0,10)	1,42 ^B (± 0,21)
- po ekstruzji after extrusion	6,01 ^D (± 0,26)	95,42 ^B (± 1,49)	1,44 ^B (± 0,13)	0,98 ^B (± 0,09)	1,44 ^B (± 0,20)

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A, B, C, D – wartości średnie oznaczone w tej samej kolumnie różnią się w sposób statystycznie istotny przy $\alpha = 0,05$ / mean values designated by different letters and placed in the same column differ statistically significantly at a level of $\alpha = 0.05$.

Analiza wybranych mikroelementów wykazała, że proces ekstruzji wpływał na około 1,5 - 3-krotny wzrost zawartości żelaza, 1,5-krotny wzrost zawartości miedzi, 2-krotny wzrost zawartości cynku i 3-krotny wzrost zawartości cyny (tab. 3). Podwyższona zawartość żelaza, miedzi, cynku i cyny w kazeinie pod wpływem ekstruzji mogła być efektem migracji tych pierwiastków z części roboczych ekstrudera, w których zachodzi intensywne tarcie (bęben i ślimaki). Przemieszczanie się niektórych mikroelementów z ekstrudera do produktów może być skutkiem oddziaływań mechanicznych, jak również reakcji chemicznych pomiędzy grupami funkcyjnymi białka a tymi pierwiastkami. W nieznacznym stopniu jony niektórych metali mogły pochodzić z wody technologicznej dozowanej do kazeiny w czasie ekstruzji, przy czym uwzględniając fakt, że w procesie technologicznym dodaje się około 15 % wody w stosunku do surowca, jej wpływ na zawartość badanych pierwiastków wydaje się niewielki. Zawartość bezwzględnie szkodliwych dla zdrowia ołowiu, arsenu, kadmu i rtęci nie ulegała istotnym zmianom w procesie ekstruzji. Zawartość ołowiu wynosiła od 0,11 do 0,22 mg/kg s.m., arsenu od 0,14 do 0,18 mg/kg s.m., natomiast kadmu i rtęci we wszystkich badanych próbach nie przekraczała wartości 0,01 mg/kg s.m. W żadnym z badanych preparatów nie stwierdzono przekroczenia dopuszczalnych w normie poziomów tych mikroelementów [14].

Tabela 3

Zawartość mikroelementów w preparatach kazeinowych.
Content of microelements in casein preparations.

Kazeina Casein	Zawartość mikroelementów / Content of microelements [mg/ kg d.m.]							
	Fe	Cu	Zn	Sn	Pb	As	Cd	Hg
Kazeina podpuszczkowa: Rennet casein:								
- przed ekstruzją before extrusion	25,28 ^A (±0,89)	2,28 ^A (±0,12)	11,27 ^A (±0,48)	1,36 ^A (±0,09)	0,21 ^A (±0,02)	0,18 ^A (±0,01)	< 0,01	< 0,01
- po ekstruzji after extrusion	37,29 ^B (±1,06)	4,50 ^B (±0,15)	23,46 ^B (±0,78)	4,78 ^B (±0,21)	0,22 ^A (±0,02)	0,17 ^A (±0,01)	< 0,01	< 0,01
Kazeina kwasowa: Acid casein:								
- przed ekstruzją before extrusion	12,36 ^C (±0,39)	2,26 ^A (±0,13)	12,56 ^C (±0,43)	1,24 ^C (±0,09)	0,11 ^B (±0,02)	0,15 ^B (±0,02)	< 0,01	< 0,01
- po ekstruzji after extrusion	43,41 ^D (±1,12)	4,41 ^B (±0,16)	25,00 ^D (±0,69)	4,34 ^D (±0,19)	0,12 ^B (±0,02)	0,14 ^B (±0,02)	< 0,01	< 0,01

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A, B, C, D – wartości średnie oznaczone w tej samej kolumnie różnią się w sposób statystycznie istotny przy $\alpha = 0,05$ / mean values designated by different letters and placed in the same column differ statistically significantly at a level of $\alpha = 0.5$.

Celem uzupełnienia badań składu chemicznego kazeiny przeprowadzono analizę zawartości związków azotowych ogółem i związków azotowych niebiałkowych (rozpuszczalnych w 12 % kwasie trójchlorooctowym). Kazeina kwasowa wykazywała, w porównaniu z kazeiną podpuszczkową, wyższy poziom związków azotowych ogółem (14,99 %, wobec 14,03 %). Z badań wynika, że zawartość związków azotowych niebiałkowych w obu kazeinach uległa statystycznie istotnemu (na poziomie $\alpha = 0,05$) zmniejszeniu od 0,24 - 0,25 %, w kazeinach przed ekstruzją, do 0,16 - 0,17 %, w kazeinach po ekstruzji (tab. 4).

Lieske i Konrad [11] wykazali, że w procesie ekstruzji kazeinianów może zachodzić uwalnianie niskocząsteczkowych związków azotowych na skutek częściowej hydrolizy białka. Natomiast wcześniejsze badania Szpendowskiego [17] wskazały na możliwość zachodzenia interakcji pomiędzy cząsteczkami kazeiny a niskocząsteczkowymi związkami azotowymi, wraz ze zmniejszaniem się ich zawartości w kazeinowych produktach ekstrudowanych.

Badania lepkości 2,5 % roztworów kazeiny w 0,5 % ortofosforanie dwusodowym wykazały, że kazeina podpuszczkowa tworzy blisko 2-krotnie bardziej lepki roztwór, w porównaniu z kazeiną kwasową (rys. 1). Proces ekstruzji wpłynął na wzrost lepkości zarówno roztworów kazeiny podpuszczkowej, jak i kwasowej.

Tabela 4

Skład związków azotowych w preparatach kazeinowych
Composition of nitrogen compounds in casein preparations.

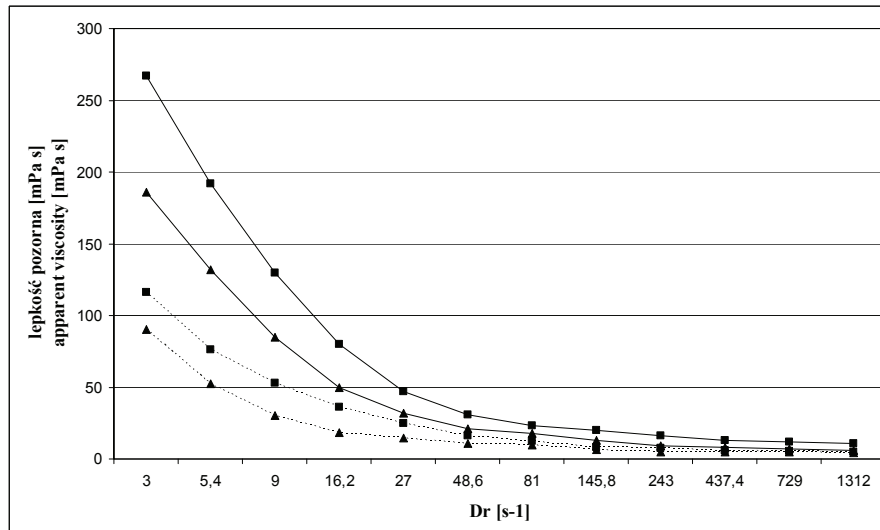
Kazeina Casein	Związki azotowe ogółem Total nitrogen compounds [%s.m. / d.m.]	Związki azotowe niebiałkowe Non-protein nitrogen compounds [% s.m. / d.m.]	Związki azotowe niebiał- kowe w % związków azotowych ogółem Non-protein nitrogen compounds as % of total nitrogen compounds
Kazeina podpuszczkowa: Rennet casein:			
- przed ekstruzją before extrusion	14,03 ^A (± 0,45)	0,25 ^A (± 0,03)	1,78 ^A (± 0,12)
- po ekstruzji after extrusion	14,01 ^A (± 0,51)	0,17 ^B (± 0,02)	1,21 ^B (± 0,11)
Kazeina kwasowa: Acid casein:			
- przed ekstruzją before extrusion	14,99 ^B (± 0,46)	0,24 ^A (± 0,03)	1,60 ^A (± 0,11)
- po ekstruzji after extrusion	14,96 ^B (± 0,43)	0,16 ^B (± 0,02)	1,10 ^B (± 0,09)

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A, B, C, D – wartości średnie oznaczone w tej samej kolumnie różnią się w sposób statystycznie istotny przy $\alpha = 0,05$ / mean values designated by different letters and placed in the same column differ statistically significantly at a level of $\alpha = 0.05$.

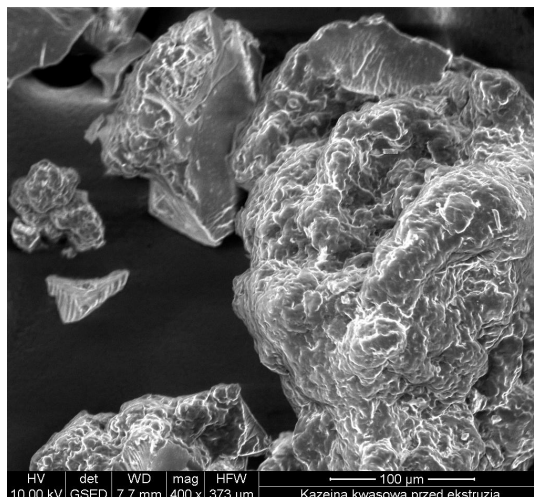
Wyższa lepkość roztworów kazeiny poddanej ekstruzji wynika prawdopodobnie ze wzrostu masy cząsteczkowej agregatów kazeiny, które tworzą się w tym procesie. Zmiany konformacyjne cząsteczek kazeiny są efektem termicznej denaturacji białka, która zachodzi wraz z rozwinięciem struktury i zwiększeniem dostępności do wolnych grup funkcyjnych. Oddziaływania za pośrednictwem wolnych grup funkcyjnych oraz obszarów hydrofobowych pomiędzy cząsteczkami kazeiny są odpowiedzialne za właściwości reologiczne roztworów i żelu białkowego [21]. Roztwory białek o większej wielkości cząsteczek oraz w takich, w których zachodzą silne oddziaływania między cząsteczkami wykazują wyższą lepkość niż roztwory białek o mniejszej wielkości cząsteczek [4]. Lepkość jest ważnym wyróżnikiem charakteryzującym izolaty białkowe, określającym możliwości ich stosowania w przemyśle spożywczym w charakterze zagęstników. Roztwory kazeiny w środowisku alkalicznym charakteryzują się szczególnie wysoką lepkością, przy czym relacje między ich koncentracją a lepkością mają przebieg logarytmiczny [4]. Spadek lepkości roztworu kazeiny obserwuje się po drastycznym ogrzewaniu w temp. 120 - 132 °C/60 min, jako skutek hydrolizy wysokocząsteczkowej kazeiny do niskocząsteczkowych peptydów [8]. Lepkość preparatów biał-

kowych zależy od metody ich pozyskiwania, temperatury pomiaru, pH, w którym wytrącono białko, temperatury suszenia, zawartości wapnia [4, 5, 7].



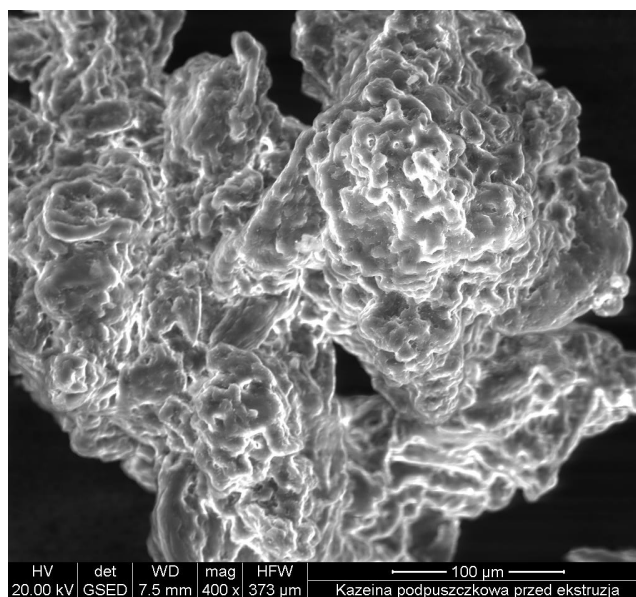
—■— kazeina podpuszczkowa po ekstruzji / rennet casein after extrusion
 —▲— kazeina podpuszczkowa przed ekstruzją / rennet casein before extrusion
 - - - ■ - - - kazeina kwasowa po ekstruzji / acid casein after extrusion
 - - - ▲ - - - kazeina kwasowa przed ekstruzją / acid casein before extrusion
 Dr – szybkość ścinania / cutting speed.

Rys. 1. Lepkość pozorna 2,5 % roztworów kazeiny w 0,5 % ortofosforanie dwusodowym.
 Fig. 1. Apparent viscosity of 2.5 % casein solutions in 0.5 % di-sodium orthophosphate.



Fot. 1. Mikrografia elektronowa skaningowa kazeiny kwasowej przed ekstruzją.
 Fig. 1. Scanning electron micrograph of acid casein before extrusion.

Badania mikrostruktury, prowadzone techniką mikroskopii elektronowej skaningowej, wykazały, że kazeina niezależnie od sposobu koagulacji (kwasowej lub podpuszczkowej) występowała w postaci granulatu o różnej wielkości (fot. 1 i 2). Zarówno kazeina podpuszczkowa, jak i kwasowa charakteryzowały się upakowaną i zwartą strukturą. Podczas procesu technologicznego produkcji kazeiny, wskutek koagulacji następowało zespolenie się pojedynczych podjednostek kazeiny w większe skupiska, a te łączyły się z sobą w większe struktury skrzepu kazeinowego. Dalsze etapy procesu, takie jak odwadnianie kazeiny, (prasowanie skrzepu i suszenie termiczne) decydowały o kształtowaniu się warstwowej struktury preparatu białkowego, co jest widoczne na fot. 1 i 2. Proces ekstruzji wpływał na modyfikację struktury kazeiny. W obrazie mikroskopowym ekstrudowanej kazeiny kwasowej (fot. 3) widoczne są liczne otworki ukształtowane prawdopodobnie przez migrującą parę wodną w czasie gwałtownej redukcji ciśnienia w procesie ekstruzji. Kazeina kwasowa poddana ekstruzji charakteryzowała się dobrze rozwiniętą, porowatą strukturą (fot. 3). Natomiast ekstrudowana kazeina podpuszczkowa zachowała w dużym stopniu zwartą strukturę warstwową, jaką wykazywał preparat przed ekstruzją (fot. 4). W nielicznych obszarach cząstki tego preparatu białkowego widoczne są wolne przestrzenie.

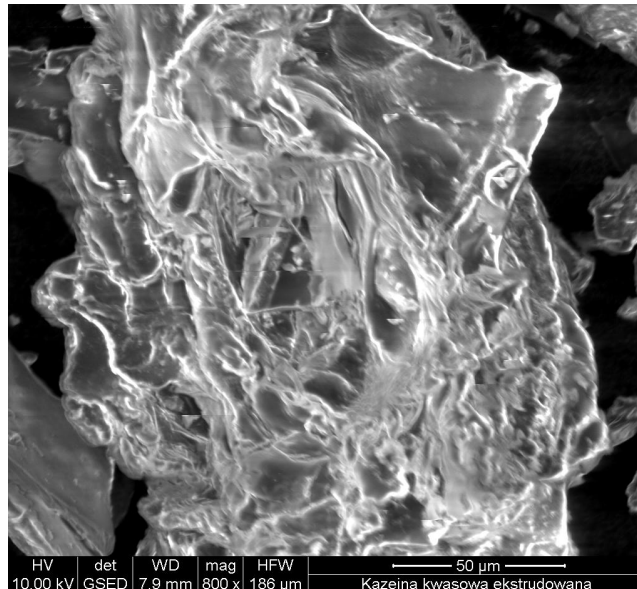


Fot. 2. Mikrografia elektronowa skaningowa kazeiny podpuszczkowej przed ekstruzją.

Fig. 2. Scanning electron micrograph of rennet casein before extrusion.

Wcześniejsze badania wykazały, że ważnymi składnikami strukturotwórczym są wapń i fosfor [19]. Za pośrednictwem wapnia i fosforu, uczestniczących w tworzeniu

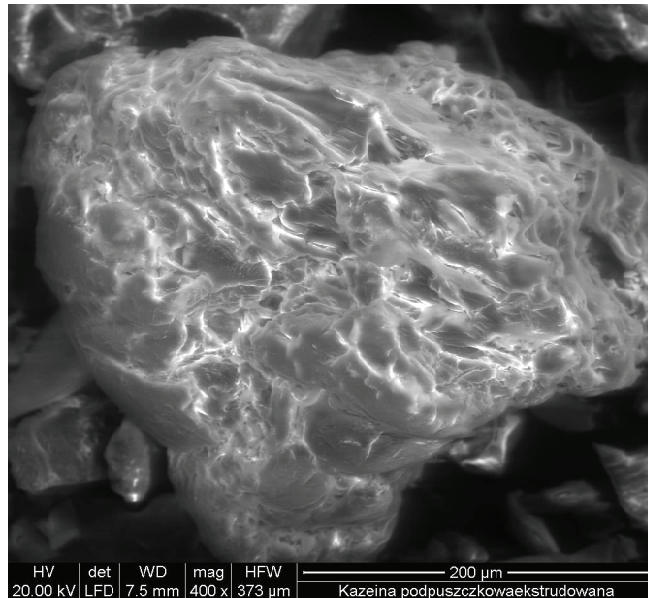
silnych wiązań jonowych, utrzymywana jest zwarta struktura przestrzenna skrzepu parakazeinianu wapnia. Zmniejszenie zawartości wapnia i fosforu w kazeinie podpuszczkowej poprzez buforowanie skrzepu kwasem mlekowym lub solnym wpływało na zwiększenie podatności na restrukturyzację białka w procesie ekstruzji [19]. Kazeina kwasowa, która zawiera kilkanaście razy mniej wapnia i fosforu niż kazeina podpuszczkowa, jest znacznie bardziej podatna na zmiany struktury w czasie mechaniczno-ciepłej obróbki zachodzącej w czasie ekstruzji. Wskazywał na to wysoki współczynnik ekspansji, wyrażający stosunek średnicy wstęgi ekstrudowanego białka do średnicy dyszy wylotowej ekstrudera oraz niższa gęstość preparatu kazeiny kwasowej, w porównaniu z kazeiną podpuszczkową [20].



Fot. 3. Mikrografia elektronowa skaningowa kazeiny kwasowej po ekstruzji.

Fig. 3. Scanning electron micrograph of acid casein after extrusion.

Mikrostruktura koncentratów białkowych wpływa istotnie na ich właściwości funkcjonalne. Tossaavainen i wsp. [22] wykazali, że dzięki silnie porowatej strukturze kazeinianu sodu otrzymanego metodą ekstruzji preparat ten charakteryzuje się znacznie wyższą szybkością rozpuszczania w wodzie w porównaniu z kazeinianem sodu wyprodukowanym tradycyjną metodą zbiornikową. Preparaty białkowe charakteryzujące się dobrze rozwiniętą, porowatą strukturą cząstek wykazują lepsze zdolności wiązania wody i tłuszczu w porównaniu z koncentratami białkowymi o zwartej i upakowanej strukturze [20].



Fot. 4. Mikrografia elektronowa skaningowa kazeiny podpuszczkowej po ekstruzji.

Fig. 4. Scanning electron micrograph of rennet casein after extrusion.

Wnioski

1. Proces ekstruzji technicznej kazeiny kwasowej i podpuszczkowej wpływał istotnie na poprawę czystości mikrobiologicznej tych preparatów białkowych, dzięki czemu mogły spełniać wymogi Polskiej Normy dotyczące kazeiny spożywczej.
2. W czasie ekstruzji zachodziło częściowe przemieszczanie się żelaza, miedzi, cynku i cyny z części roboczych ekstrudera (bębna i ślimaków) do ekstrudowanych preparatów kazeinowych oraz występowały interakcje pomiędzy kazeiną a niskocząsteczkowymi związkami azotowymi.
3. Kazeina ekstrudowana tworzyła 2-krotnie bardziej lepki roztwór w 0,5 % ortofosforanie dwusodowym, w porównaniu z kazeiną niepoddaną ekstruzji.
4. W procesie ekstruzji zachodziła modyfikacja zwartej i upakowanej struktury kazeiny w strukturę porowatą o powierzchni rozwiniętej, przy czym kazeina kwasowa wykazywała większą podatność na strukturyzację w porównaniu z kazeiną podpuszczkową.

Literatura


- [1] Alais C.: Etude de la liberation de l'azote, du phosphore de la l'acide sialique non proteiques, au cours de l'action de la extrusion sur la caseine. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1963, **3**, 391-401.

- [2] AOAC: Official Methods of Analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, 1984.
- [3] Baca E., Skarzyńska M., Gaweł J., Jaworski S.: Wpływ warunków produkcji kazeiny na jej właściwości funkcjonalne. *Przevl. Mlecz.*, 1995, **6**, 163-166.
- [4] Dimitreli G., Thomareis A. S.: Effect of temperature and chemical composition on processed cheese apparent viscosity. *J. Food Eng.*, 2004, **64**, 265-271.
- [5] Ennis M., O'Sullivan M.M., Mulvihill D.M.: The hydration behaviour of rennet caseins in calcium chelating salt solution as determined using a rheological approach. *Food Hydrocoll.*, 1998, **12**, 451-457.
- [6] Fichtali J., van de Voort.: Performance evaluation of acid casein neutralization process by twin-screw extrusion. *J. Food Eng.*, 1995, **26**, 301-318.
- [7] Gaiani C., Scher J., Schuck P., Hardy J., Desobry S., Banon S.: The dissolution behaviour of native phosphocaseinate as function of extrusion and temperature using a rheological approach. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 1427-1434.
- [8] Guo M.R., Fox P.F., Flann A., Kinstedt P.S.: Heat-induced modification of the functional properties of sodium caseinate. *Int. Dairy J.*, 1996, **6**, 473-483.
- [9] International Standard FIL/IDF: Casein and caseinates. Determination of lactose content – photometric method. 1989, 106, 1 - 5.
- [10] Krogulec J.: *Produkcja kazeiny*. Wyd. Spółdzielcze, Warszawa 1987.
- [11] Lieske B., Konrad G.: Thermal modification of sodium caseinate. 1. Influence of temperature and pH on selected of physico-chemical and functional properties. *Milchwissenschaft*, 1994, **49**, 16-19.
- [12] O'Sullivan M.M., Mulvihill D.M.: Influence of some physico-chemical characteristics of commercial rennet caseins on the performance of the casein in Mozzarella cheese analogue manufacture. *Int. Dairy J.*, 2001, **11**, 153-163.
- [13] Pijanowski E., Gaweł J.: *Zarys chemii i technologii mleczarstwa*. Tom 3, PWRiL, Warszawa 1985.
- [14] PN-A-86350: 1996. Mleko i przetwory mlecarskie. Kazeina i kazeiniany.
- [15] PN-A-86350: 1993. Mleko i przetwory mlecarskie. Badania mikrobiologiczne.
- [16] Queguiner C., Dumay E., Cavalier C., Chefte J.C.: Reduction of *Streptococcus thermophilus* in a whey protein isolate by low moisture extrusion cooking without loss of functional properties. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1989, **24**, 601-612.
- [17] Szpendowski J.: Modyfikacje kazeiny metodą ekstruzji. *Acta Acad. Agricult. Techn. Olst., Tech.*, 1991, **23**, 1-43.
- [18] Szpendowski J., Śmietana Z.: Otrzymywanie kazeinianów metodą ekstruzji. *Przevl. Mlecz.*, 1991, **3**, 16-17.
- [19] Szpendowski J., Śmietana Z., Chojnowski W.: The effect of calcium and phosphorus on some properties of casein extruded products. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1993, **3**, 55-62.
- [20] Szpendowski J., Śmietana Z., Chojnowski W., Świągł J.: Modification of structure of casein preparation in the course extrusion. *Nahrung*, 1994, **38**, 253-258.
- [21] Szpendowski J.: Hydrofobowość białek mleka a ich właściwości funkcjonalne. *Przem. Spoż.*, 1997, **8**, 16-31.
- [22] Tossavainen O., Hakulin S., Kervinen R., Myllymäki O., Linko P.: Neutralization of acid casein in a twin-screw cooking extruder. *Lebensm.-Wiss. Techn.* 1986, **19**, 443-447.
- [23] Whiteside P. J.: *Atomic Absorption-Data Book*. Pye Unicam Ltd Cambridge, England, 1976.

**EFFECT OF EXTRUSION ON PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND
MICROBIOLOGICAL PURITY OF CASEIN**

S u m m a r y

The research proved that the extrusion process of acid and rennet technical casein had a significant effect on improving the microbiological purity of those protein preparations making them possible to meet the requirements under the relevant Polish Standard. During the extrusion, iron, copper, zinc, and tin partially moved into the extruded casein preparations and some interactions occurred between casein and low-molecular nitrogen compounds. The extruded casein formed a solution in a 0.5 % di-sodium phosphate that was twice as viscous as the solution of non-extruded casein. During the extrusion process, the compact and tight structure of casein was modified into a porous structure with an extended surface, and the acid casein demonstrated a higher susceptibility to structuralization compared to the rennet casein.

Key words: extrusion, acid casein, rennet casein, viscosity, microstructure 

PIOTR DOMARADZKI, PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK,
ZYGUNT LITWIŃCZUK

ZWIĄZEK KOLAGENU Z WYBRANYMI PARAMETRAMI TECHNOLOGICZNYMI MIĘSA CIEŁĘCEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie związku pomiędzy zawartością kolagenu a wybranymi parametrami technologicznymi mięśni szkieletowych cieląt. Materiał badawczy stanowiły losowo pobrane próby mięśnia najdłuższego grzbietu (odcinek lędźwiowy) – LL i półścięgnistego uda – ST ze 116 tusz cieląt w wieku od 4 do 8 tygodni. W próbach oznaczono podstawowy skład chemiczny, wyciek naturalny i termiczny, instrumentalnie siłę cięcia i pracę oraz sensorycznie kruchość i soczystość. Mięsień ST w porównaniu z LL zawierał istotnie więcej białka kolagenowego i wody. Charakteryzował się również większą kruchością, ocenioną zarówno sensorycznie, jak i instrumentalnie. Poziom kolagenu ogólnego w obu ocenianych mięśniach był ujemnie skorelowany z zawartością tłuszczu ($-0,22 \leq r \leq -0,25$). Stwierdzono istotnie ujemny związek między zawartością kolagenu w mięśniu LL a jego soczystością oraz siłą i energią cięcia. W przypadku mięśnia ST wykazano natomiast istotnie dodatnią zależność pomiędzy kolagenem a siłą cięcia. Kolagen, jako podstawowy składnik tkanki łącznej ocenianych mięśni cieląt, mimo niewielkiej zawartości (0,95 - 1,20 %), wpływał istotnie na niektóre parametry technologiczne mięsa kształtując jego jakość.

Słowa kluczowe: cielęcina, skład chemiczny, kolagen, kruchość, wodochłonność

Wprowadzenie

Jednym z podstawowych wyróżników oceny konsumenckiej mięsa jest jego kruchość. Uważana jest za jedną z najistotniejszych cech jakościowych, kształtujących teksturę mięsa wołowego, stanowi również istotne kryterium w ocenie jakości wołowiny kulinarnej [3, 16].

Kruchość wołowiny zależy od wielu właściwości mięsa, takich jak: udział i jakość tkanki łącznej, zawartość tłuszczu, struktura włókien i pęczków mięśniowych, zmiany enzymatyczne podczas dojrzewania. Wpływ na kruchość mięsa ma również

Mgr inż. P. Domaradzki, dr inż. P. Skalecki, dr hab. inż. M. Florek, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, prof. dr hab. Z. Litwińczuk, Katedra Hodowli Bydła, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

wiele czynników przyżyciowych, m.in. wiek, płeć, żywienie, postępowanie przedubojowe [21]. Mechaniczne cechy mięsa determinujące jego kruchość bezpośrednio uzależnione są od struktury dwóch podstawowych składników białkowych tkanki mięśniowej: śródmięśniowej tkanki łącznej i miofibryli [5]. Ich oddziaływanie na kruchość zależy od rodzaju mięśnia, jego lokalizacji w tuszy, składu i struktury oraz metody i temperatury ogrzewania [11, 18].

Kruchość, jako podstawowy wyróżnik wołowiny, kształtowana jest podczas procesu dojrzewania mięsa. Jego mechanizm jest złożony i nie do końca wyjaśniony. Wyróżnia się w nim dwie fazy (szybką i wolną). W pierwszej fazie skutek osłabienia struktur miofibryli następuje szybki wzrost kruchości. Kolejna faza (wolna) charakteryzuje się osłabieniem struktur łącznotkankowych, tzn. omięsnej wewnętrznej i śródmięsnej [24].

Ilość, skład i rozmieszczenie śródmięśniowej tkanki łącznej są najbardziej widocznymi i wymiernymi fenotypowymi cechami różnicującymi mięśnie tuszy zwierzęcej. Jakkolwiek śródmięśniowa tkanka łączna stanowi stosunkowo niewielki składnik tkanki mięśniowej, tzn. od 2 do 6 % całkowitej zawartości białek w mięsie [21], jej wpływ na kruchość jest istotny [12]. Podstawowym składnikiem mięśniowej tkanki łącznej jest kolagen [13], a jego zawartość zależy od rodzaju mięśnia i lokalizacji w tuszy [5].

Mięśnie zawierające dużą ilość tkanki łącznej, zbudowanej przede wszystkim z kolagenu i elastyny, wykazują na ogół większą twardość, tzn. mniejszą kruchość. Niemniej jednak wpływ zawartości kolagenu na kruchość mięsa jest znacznie silniejszy w mięśniach zwierząt dojrzałych somatycznie niż w mięśniach zwierząt młodych. Wraz z fizjologicznym wiekiem zwierząt kruchość mięsa zmniejsza się, chociaż ilość śródmięśniowej tkanki łącznej w mięśniach maleje [9]. Wzrasta bowiem ilość i zmienia się charakter wiązań poprzecznych wewnątrz- i międzycząsteczkowych, zwiększa się mechaniczna stabilność oraz odporność termiczna śródmięśniowej tkanki łącznej. Są one wskaźnikami stopnia dojrzałości biologicznej kolagenu, odpowiedzialnymi za zmniejszającą się z wiekiem zwierząt kruchość mięsa. Różnice kruchości mięsa bydła do wieku 40 miesięcy są znaczne, natomiast zmiany kruchości mięsa bydła starszego są niewielkie [15].

Istnieje wiele metod pomiaru kruchości. Najczęściej kruchość ocenia się instrumentalnie na podstawie wielkości siły wymaganej do przecięcia kawałka mięsa prostopadle do przebiegu włókien mięśniowych, określając tzw. wartość szerometryczną [22]. Niektórzy badacze stwierdzają istotne korelacje między zawartością kolagenu w tkance mięśniowej a kruchością gotowanego mięsa wołowego [19, 23] oraz między kruchością mięsa i rozpuszczalnością kolagenu, zarówno w mięsie wołowym [6], jak i wieprzowym [2]. Wielu autorów wskazuje również na dużą rolę, jaką odgrywa kolagen nierozpuszczalny w kształtowaniu kruchości mięsa [7, 23].

Celem pracy było określenie związku pomiędzy zawartością kolagenu a wybranymi parametrami technologicznymi mięsa cielęcego.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły próby dwóch mięśni szkieletowych pobrane losowo ze 116 tusz cieląt z chowu masowego zróżnicowanych rasowo, w wieku od 4 do 8 tygodni. Średnia masa cieląt przed ubojem wynosiła $84,3 \pm 12,6$ kg. Ubój i obróbkę poubojową cieląt przeprowadzano zgodnie z przepisami obowiązującymi w przemyśle mięsnym i pod nadzorem inspektorów weterynaryjnych. W trakcie rozbioru technologicznego prawych półtuszy, po 24 h wychłodzeniu, pobierano próby mięśni najdłuższego grzbietu z odcinka lędźwiowego (*m. longissimus lumborum* – LL) i półścięgnistego (*m. semitendinosus* – ST). Próby po zważeniu pakowano próżniowo w worki z folii PE i przechowywano w warunkach chłodniczych (w temp. około 4 °C) do momentu wykonania analiz. Wyciek naturalny (WN) określano 48 h od uboju, wyrażając go procentowo w odniesieniu do masy początkowej próby (przed zapakowaniem).

Próby mięsa (o jednakowej masie) do oceny sensorycznej i pomiarów instrumentalnych poddawano obróbce termicznej w łaźni wodnej w szczelnie zamkniętych workach foliowych w temp. 70 °C przez 60 min. Po wystudzeniu przechowywano je w temp. 4 °C przez 24 h, po czym ponownie ważono, obliczając procentowy wyciek termiczny (WT). Kruchość i soczystość oceniano sensorycznie metodą skalowania wg PN-ISO 4121 [26] wykorzystując skalę 5-punktową (5 – bardzo kruche/soczyste, 1 – bardzo twarde/suche). Za pomocą wieloczynnościowej maszyny wytrzymałościowej Zwick/Roell Proline B0.5 z przystawką szerometryczną Warner-Bratzler rejestrowano maksymalną siłę cięcia (Fmax. w N) – SF i energię cięcia (W/Fmax. w J), przy prędkości głowicy 150 mm/min. Cięciu poddawane były słupki mięśnia o powierzchni przekroju 10 mm² i długości 50 mm (minimum 5 z każdej próby), wycinane równolegle do kierunku włókien mięśniowych. Wyniki pomiarów opracowano z wykorzystaniem programu TestXpert II.

W próbach mięśni niepoddanych obróbce termicznej określano podstawowy skład chemiczny, tj. zawartość wody metodą suszenia (103 °C) wg PN-ISO 1442:2000 [27], związków mineralnych w postaci popiołu metodą spalania wg PN-ISO 936:2000 [28], białka ogólnego metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu Büchi B-324 wg PN-75/A 04018, tłuszczu wolnego metodą Soxhleta przy użyciu aparatu Büchi B-811 wg PN-ISO 1444:2000 [29]. Ilość białka kolagenowego określano na podstawie zawartości hydroksyproliny (współczynnik przeliczeniowy 8) wg PN-ISO 3496:2000 [30], wykorzystując spektrofotometr Varian Cary 300 Bio.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji, wykorzystując program STATISTICA ver. 6 (StatSoft, 2003), podając średnią wartość poszczególnych cech oraz odchylenie standardowe. Obliczono również

(niezależnie dla mięśni) współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy zawartością kolagenu i wyróżnikami technologicznymi mięsa.

Wyniki i dyskusja

O wartości odżywczej i przydatności przetwórczej mięsa decyduje jego skład chemiczny. Istotnie większą zawartość białka kolagenowego i jego udział w białku ogólnym ($p \leq 0,01$) oraz udział wody ($p \leq 0,05$) stwierdzono w mięśni pólścięgnistym uda. Mięśnie cieląt zawierały dużo białka ogólnego (średnio 22,06 %) i mało tłuszczu śródmięśniowego (średnio 1,03 %) (tab. 1).

Woda jako jeden z podstawowych składników mięsa odgrywa istotną rolę w procesie obróbki kulinarnej. Zdolność jej zatrzymywania przez tkankę mięśniową jest ważnym wskaźnikiem przydatności technologicznej. Do najważniejszych metod oceny wodochłonności mięsa zalicza się określenie wycieku naturalnego i termicznego. Istotnie wyższy ($p \leq 0,01$) wyciek naturalny stwierdzono w przypadku mięśnia LL w porównaniu z ST. Zbliżony wyciek termiczny oznaczono w obu mięśniach szkieletowych cieląt (średnio 32,04 %) (tab. 1).

Uzyskane wyniki dotyczące mięsa cielęcego są zbliżone do podawanych przez innych autorów [4, 14]. Florek i wsp. [4] wskazują na dużą zawartość białka ogólnego i jednocześnie małą tłuszczu śródmięśniowego w mięśniach różnych ras cieląt. Wykazali ponadto wyższą zawartość kolagenu w mięśni pólbloniastym uda w porównaniu z mięśniem najdłuższym grzbietu z odcinka lędźwiowego. W zależności od rasy cieląt wartości te wahały się w granicach 1,2 - 1,9 % w mięśni pólbloniastym oraz 0,8 - 0,9 % w mięśni najdłuższym lędźwi.

Mięśnie intensywnie pracujące za życia zwierzęcia, jak np. *biceps*, zawierają więcej kolagenu niż mięśnie odpowiedzialne za utrzymanie postawy np. *psaos* [25]. Kołczak i wsp. [8], analizując zawartość kolagenu w dwóch mięśniach cieląt, wykazali zdecydowanie większą jego zawartość w *m. semitendinosus* (ST) w porównaniu z *m. psaos major* (PM). Zawartość białka kolagenowego w mięśni ST wynosiła 0,73 % zaś w mięśni PM 0,47 %. Autorzy ci podkreślają również zdecydowanie lepszą rozpuszczalność kolagenu mięśnia PM w porównaniu z ST. W trakcie dwunastodniowego dojrzewania mięsa kolagen rozpuszczalny w PM stanowił aż 68 % kolagenu ogólnego, podczas gdy w mięśni ST – tylko 40 %. Z kolei Litwińczuk i wsp. [14], oceniając wyciek naturalny po 48 h i wyciek termiczny w mięsie cieląt o różnej masie przedubojowej, uzyskali w przypadku mięśni LL wartość WN od 1,64 do 2 %; WT od 34,43 do 36,27 %, natomiast w odniesieniu do mięśni ST odpowiednio od 0,76 do 1,40 % – WN i od 33,67 do 35,48 % – WT.

Tabela 1

Skład chemiczny, tekstura, ocena sensoryczna oraz wodochłonność analizowanych mięśni cieląt.
Chemical composition, texture, sensory evaluation, and water-holding capacity of the analyzed muscles of calves.

Wyszczególnienie Specification	<i>M. longissimus lumborum</i> n=116	<i>M. semitendinosus</i> n=116	Ogółem Total
Woda [%] Water	75,36 ± 1,23*	75,79 ± 1,42*	75,55 ± 1,33
Białko ogółem [%] Total protein	22,19 ± 1,20	21,90 ± 1,30	22,06 ± 1,25
Tłuszcz [%] Fat	1,02 ± 0,65	1,05 ± 0,61	1,03 ± 0,63
Popiół [%] Ash	1,15 ± 0,26	1,13 ± 0,26	1,14 ± 0,26
Kolagen ogólny [%] Total collagen	0,95 ± 0,23**	1,20 ± 0,28**	1,08 ± 0,29
B/K#	4,31 ± 1,10**	5,51 ± 1,34**	4,92 ± 1,37
Tekstura			
Siła cięcia – SF [N] Shear force	78,15 ± 31,61**	47,80 ± 20,10**	64,99 ± 31,07
Energia cięcia – W [J] Ahear energy	0,28 ± 0,11**	0,17 ± 0,04**	0,25 ± 0,11
Ocena sensoryczna Sensory evaluation			
Kruchość [pkt] Tenderness	3,44 ± 0,71**	3,81 ± 0,47**	3,58 ± 0,65
Soczystość [pkt] Juiciness	3,95 ± 0,51	3,94 ± 0,50	3,94 ± 0,50
Wyciek naturalny – WN [%] Drip loss - DL	1,42 ± 0,91**	1,07±0,88**	1,26 ± 0,91
Wyciek termiczny – WT [%] Cooking loss - CL	31,52 ± 6,22	32,70 ± 5,30	32,04 ± 5,85

Objaśnienia: / Explanatory notes:

w tabeli podano wartości średnie ± odchylenia standardowe /In the Table, mean values ± standard deviation are indicated;

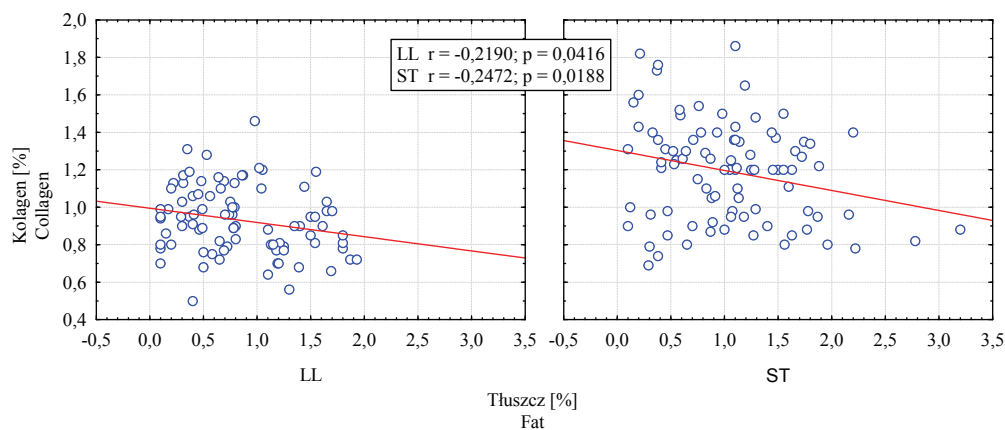
- Procentowy udział białek łącznotkankowych w białku ogólnym / Percent content of protein of connective tissue in the total protein;

Wartości średnie oznaczone * w wierszach różnią się istotnie: *p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01 / Mean values marked by * in the same rows differ significantly: *p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01;

Istotnie niższą wartość siły cięcia (47,80 N), jak i energii cięcia (0,17 J) (tzn. większą kruchość) stwierdzono w przypadku mięśni ST w porównaniu z mięśniem LL (odpowiednio 78,15 N i 0,28 J) ($p \leq 0,01$). Podobną zależność we wcześniejszych badaniach uzyskali Litwińczuk i wsp. [14]. Interesujące wyniki podają Kołczak i wsp. [10], którzy wykazali, że mięsień półścięgnisty cieląt w 6. dniu przechowywania chłodniczego charakteryzował się kruchością (SF) zbliżoną do mięśnia *psoas major*, który jest uważany za najdelikatniejszy mięsień szkieletowy ssaków.

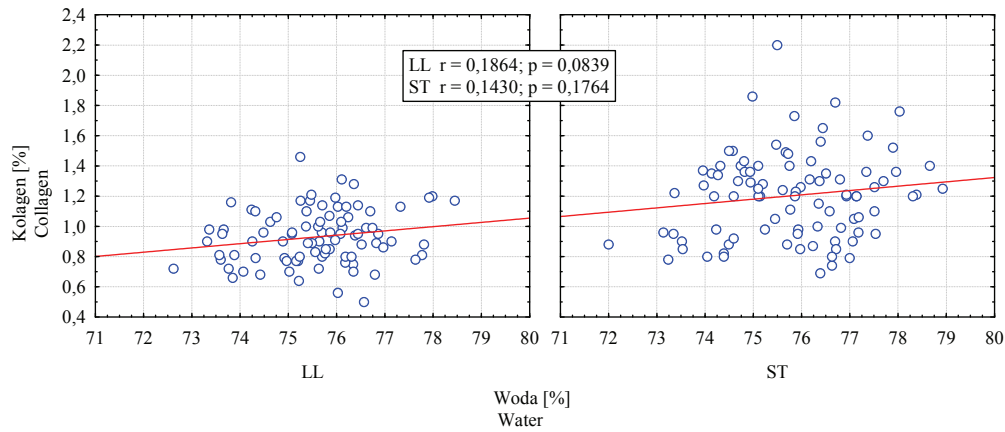
Przeprowadzona ocena sensoryczna potwierdziła istotnie ($p \leq 0,01$) większą kruchość mięśnia ST (3,81 pkt) w porównaniu z LL (3,44 pkt). Jakość mięsa wołowego jest oceniana w dużym stopniu na podstawie jego właściwości sensorycznych. Spośród wielu wyróżników, kruchość mięsa uważana jest, zwłaszcza w ocenie konsumenckiej za najważniejszą [20].

Korelacje jako wskaźnik siły zmian cech zależnych względem siebie pozwalają na przewidywanie kształtowania się wielu parametrów jakościowych wołowiny. Współczynniki korelacji liniowej Pearsona przedstawiono na rys. 1 - 9. Stwierdzono, że poziom kolagenu w obu mięśniach był istotnie ujemnie skorelowany ($p \leq 0,05$) z zawartością tłuszczu ($-0,22 \leq r \leq -0,25$) (rys. 1). Nieistotny związek (choć dodatni) wykazano natomiast w przypadku udziału wody (rys. 2). Poziom kolagenu był niezależny od zawartości białka ogólnego (rys. 3).



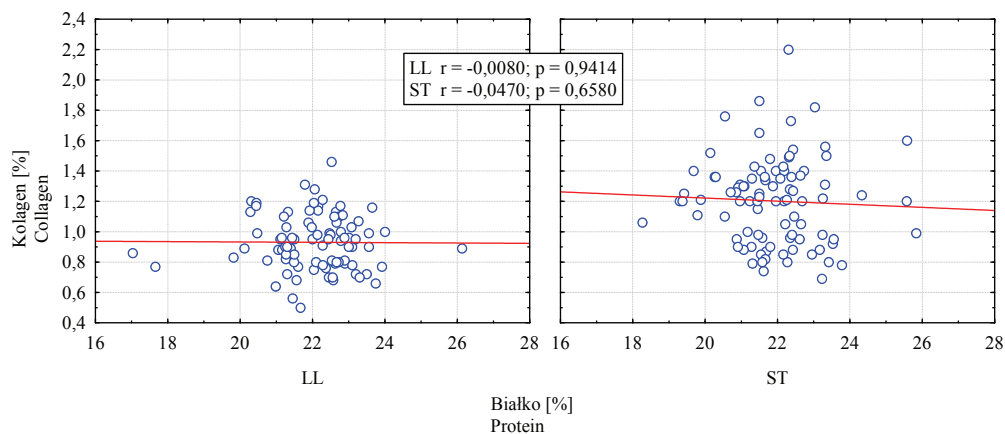
Rys. 1. Zależność pomiędzy zawartością kolagenu ogólnego i tłuszczu śródmięśniowego w mięśniach cieląt.

Fig. 1. Relationship between content of total collagen and intramuscular fat in muscles of calves.



Rys. 2. Zależność pomiędzy zawartością kolagenu ogólnego i wody w mięśniach cieląt.

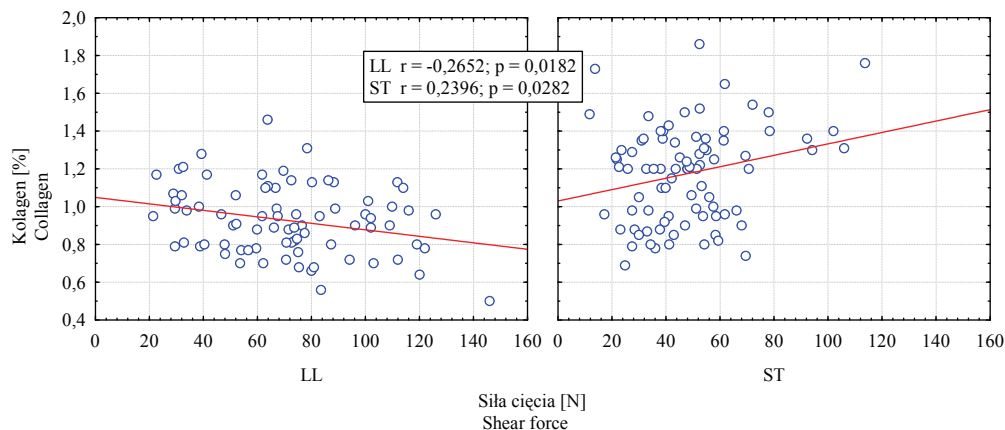
Fig. 2. Relationship between content of total collagen and water in muscles of calves.



Rys. 3. Zależność pomiędzy zawartością kolagenu ogólnego i białka w mięśniach cieląt.

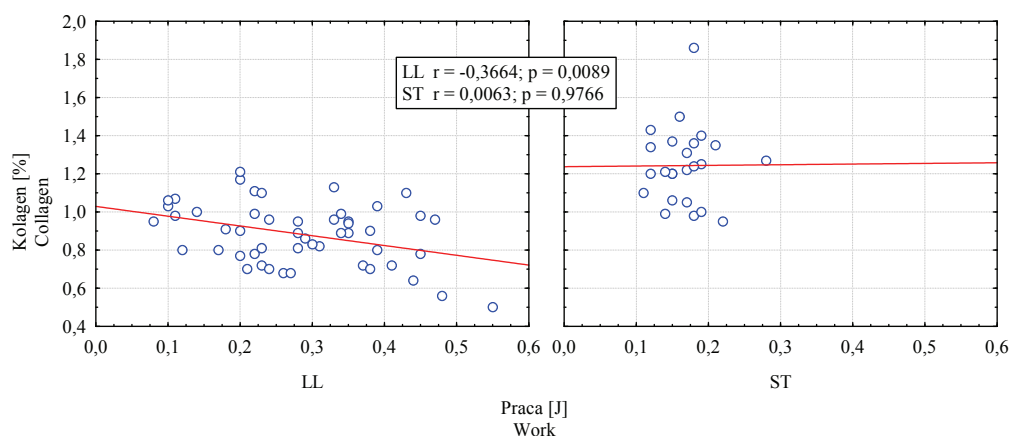
Fig. 3. Relationship between content of total collagen and protein in muscles of calves.

Istotnie ujemny związek między zawartością kolagenu a siłą cięcia ($r = -0,27$) i energią cięcia ($r = -0,37$), wykazano jedynie w przypadku mięśnia LL. W przypadku mięśnia ST potwierdzono natomiast istotnie dodatnią zależność pomiędzy kolagenem i instrumentalną siłą cięcia ($r = 0,24$) (rys. 4 i 5).



Rys. 4. Zależność pomiędzy zawartością kolagenu ogólnego i siłą cięcia mięśni cieląt.

Fig. 4. Relationship between content of total collagen and shear force in muscles of calves.

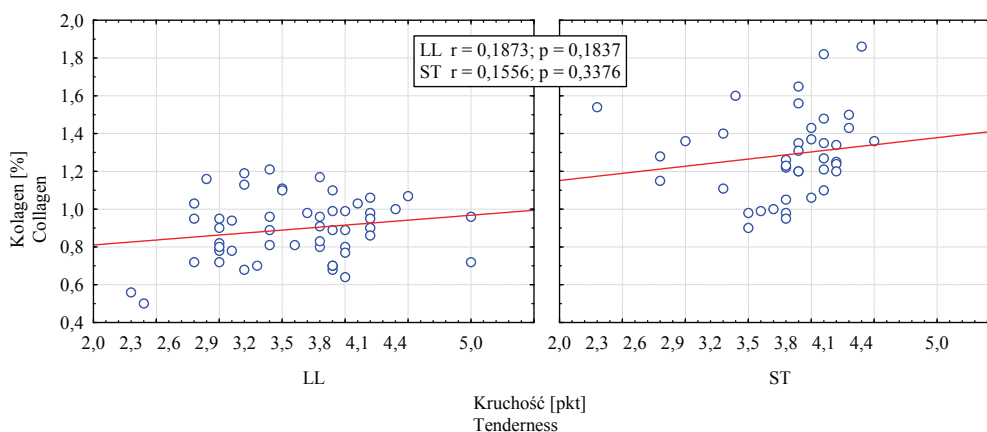


Rys. 5. Zależność pomiędzy zawartością kolagenu ogólnego w mięśniach cieląt i energią cięcia potrzebną do osiągnięcia siły maksymalnej.

Fig. 5. Relationship between content of total collagen in muscles of calves and shear energy required to achieve maximum force.

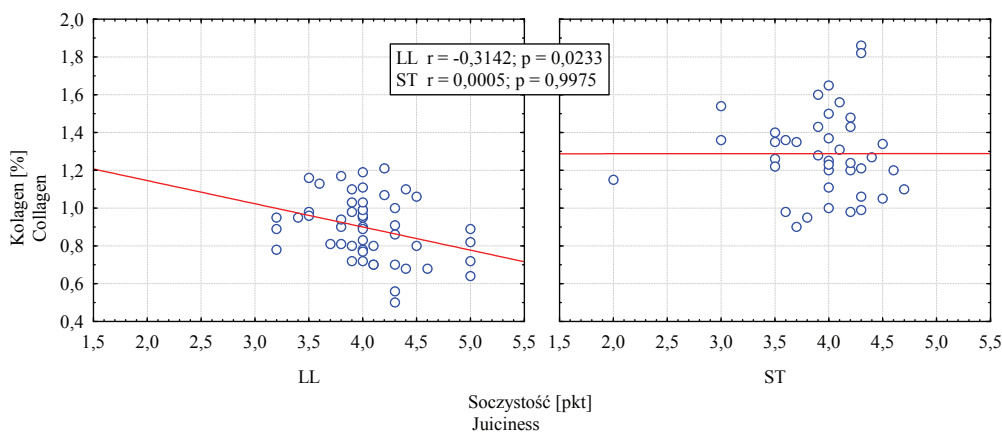
Light i wsp. [12] stwierdzili ujemną korelację pomiędzy zawartością kolagenu śródmięśniowego a kruchością mięsa ogrzewanego. Podobnie Kołczak i wsp. [9], traktując sześć analizowanych mięśni pięciu badanych grup bydła jako jedną populację (korelacja ogólna) wykazali, że poziom kolagenu w mięśniach był ujemnie skorelowany z ocenianą sensorycznie kruchością i soczystością. Natomiast w przypadku kruchości ocenianej instrumentalnie związek ten był dodatni. Autorzy ci uzasadniają powyższe współzależności zmienną zawartością kolagenu w różnych typach mięśni.

Analizując związek kolagenu z ocenioną sensorycznie kruchością mięsa (rys. 6), uzyskano dodatni, lecz niski współczynnik korelacji ($0,16 \leq r \leq 0,19$) w przypadku obu mięśni. Soczystość była natomiast ujemnie i istotnie ($r = -0,31$) skorelowana z zawartością kolagenu w mięśniu LL (rys. 7).



Rys. 6. Zależność pomiędzy zawartością kolagenu ogólnego i kruchością mięśni cieląt.

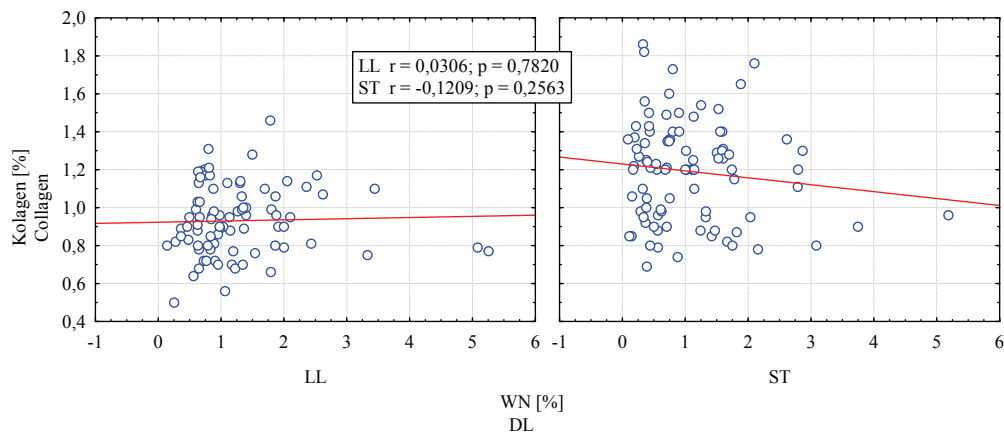
Fig. 6. Relationship between content of total collagen and tenderness in muscles of calves.



Rys. 7. Zależność pomiędzy zawartością kolagenu ogólnego i soczystością mięśni cieląt.

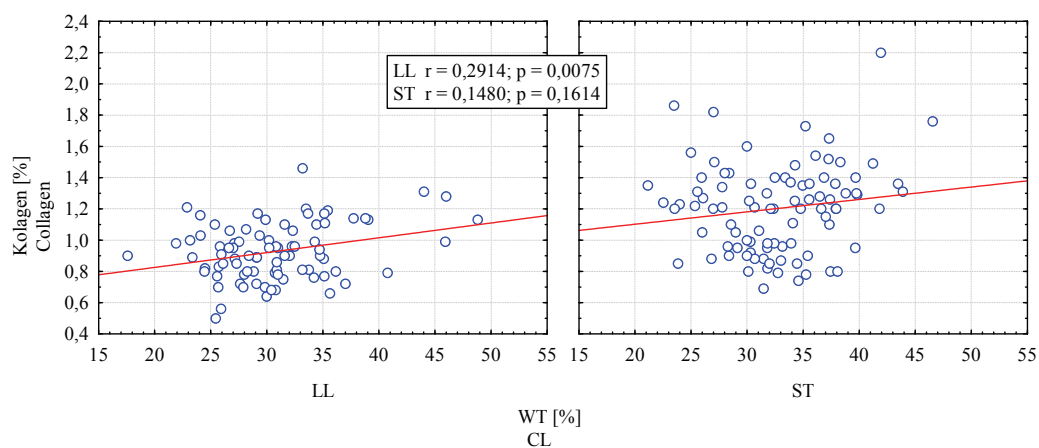
Fig. 7. Relationship between content of total collagen and juiciness in muscles of calves

Rozpatrując zależność pomiędzy kolagenem a dwoma wyróżnikami wodochłonności, stwierdzono jego istotną ($p \leq 0,01$) i dodatnią wartość ($r = 0,29$) jedynie w przypadku wycieku termicznego z mięśnia LL (rys. 8 i 9). W odniesieniu do mięśnia ST był on również dodatni, ale dwukrotnie niższy i nieistotny.



Rys. 8. Zależność pomiędzy zawartością kolagenu ogólnego i wyciekami naturalnymi w mięśniach cieląt.

Fig. 8. Relationship between content of total collagen and drip loss in muscles of calves.



Rys. 9. Zależność pomiędzy zawartością kolagenu ogólnego i wyciekami termicznymi w mięśniach cieląt.

Fig. 9. Relationship between content of total collagen and cooking loss in muscles of calves.

Zawartość kolagenu i stopień jego hydrolizy podczas ogrzewania jest jednym z czynników decydujących o przydatności kulinarnej surowca. Należy zauważyć, że w przypadku kolagenu rozpuszczalnego jego udział w dużym stopniu wpływa na teksturę mięsa, m.in. przez zdolność zatrzymywania wody podczas obróbki cieplnej [17]. Niektórzy badacze sugerują, że mięśnie z wyższym poziomem kolagenu są mniej kruche niż te, które zawierają go mniej [1, 13]. Ponadto potwierdzają wpływ kolagenu rozpuszczalnego na poprawę kruchości mięsa [2, 6, 13].

Wnioski

1. Mięsień ST charakteryzował się istotnie wyższą zawartością kolagenu ogólnego i jednocześnie większą kruchością ocenianą zarówno instrumentalnie, jak i sensorycznie w porównaniu z mięśniem LL.
2. Kolagen ocenianych mięśni cieląt, mimo niewielkiej zawartości (0,95 – 1,20 %), wpływał istotnie na niektóre parametry technologiczne mięsa, kształtując jego jakość.
3. W mięśniu LL wykazano silniejsze zależności pomiędzy zawartością kolagenu a wybranymi parametrami technologicznymi cieleciny.
4. Współczynniki korelacji między zawartością kolagenu a wybranymi parametrami technologicznymi mięsa cielecącego mogą być przydatnym wskaźnikiem do przewidywania kształtowania się jego cech jakościowych, przy uwzględnieniu typu mięśnia.

Literatura

- [1] Dransfield E.: Intramuscular composition and texture of beef muscles. *J. Sci. Food Agric.*, 1977, **28**, 833-842.
- [2] Fang S.H., Nishimura T., Takahashi K.: Relationship between development of intramuscular connective tissue and toughness of pork during growth of pigs. *J. Anim. Sci.*, 1999, **77**, 120-130.
- [3] Florek M., Litwińczuk M., Skąlecki P., Ryszkowska-Siwko M.: Changes of physicochemical properties of bullocks and heifers meat during 14 days of ageing under vacuum. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **3 (57)**, 281-288
- [4] Florek M., Skąlecki P., Kędzierska-Matyssek M., Ryszkowska-Siwko M., Domaradzki P.: Wartość rzeźna i jakość mięsa cieląt różnych ras. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2009, **1 (5)**, 87-96.
- [5] Gajewska-Szczerba H., Kucharski M.: Changes in the intramuscular collagen content and degree of its thermohydrolysis in bovine muscles under the influence of curing and pasteurization. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57**, 339-344.
- [6] Herring, H.K., Cassens, R.G., Briskey, E.J.: Factors affecting collagen solubility in bovine muscles. *J. Food Sci.*, 1967, **32**, 534-538.
- [7] Jeremiah L.E., Dugan M.E.R., Aalhus J.L., Gibson L.L.: Assessment of the relationship between chemical components and palatability of major beef muscles and muscle groups. *Meat Sci.*, 2003, **65**, 1013-1019.
- [8] Kołczak T., Palka K., Pospiech E.: Changes in collagen solubility of raw and roasted bovine psoas major and minor and semitendinosus muscles during cold storage. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **3 (12/53)**, 57-61
- [9] Kołczak T., Palka K., Zarzycki A.: Wpływ kolagenu śródmięśniowego na kruchość i inne cechy sensoryczne mięśni bydła. *Acta Agr. Silv., ser. zootech.*, 1992, **30**, 76-85.
- [10] Kołczak T., Pospiech E., Palka K., Łącki J.: Changes of myofibrillar and centrifugal drip proteins and shear force of psoas major and minor and semitendinosus muscles from calves, heifers and cows during post-mortem ageing. *Meat Sci.*, 2003, **64**, 69-75.
- [11] Kołczak T.: Kruchość mięsa. *Gosp. Mięs.*, 2007, **11**, 8-11.
- [12] Light N.D., Champion A.E., Voyle C., Bailey A.J.: The role of epimysial, perimysial and endomysial collagen in determining texture of six bovine muscles. *Meat Sci.*, 1985, **30**, 1-12.


- [13] Listrat A., Hocquette J.F.: Analytical limits of total and insoluble collagen content measurements and of type I and III collagen analysis by electrophoresis in bovine muscles. *Meat Sci.*, 2004, **68**, 127-136.
- [14] Litwińczuk Z., Florek M., Litwińczuk A., Skałeki P.: Slaughter value and quality of meat from calves slaughtered at various body weight. *Proc. of the 9th Int. Commodity Sci. Conf. (IGWT) Poznań 2007, 27-29 September*, pp.896-902.
- [15] McCornick R.J.: The flexibility of the collagen compartment of muscle. *Meat Sci.*, 1994, **36**, 79-91.
- [16] Miciński J., Klupczyński J., Ostoja H., Cierach M., Dymnicka M., Łozicki A., Daszkiewicz T.: Wpływ rasy i żywienia buhajków na wyniki klasyfikacji ich tusz w systemie EUROP oraz na ocenę tekstury mięsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44)**, 147-156.
- [17] Młynek K.: Struktura i metabolizm włókien mięśniowych u krajowego bydła czarno-białego i mieszzańców po buhajach ras mięsnych oraz ich związek z cechami wartości rzeźnej i jakością mięsa. *Wyd. Akademii Podlaskiej, Siedlce 2009*.
- [18] Nakamura Y.N., Iwamoto H., Ono Y., Shiba N., Nishimura S., Tabata S.: Relationship among collagen amount, distribution and architecture in *M. longissimus thoracis* and *M. pectoralis profundus* from pigs. *Meat Sci.*, 2003, **64**, 43-50.
- [19] Ngapo T.M., Berge P., Culioli J., Dransfield E., de Smet S., Claeys E.: Perimysial collagen crosslinking and meat tenderness in Belgian Blue doublemuscle cattle. *Meat Sci.*, 2002, **61**, 91-102.
- [20] Palka K., Kołczak T.: Wpływ wieku bydła na wyciek cieplny, kruchość i właściwości sensoryczne mięśni. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 1998, **342**, 91-98
- [21] Pospiech E., Grześ B., Łyczyński A., Borzuta K., Szalata M., Mikołajczak B., Iwańska E.: Białka mięśniowe, ich przemiany a kruchość mięsa. *Mięso i Wędliny*, 2003, **1**, 26-33.
- [22] Purslow P.P.: Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Sci.*, 2005, **70**, 435-447.
- [23] Riley D.G., Johnson D.D., Chase C.C.J., West R.L., Coleman S.W., Olson T.A.: Factors influencing tenderness in steaks from Brahman cattle. *Meat Sci.*, 2005, **70**, 347-356.
- [24] Takahashi K.: Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat; the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.*, 1996, **43 (S)**, 67-80.
- [25] Taylor R.G.: Connective tissue structure, function and influence on meat quality In: Jensen W.K., Devine C., Dikeman M. (eds). *Encyclopedia of Meat Science*, Elsevier Academic Press, Amsterdam 2004, pp. 306-313.
- [26] PN-ISO 4121:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
- [27] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody (metoda odwoławcza).
- [28] PN-ISO 936:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie popiołu całkowitego.
- [29] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.
- [30] PN-ISO 3496:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości hydroksyproliny.

RELATIONSHIP BETWEEN COLLAGEN AND SELECTED TECHNOLOGICAL PARAMETERS OF CALF MEAT

S u m m a r y

The objective of the research was to determine the relationship between the content of collagen and the selected technological parameters of skeletal muscles in calves. The research material constituted random samples taken from *m. longissimus dorsi* (lumbar region) – LL and *m. semitendinosus* – ST of 116

carcasses of calves aged 4 to 6 weeks. In the samples, the following was determined: chemical composition, drip loss, cooking loss; shear force and shear energy were determined using an instrumental analysis, whereas tenderness and juiciness were determined by a sensory analysis. Compared to the LL muscle, the ST muscle contained significantly more collagen and water. It was also characterized by a better tenderness assessed using both the sensory and the instrumental analysis. The level of total collagen was negatively correlated with the content of fat ($-0,22 \leq r \leq -0,25$) in the two muscles assessed. A significantly negative relationship was found between the content of total collagen in LL and its juiciness, shear force, and shear energy. As for the ST muscle, a significantly positive relationship was evidenced between the content of collagen and the shear force. The content of collagen, a main component of connective tissue, was low (0.95 – 1.20 %), however, it significantly impacted some technological parameters of meat and, therefore, it moulded the quality of meat.

Key words: veal, chemical composition, collagen, tenderness, water holding capacity 

EUGENIUSZ R. GRELA, RYSZARD K. PISARSKI,
EDYTA KOWALCZUK-VASILEV, AGATA RUDNICKA

ZAWARTOŚĆ SKŁADNIKÓW ODŻYWCZYCH, MINERALNYCH I PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W MIĘSIE WYBRANYCH GATUNKÓW RYB W ZALEŻNOŚCI OD TERMINU ODŁOWU

Streszczenie

Badaniami objęto 4 gatunki ryb słodkowodnych: szczupak (*Esox lucius L.*), sandacz (*Sander lucioperca L.*), karp (*Cyprinus carpio L.*) i leszcz (*Aramis brama L.*), odławianych po 6 sztuk w odstepie miesięcznym, od września do listopada 2007 roku. Oceniono cechy morfometryczne ryb oraz zawartość składników odżywczych, mineralnych i profil kwasów tłuszczowych w ich mięsie. Zawartość składników odżywczych w mięsie ryb zależna była od pory połowu – ich udział malał w kolejnych miesiącach. Największy udział nasyconych kwasów tłuszczowych oznaczono w tłuszczu mięsa leszczy oraz szczupaków. Najmniej kwasów wielonienasyconych zawierało mięso karpia, natomiast więcej szczupaków i sandaczy. Również najbardziej korzystnym, z punktu widzenia żywieniowego, stosunkiem kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 do n-6 charakteryzowało się mięso szczupaków i sandaczy. Największy udział kwasu EPA stwierdzono w lipidach leszczy i szczupaków, zaś najwięcej DHA zawierał tłuszcz szczupaków i sandaczy. Zawartość metali ciężkich była mniejsza od dopuszczonych norm prawnych, przy czym nie stwierdzono istotnych różnic determinowanych okresem odłowu ryb.

Słowa kluczowe: ryby, składniki odżywcze, kwasy tłuszczowe, metale ciężkie

Wprowadzenie

Ryby mogą stanowić doskonałe źródło pełnowartościowego białka, witamin i składników mineralnych (wapń, fosfor, jod, selen, fluor i mangan), a przede wszystkim wielonienasyconych kwasów tłuszczowych n-3 [5, 7, 8, 11]. Roczne spożycie ryb w Polsce jest niewielkie i wynosi 6,7 kg na 1 mieszkańca (w tym 0,5 kg słodkowodnych) [5], podczas gdy w innych krajach Unii Europejskiej wynosi 26 kg. Zawartość składników odżywczych w rybach zależy od wielu czynników, takich jak: gatunek, wiek czy stan fizjologiczny, ale także warunków panujących w środowisku bytowania:

Prof. dr hab. E.R. Grela, prof. dr hab. R. Pisarski, mgr inż. E. Kowalczyk-Vasilev, mgr inż. A. Rudnicka, Instytut Żywności Zwierząt i Bromatologii, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13 20-950 Lublin

zasobności zbiornika wodnego w pokarm, pasz stosowanych do dokarmiania, zasolenia i temperatury wody, pory roku czy czasu odłowu [1, 9, 11]. W tkankach ryb mogą też być obecne metale ciężkie, takie jak ołów, kadm i rtęć, co ograniczać może przydatność ryb do spożycia, ale jednocześnie ryby stanowiąc mogą dobry wskaźnik skażenia środowiska ich bytowania [3, 6, 18, 21].

W związku z obniżoną aktywnością żerowania ryb w miesiącach jesiennych (wrzesień - listopad) interesujące jest dokonanie analizy składu chemicznego mięsa ryb ze szczególnym uwzględnieniem zawartości składników mineralnych i profilu kwasów tłuszczowych.

Celem pracy było określenie zawartości podstawowych składników odżywczych, a także składu kwasów tłuszczowych oraz metali ciężkich wybranych gatunków ryb słodkowodnych w zależności od jesiennego terminu odłowu.

Material i metody badań

Material do badań stanowiły wybrane 4 gatunki ryb słodkowodnych, po 6 sztuk z każdego odłowu. Ryby były odławiane w odstępach miesięcznych – we wrześniu, październiku i listopadzie 2007 roku; były w dobrej kondycji biologicznej. Staw, z którego pobrano material do badań znajduje się na terenie województwa lubelskiego w gminie Spiczyn. Pozyskane ryby to gatunki drapieżne: szczupak (*Esox lucius L.*) i sandacz (*Sander lucioperca L.*) oraz wszystkożerne: karp (*Cyprinus carpio L.*) i leszcz (*Aramis brama L.*). Wszystkie odławiane sztuki były mierzone i ważone. Material do analiz stanowiła tkanka mięśniowa ryb po uprzednim oddzieleniu głowy, płetw, łusek oraz narządów wewnętrznych i ości. W próbkach tkanki mięśniowej oznaczano zawartość składników odżywczych zgodnie z zaleceniami AOAC [2], a także profil kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej (aparat CP3800 Varian). Warunki rozdziału: kolumna CP WAX 52CB DF 0,25 mm, 60 m długości, gaz nośny – hel, przepływ 1,4 ml/min, temp. kolumny 120 °C ze stopniowym wzrostem 2 °C/min do 210 °C, czas oznaczenia 127 min, temp. dozownika i detektora – 160 °C, gazy wspomagające – wodór i powietrze. Zawartość wybranych pierwiastków, zaliczanych do metali ciężkich (Fe, Zn, Cu, Cd, Pb) oznaczano metodą absorpcyjnej spektrofotometrii atomowej (ASA) po uprzedniej mineralizacji w mieszaninie kwasu azotowego i nadchlorowego. Wszystkie analizy wykonano w dwóch powtórzeniach. Uzyskane wyniki poddano podwójnej analizie wariacji dla danych ortogonalnych. Istotność różnic między średnimi wartościami analizowanych cech wyznaczono testem t-Studenta.

Wyniki i dyskusja

Długość i masa ciała badanych ryb (tab. 1) były zbliżone do wartości podawanych przez innych autorów [13, 14, 15, 16]. Termin odłowu nie wpłynął statystycznie istotnie na cechy morfometryczne ryb. Jedynie masa ciała leszczy nieznacznie zwiększyła

się wraz z opóźnianiem terminu odłowu. Średnia wydajność rzeźna wszystkich badanych gatunków ryb była zbliżona i wynosiła odpowiednio w przypadku karpia, leszcza, szczupaka i sandacza 71,2, 73,2, 76,8 oraz 73,3%.

Tabela 1

Cechy morfometryczne badanych ryb w zależności od terminu odłowu.
Morphometric features of examined fish depending on the fishing period.

Gatunek ryb Species	Termin odłowu Fishing time	Długość ryby Total fish length [cm]	Masa całej ryby Fish body weight [kg]	Masa tuszki Carcass weight [kg]
Karp / Carp	IX	55	2,75	1,95
	X	56	2,82	2,04
	XI	54	2,78	1,94
	\bar{x}	55 ^A	2,78 ^A	1,98 ^A
Leszcz / Bream	IX	43	0,53	0,38
	X	45	0,56	0,41
	XI	47	0,58	0,45
	\bar{x}	45 ^B	0,56 ^C	0,41 ^B
Szczupak / Pike	IX	49	0,82	0,61
	X	50	0,86	0,68
	XI	53	0,77	0,61
	\bar{x}	50,7 ^A	0,82 ^B	0,63 ^C
Sandacz / Zander	IX	53	0,74	0,55
	X	51	0,68	0,49
	XI	50	0,59	0,43
	\bar{x}	51,3 ^A	0,67 ^C	0,49 ^B

Objaśnienie: / Explanatory note:

A,B,C – wartości w tej samej kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,05$ / values in one column and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Zawartość składników odżywczych zależała głównie od gatunku ryb. Zawartość suchej masy i związków mineralnych, oznaczonych jako popiół surowy, w tkance mięśniowej ryb była zbliżona, z nieznaczną tendencją wzrostową w mięsie karpia i leszcza (tab. 2). Istotne różnice międzygatunkowe ($p \leq 0,05$) stwierdzono pod względem poziomu białka ogólnego oraz zawartości tłuszczu surowego. Udział tłuszczu w mięsie drapieżników był znacznie mniejszy niż w tkance ryb odżywiających się także pokarmem roślinnym. Podobne wyniki dotyczące zawartości tłuszczu w rybach słodkowodnych podają Łuczyńska i wsp. [13]. W tkankach badanych ryb można zauważyć tendencję do

zmniejszania udziału białka ogólnego, tłuszczu i związków mineralnych w miarę opóźnienia terminu odłowu, ale różnice nie zostały potwierdzone statystycznie.

Tabela 2

Zawartość podstawowych składników odżywczych w tkance mięśniowej badanych gatunków ryb [%].
Content of basic nutrients in muscle tissue of examined fish species [%].

Gatunek ryb Species	Termin odłowu Fishing period	Sucha masa Dry matter	Popiół surowy Crude ash	Białko ogólne Total protein	Tłuszcz surowy Raw fat
Karp Carp	IX	22,21	1,22	17,95	2,93
	X	21,84	1,19	17,83	2,42
	XI	21,24	1,16	17,69	1,88
	\bar{x}	21,76	1,19	17,82 ^A	2,41 ^A
Leszcz Bream	IX	21,69	1,62	18,65	1,29
	X	20,82	1,10	18,32	1,27
	XI	20,64	1,11	18,13	1,21
	\bar{x}	21,05	1,28	18,37 ^A	1,26 ^B
Szczupak Pike	IX	20,98	1,24	19,38	0,24
	X	20,77	1,18	19,09	0,19
	XI	19,42	1,17	18,88	0,22
	\bar{x}	20,39	1,20	19,12 ^B	0,22 ^C
Sandacz Zander	IX	20,48	1,19	18,82	0,36
	X	20,14	1,08	18,43	0,33
	XI	20,66	1,10	19,11	0,34
	\bar{x}	20,43	1,12	18,79 ^B	0,34 ^C

Objaśnienie jak pod tab. 1. / Explanatory Notes as for Tab. 1

Profil kwasów tłuszczowych lipidów badanych ryb w znacznym stopniu determinowany był gatunkiem, a w niewielkim – terminem odłowu. Udział nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) zawierał się w granicach od 29,96 % (karp) do 38,4 % (leszcz) (tab. 3). Wśród SFA w mięsie wszystkich gatunków przeważał kwas palmitynowy (C 16:0). W tłuszczu karpia przeważającą grupę stanowią kwasy jednonienasycone (MUFA), stanowiące aż 48,6 % wszystkich kwasów, podczas gdy najmniejszy (21,5 %) był udział kwasów wielonienasyconych (PUFA). Podobnymi proporcjami kwasów tłuszczowych charakteryzowało się mięso leszczy, podczas gdy w tłuszczu ryb drapieżnych przeważały kwasy PUFA (36,3 % – szczupak i 34,6 % – sandacz). Znacznie korzystniejszy w przypadku ryb drapieżnych okazał się stosunek sumy kwasów tłuszczowych n-3 do n-6. W diecie człowieka PUFA powinny stanowić 1/3 dziennego

Tabela 3

Skład kwasów tłuszczowych tkanki mięśniowej badanych gatunków ryb [% sumy FA].
Composition of fatty acids in muscle tissue of examined fish species [% of total aggregate FA].

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Gatunek / Species																							
	Karp / Carp						Leszcz / Bream						Szczipak / Pike						Sandacz / Zander					
	Termin odłowu / Fishing Period																							
	IX	X	XI	\bar{x}	IX	X	XI	\bar{x}	IX	X	XI	\bar{x}	IX	X	XI	\bar{x}	IX	X	XI	\bar{x}				
C 12.0	0,12	0,10	0,05	0,09	0,18	0,13	0,15	0,15	0,07	0,11	-	0,09	0,17	0,15	0,05	0,12								
C 14.0	2,13	2,17	0,97	1,76 ^{AB}	3,02	2,63	2,61	2,75 ^A	1,76	1,45	1,41	1,54 ^B	2,71	1,93	2,00	2,21 ^{AB}								
C 15.0	0,61	0,61	0,25	0,49 ^A	0,81	1,58	1,53	1,31 ^B	1,37	0,98	0,76	1,04 ^{AB}	1,75	1,44	1,51	1,57 ^B								
C 16.0	18,91	17,13	22,21	19,42	17,18	27,19	27,24	23,87	22,13	20,71	27,23	23,36	21,66	23,07	23,13	22,62								
C 16.1 c-7	0,18	0,28	0,14	0,20	0,21	0,27	0,27	0,25	0,29	0,28	0,32	0,30	0,33	0,32	0,34	0,33								
C 16.1 c-9	8,64	9,38	7,56	8,53 ^{AB}	12,68	7,65	7,65	9,33 ^A	5,51	5,43	3,63	4,86 ^B	6,42	5,56	5,46	5,81 ^{AB}								
C 17.0	0,89	0,83	0,27	0,66 ^A	1,03	1,48	1,48	1,33 ^B	1,05	0,86	0,78	0,90 ^{AB}	1,31	1,01	1,02	1,11 ^A								
C 18.0	8,05	6,45	7,52	7,34	6,14	9,90	9,90	8,65	8,14	9,32	10,45	9,30	9,07	9,44	9,66	9,39								
C 18.1 c-9	23,71	31,03	43,15	32,63 ^A	24,46	19,12	19,12	20,90 ^{AB}	14,17	17,43	20,59	17,40 ^B	14,97	16,57	16,49	16,01 ^B								
C 18.1 c-11	6,94	6,08	3,11	5,38 ^{AB}	8,18	7,02	7,02	7,41 ^A	4,45	3,77	3,49	3,90 ^B	5,10	5,03	5,39	5,17 ^{AB}								
C 18.2 n-6	12,80	12,65	7,60	11,02 ^A	5,12	6,20	6,20	5,84 ^B	4,98	7,09	5,53	5,87 ^B	4,19	6,46	6,86	5,84 ^B								
C 18.3 n-3	1,72	1,69	0,74	1,38	2,11	1,43	1,43	1,66	2,41	1,78	1,11	1,77	1,55	1,61	1,25	1,47								

cd. Tab. 3.

C 20.0	0,38	0,1	0,14	0,21	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,26	-	-	0,09	0,37	0,22	0,12	0,24
C 20.1n-11	1,49	1,91	2,05	1,82 ^A	0,51	0,53	0,53	0,52 ^B	0,70	0,63	0,55	0,63 ^B	0,56	0,63 ^B	0,68	0,56	-	0,41 ^B
C 20.1n-9	-	-	0,07	0,02	0,36	0,35	0,35	0,35	0,71	0,32	0,12	0,38	0,44	0,38	0,67	0,44	-	0,37
C 20.2 n-6	0,93	0,85	0,34	0,71 ^A	0,95	1,02	1,02	1,00 ^A	0,61	0,57	0,53	0,57 ^{AB}	0,45	0,38	0,45	0,38	-	0,28 ^B
C 20.3 n-6	0,50	0,62	0,32	0,48 ^A	0,20	0,34	0,34	0,29 ^A	0,38	0,41	-	0,26 ^A	0,18	-	0,18	-	-	0,06 ^B
C 20.4 n-6	3,20	2,70	1,66	2,52 ^A	2,88	3,69	3,69	3,42 ^{AB}	4,88	4,79	3,48	4,38 ^B	4,61	4,61	4,61	4,50	4,50	4,57 ^B
C 20.5 n-3	4,06	3,09	0,69	2,61	8,36	4,59	4,60	5,85	7,56	4,50	5,06	5,71	5,93	5,10	5,10	5,39	5,47	5,47
C 22.4 n-6	-	-	0,25	0,08	0,19	-	-	0,06	0,97	-	-	0,32	0,81	0,24	0,21	0,21	0,42	0,42
C 22.5 n-3	1,73	0,81	0,26	0,93	1,72	1,36	1,36	1,48	2,16	2,79	-	1,65	2,79	2,61	3,22	3,22	2,87	2,87
C 22.6 n-3	3,01	1,52	0,65	1,73 ^A	3,37	3,18	3,17	3,24 ^A	15,44	16,78	14,96	15,73 ^B	14,28	13,25	13,40	13,40	13,64 ^B	13,64 ^B
Σ	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Σ SFA	31,09	27,39	31,41	29,96	28,70	43,25	43,25	38,40	34,78	33,43	40,63	36,28	37,04	37,26	37,04	37,26	37,49	37,26
Σ MUFA	40,96	48,68	56,08	48,57 ^A	46,40	34,94	34,94	38,76 ^{AB}	25,83	27,86	28,70	27,46 ^B	28,17	28,48	28,17	28,48	27,68	28,11 ^B
Σ PUFA	27,95	23,93	12,51	21,46 ^A	24,90	21,81	21,81	22,84 ^A	39,39	38,71	30,67	36,26 ^B	34,79	34,26	34,79	34,26	34,83	34,63 ^B
Σ n-3	10,52	7,11	2,34	6,66 ^A	15,56	10,56	10,56	12,23 ^B	27,57	25,85	21,13	24,85 ^C	24,55	22,57	24,55	22,57	23,26	23,46 ^C
Σ n-6	17,43	16,82	10,17	14,81	9,34	11,25	11,25	10,61	11,82	12,86	9,54	11,41	10,24	11,69	11,57	11,57	11,17	11,17
n-3/n-6	0,60	0,42	0,23	0,42 ^A	1,67	0,94	0,94	1,18 ^B	2,33	2,01	2,21	2,18 ^C	2,40	1,93	2,01	1,93	2,01	2,11 ^C

Objasnienie: / Explanatory note: A,B,C – wartości w tym samym wierszu oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / values in one row and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0,05$.

zapotrzebowania na tłuszcz, przy stosunku n-3 do n-6 jak 1 : 3 - 5 [10, 17]. W badanych rybach wynosi on 0,42 : 1; 1,18 : 1; 2,18 : 1 oraz 2,11 : 1, odpowiednio w przypadku karpia, leszcza, szczupaka i sandacza. Wyniki te potwierdzają doniesienia innych autorów [8, 13], ale Kołakowska i wsp. [12] podają inne proporcje (karp 1 : 0,1, a sandacz – 1 : 9,1).

W lipidach karpia i leszcza dominujący był kwas oleinowy (odpowiednio 32,63 i 20,9 %), zaś w tłuszczu szczupaka i sandacza największy udział miały kwas oleinowy (17,4 %), i dokozaheksaenowy (DHA) – 15,73 %. W tłuszczu tkanki mięśniowej sandacza te dwa kwasy stanowiły odpowiednio 16,01 i 13,64 %. Najmniejszy udział EPA i DHA, cennych ze względu na działanie prozdrowotne, zawierał karp, co znajduje potwierdzenie w pracach innych autorów [1, 8, 19]. Zawartość tłuszczu i profil kwasów tłuszczowych, m.in. w mięsie karpia, może być dobrym wskaźnikiem zasobności środowiska w pokarm, jak i ewentualnego dokarmiania ryb [1, 22].

Tabela 4

Zawartość wybranych pierwiastków w tkance mięśniowej ryb [mg/kg].

Content of selected elements in muscle tissue of fish [mg/kg].

Gatunek ryb Species	Termin odłowu Fishing Period	Zn	Cd	Pb	Cu	Fe
Karp / Carp	IX	8,35	0,001	0,057	1,02	3,84
	X	7,89	0,001	0,048	1,07	3,68
	XI	7,48	0,001	0,044	1,08	3,87
	\bar{x}	7,91 ^A	0,001	0,05 ^A	1,06 ^A	3,80 ^A
Leszcz / Bream	IX	7,41	0,001	0,02	0,79	3,79
	X	7,59	0,001	0,02	0,83	3,96
	XI	7,54	0,001	0,02	0,75	4,07
	\bar{x}	7,51 ^A	0,001	0,02 ^B	0,79 ^B	3,94 ^A
Szczupak / Pike	IX	7,16	0,001	0,03	1,17	4,83
	X	7,48	0,001	0,02	1,15	5,18
	XI	7,39	0,001	0,03	1,16	5,02
	\bar{x}	7,34 ^A	0,001	0,03 ^A	1,16 ^A	5,01 ^B
Sandacz Zander	IX	3,91	0,001	0,02	1,16	1,61
	X	4,26	0,000	0,06	1,09	1,84
	XI	3,92	0,001	0,04	1,26	1,48
	\bar{x}	4,03 ^B	0,001	0,04 ^A	1,17 ^A	1,64 ^C

Objaśnienie jak pod tab. 1. / Explanatory note as in Tab. 1

Ryby cechują się wysoką wartością odżywczą i dietetyczną, ale ich przydatność konsumpcyjna może zostać pomniejszona wskutek zanieczyszczenia środowiska [3, 6, 18, 21]. We wszystkich badanych rybach poziom analizowanych metali ciężkich (tab. 4) nie przekroczył dopuszczalnych norm [20]. Termin odłowu nie wpłynął na bioakumulację pierwiastków mineralnych w mięsie. Ich koncentracja w mięsie poszczególnych gatunków ryb mieściła się w zakresach podawanych przez innych autorów [4, 5, 14].

Poziom kadmu utrzymywał się na stałym poziomie (0,001 mg/kg) przy dopuszczalnej normie 0,05 mg/kg [20], zaś pod względem zawartości żelaza, cynku, miedzi i ołowiu odnotowano statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) różnice międzygatunkowe. Największe różnice wystąpiły w przypadku zawartości żelaza w mięsie ryb (od 1,64 mg/kg – sandacz do 5,01 mg/kg – szczupak). Sandacz zawierał także najmniej cynku (4,03 mg/kg), a najwięcej miedzi, natomiast w leszczu stwierdzono najmniej ołowiu i miedzi. Wyniki te różnią się nieznacznie od wyników uzyskanych przez Brucką-Jastrzębską i wsp. [4] oraz Grelę i wsp. [9]. Na zawartość ołowiu i kadmu nie wpływał sposób żerowania, co potwierdzają badania Łuczyńskiej i Bruckiej-Jastrzębskiej [14, 15].

Ze względu na wzrost świadomości konsumentów, zwiększa się zainteresowanie spożywaną żywnością, jej składem i pochodzeniem. Ryby, zwłaszcza morskie, ze względu na bogactwo składników odżywczych (PUFA, białko o wysokiej wartości odżywczej, witaminy i składniki mineralne) zalecane są w diecie każdego człowieka, a w szczególności w diecie osób zagrożonych chorobami serca i układu krążenia. Duże zróżnicowanie międzygatunkowe, a także dostępność i cena ryb słodkowodnych stają się ich atutem w konkurencji z rybami morskimi. Spośród ryb wód śródlądowych zdecydowanie korzystniejszym, z punktu widzenia żywienia człowieka, składem (mniejsza zawartość tłuszczu, znacznie wyższa zawartość PUFA) charakteryzują się ryby drapieżne, tj. szczupak i sandacz.

Wnioski

1. Zawartość składników odżywczych w rybach zależy od gatunku, przy czym obserwuje się tendencję do zmniejszania się ich zawartości w mięsie ryb wszystkożernych w miarę opóźniania terminu odłowu.
2. Największy udział nasyconych kwasów tłuszczowych stwierdzono w tłuszczu leszczy oraz szczupaków. Najmniej kwasów wielonienasyconych zawierał karp, najwięcej natomiast szczupak i sandacz.
3. Najbardziej korzystnym, pod względem dietetycznym, stosunkiem kwasów tłuszczowych n-3 do n-6 charakteryzuje się mięso szczupaków i sandaczy. Największy udział EPA stwierdzono w lipidach leszczy, szczupaków i sandaczy, zaś najwięcej DHA w tłuszczu mięsa szczupaków i sandaczy.

4. Zawartość metali ciężkich w tkankach badanych gatunków ryb była mniejsza od dopuszczonych norm prawnych i nie zależała istotnie od terminu odłowu.

Literatura

- [1] Ahlgren G., Blomqvist P., Boberg M., Gustafsson L.B.: Fatty acid content of the dorsal muscle – an indicator of fat quality in freshwater fish. *J. Fish Biol.*, 1994, **45**, 131-157.
- [2] AOAC: Official methods of analysis of the association of official chemists. 16th Edition. Arlington, Virginia, USA, 2000.
- [3] Barak NA, Mason CF.: Mercury, cadmium and lead concentrations in five species of freshwater fish from eastern. England. *Sci. Total Environ.*, 1990, **92**, 257-63.
- [4] Brucka-Jastrzebska E., Kawczuga D., Rajkowska M., Protasowicki M.: Levels of microelements (Cu, Zn, Fe) and macroelements (Mg, Ca) in freshwater fish. *J. Elementol.*, 2009, **14 (3)**, 437-447.
- [5] Brucka-Jastrzebska E., Protasowicki M.: Elimination dynamic of cadmium, administered by a single intraperitoneal injection in common carp *Cyprinus carpio* L. *Acta Ichth. Pisc.*, 2004, **34**, 167-180.
- [6] Carpene E., Gumiero B., Fedrizzini G., Serra R.: Trace elements (Zn, Cu, Cd) in fish from rearing ponds of Emilia-Romagna region (Italy). *Sci. Total Environ.*, 1994, **141**, 139-46.
- [7] Gajewska-Meszaros S., Meszaros J.: Ryby morskie i owoce morza: luksus czy konieczność. *Terapia i Leki*, 2001, **2**, 26-31.
- [8] Greła E.R., Dudek R.: Składniki odżywcze i profil kwasów tłuszczowych mięsa wybranych gatunków ryb morskich i słodkowodnych. *Żyw. Człow. Met.*, 2007, **34 (1)**, 561-566.
- [9] Greła E.R., Dudek R., Kowalczyk E.: Mineral content in fish meat from pond, lake or sea. *Polish J. Environ. Stud.*, 2007, **16**, 69-72.
- [10] Kolanowski W., Świdorski F.: Wielonienasycone kwasy tłuszczowe z grupy n-3 (n-3 PUFA). Korzystne działanie zdrowotne, zalecenie spożycia, wzbogacanie żywności. *Żyw. Człow. Met.*, 1997, **2**, 49-63.
- [11] Kołakowska A., Kołakowski E.: Szczególne właściwości żywieniowe ryb. *Przem. Spoż.*, 2000, **54**, 56-58.
- [12] Kołakowska A., Szczygielski M., Bienkiewicz G., Zienkiewicz L.: Some fish species as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Acta Ichth. Pisc.*, 2000, **30 (2)**, 59-70.
- [13] Łuczyńska J., Borejszo Z., Łuczyński M.: The composition and fatty acids in muscles of six freshwater fish species from the Mazurian Great Lakes (northeastern Poland). *Arch. Pol. Fish.*, 2008, **16 (2)**, 167-178.
- [14] Łuczyńska J., Brucka-Jastrzebska E.: The relationship between the content of lead and cadmium in muscle tissue and the size of fish from lakes in the Olsztyn lake District of northeastern Poland. *Arch. Pol. Fish.*, 2005, **13 (2)**, 147-155.
- [15] Łuczyńska J., Brucka-Jastrzebska E.: Determination of heavy metals in the muscles of some fish species from lakes of the north-eastern Poland. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006, **15 (2)**, 141-146.
- [16] Łuczyńska J., Tońska E., Łuczyński M.: Essentials mineral components in the muscles of six freshwater fish from the Mazurian Great Lakes (northeastern Poland). *Arch. Pol. Fish.*, 2009, **17**, 171-178.
- [17] Marciniak-Łukasiak K., Krygier K.: Charakterystyka kwasów omega-3 i ich zastosowanie w żywności funkcjonalnej. *Przem. Spoż.*, 2004, **12 (57)**, 32-36.
- [18] Rashed M.N.: Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environ. Inter.*, 2001, **27**, 27-33.

- [19] Rosoarahona J., Barnathan R.E., Bianchini J.P., Gaydou E.M.: Annual evolution of fatty acid profile from muscle lipids of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in Madagascar inland waters. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 7339-7344.
- [20] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 13.01.2003 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności. *Dz. U.* 2003. Nr 37, poz. 326 z późn. zm.
- [21] Svobodová Z., Čelechovská O., Kolář J., Randák T., Žlábek V.: Assessment of metal contamination in the upper reaches of the Tichá Orlice River. *Czech J. Anim. Sci.*, 2004, **49**, 458-464.
- [22] Szarek-Gwiazda E., Amirowicz A., Gwiazda R.: Trace element concentrations in fish and bottom sediments of a eutrophic dam reservoir. *Int. J. Oceanogr. Hydrob.*, 2006, **35** (4), 331-352.

CONTENT OF NUTRIENTS AND MINERALS, AND FATTY ACID PROFILE IN SOME FISH FLESH DEPENDING ON FISHING PERIOD

S u m m a r y

Four species of freshwater fish were included into the research project, namely: pike (*Esox lucius* L.), zander (*Sander lucioperca* L.), carp (*Cyprinus carpio* L.), and bream (*Aramis brama* L.). Six fish of each species were fished every month from September to November 2007. Morphometric features of fish were assessed as was the content of nutrients and mineral components. Furthermore, a profile of fatty acids was analysed. The content of nutrients in fish depended on the fishing period and its level diminished during the consecutive months of fishing. The highest amount of saturated fatty acids was determined in the fat of bream and pike flesh. The flesh of carp had the lowest level of polyunsaturated fatty acids, whereas the flesh of pike and zander – the highest. From the nutritional point of view, the flesh of pike and zander was characterized by the most beneficial n-3 to n-6 fatty acids ratio. The highest level of EPA was found in the lipids derived from bream and pike, and the fat from pike and zander flesh had the highest level of DHA. The content of heavy metals did not exceed the permissible levels as pointed in relevant standards, and no significant differences depending on the fishing period were found.

Key words: fish, nutrients, fatty acids, heavy metals ☒

TERESA JAŚKIEWICZ, AGNIESZKA SAGAN, ANDRZEJ MASŁOWSKI

WPLYW CZASU AUTOKLAWOWANIA NASION KRAJOWYCH ODMIAN SOI NA ZAWARTOŚĆ LIZYNY REAKTYWNEJ

Streszczenie

Spośród wskaźników oceny wpływu różnych warunków procesów termicznych na wartość odżywczą niewiele wyników badań dotyczy zawartości lizyny reaktywnej (z wolną grupą ϵ -aminową). W nasionach trzech krajowych odmian soi (Augusta, Aldana, Progres) oznaczono zawartość składników podstawowych, aminokwasów, lizyny reaktywnej, skład kwasów tłuszczowych, składników mineralnych oraz aktywność ureazy. Nasiona poddano procesowi autoklawowania w ciągu: 0, 10, 20, 30, 2×30 min i oznaczono w nich zawartość lizyny reaktywnej. Statystycznie istotne straty lizyny reaktywnej odnotowano w efekcie 20-minutowej ekspozycji na warunki przetwarzania nasion odmiany Progres, w przypadku odmian Augusta i Aldana straty odnotowano po 30 minutach. Stwierdzono, że autoklawowanie nasion soi wpłynęło na istotne obniżenie aktywności ureazy.

Słowa kluczowe: nasiona soi, odmiany, lizyna reaktywna, autoklawowanie

Wprowadzenie

Nasiona soi zawierają dużo białka o wysokiej wartości odżywczej, dzięki czemu śruta poekstrakcyjna czy też nasiona należą do podstawowych źródeł białka. Obecność termolabilnych związków o charakterze przeciwożywnym, a zwłaszcza inhibitorów enzymów proteolitycznych, lektyn i ureazy obliguje do stosowania hydrotermicznych procesów dezaktywacji materiałów sojowych. Procesy te powinny prowadzić do obniżenia aktywności inhibitorów i ureazy do akceptowanych poziomów, przy czym parametry procesu ogranicza ryzyko obniżenia jakości białka. W przypadku pełnych nasion wykorzystywanych w produkcji pasz dezaktywacja czynników przeciwżywnych ma miejsce w procesie przetwórczym surowych nasion czyli podczas ekstruzji bądź też ogrzewaniu połączonym z płatkowaniem.

W wytwarzaniu żywności i mieszanek paszowych proces technologiczny może obejmować kondycjonowanie, ekspandowanie, ekstruzję czy granulowanie. Tak więc materiał sojowy poddany wcześniej np. toastowaniu bywa ponownie ogrzewany przy podwyższonej wilgotności. Stwarza to ryzyko zmniejszenia dostępności i strawności aminokwasów, głównie lizyny [4]. Lizyna, szczególnie w wyższej temperaturze, może wchodzić w reakcje z innymi natywnymi związkami np. redukującymi [1, 10]. W efekcie po zablokowaniu wolnej grupy ϵ -aminowej staje się niedostępna dla procesów trawiennych. Spośród wskaźników oceny wpływu różnych warunków obróbki technologicznej na wartość pokarmową niewiele wyników badań dotyczy zawartości lizyny reaktywnej (z wolną grupą ϵ -aminową). Podatność nasion różnych odmian soi na procesy termicznego przetwarzania stwierdzili Qin i wsp. [19] oraz Žilić i wsp. [26].

Celem badań było określenie wpływu czasu autoklawowania oraz autoklawowania dwukrotnego krajowych odmian nasion soi na zawartość lizyny reaktywnej.

Material i metody badań

Do badań użyto prób 3 krajowych odmian soi: Progres (1981), Aldana (1992) i Augusta (2002) pochodzących z upraw IHAR w Radzikowie k. Warszawy. W nawiasach podano rok wpisania odmian do Krajowego Rejestru. Próby pochodziły ze zbiorów 2007 r. Po usunięciu zanieczyszczeń przechowywano je w zamkniętych szklanych pojemnikach w temp. 18 - 23 °C.

Z każdej odmiany przygotowano po 5 prób nasion, które autoklawowano w ciągu: 0, 10, 20, 30, 2×30 min. Autoklawowanie prowadzono w pionowym sterylizatorze parowym, typ ASVE produkcji SPM w Warszawie. Temperatura procesu wynosiła 121 °C, a ciśnienie 0,25 MPa.

W próbkach nasion oznaczano białko ogólne metodą Kjeldahla zgodnie z PN-ISO 5983 [14], tłuszcz surowy metodą Soxleta zgodnie z PN-EN ISO 659 [13], popiół całkowity wg PN-ISO 749 [16]. Aminokwasy oznaczano metodą chromatografii jonowymiennej w automatycznym analizatorze aminokwasów Beckman model 119Cl; przed analizą próby poddano kwaśnej hydrolizie w obecności 6 M HCl, w temp. 105 °C w ciągu 24 h. Aminokwasy siarkowe oznaczano oddzielnie po utlenieniu [2, 23]. Tryptofan oznaczano zgodnie z metodą AOAC [11]. Skład kwasów tłuszczowych oznaczano zgodnie z metodą opisaną przez Matykę [7], jako estry metylowe w chromatografii gazowym UNICAM 610 Series. Zawartość składników mineralnych, za wyjątkiem fosforu, oznaczano w spektrofotometrze płomieniowym ASA SOLAR 939 UNICAM wg PN-EN ISO 6869 [17], zawartość fosforu metodą spektrometryczną wg PN-ISO 6491 [15]. Lizynę reaktywną oznaczano techniką HPLC według Ramírez-Jiméneza i wsp. [20]. Zasada metody polegała na utworzeniu barwnego kompleksu ϵ -DNP-lizyny w reakcji z dinitrofluorobenzenem (DNFB), a następnie zhydrolizowaniu próby i oznaczeniu zawartości ϵ -DNP-lizyny w chromatografii cieczowym z detekto-

rem UV VIS – Spectroflow 773. Aktywność ureazy oznaczano metodą PN ISO 5506 [18].

Istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami zawartości lizyny reaktywnej zweryfikowano używając analizy wariancji i testu Tukey'a przy $p \leq 0,05$. Obliczano współczynniki korelacji liniowej i równania regresji liniowej określające zmiany zawartości lizyny reaktywnej w nasionach soi w zależności od czasu autoklawowania. Obliczenia wykonano korzystając z programu Statistica 8.0.

Wyniki i dyskusja

Nasiona soi odmiany Augusta zawierały najwięcej białka ogólnego (34,25 %) oraz najmniej tłuszczu surowego (17,20 %), zaś w nasionach odmiany Progres było najmniej białka ogólnego (31,14 %) oraz najwięcej tłuszczu surowego (18,10 %) (tab. 1). Skład podstawowy nasion odpowiadał wynikom 5 krajowych odmian soi badanych przez Klebaniuk [6]. Jednocześnie oznaczona zawartość białka była mniejsza od wartości podanych przez Monari [9] (35,5 do 38,0 %), dotyczących nasion soi pochodzących z 6 źródeł zagranicznych. W odniesieniu do cytowanego zestawienia zawartość tłuszczu w nasionach soi odmiany Augusta i Aldana była mniejsza, jednocześnie mieściła się w granicy wyników stwierdzonych w analizie 66 odmian soi [21].

Zawartość aminokwasów w próbach poszczególnych odmian okazała się zróżnicowana, przy czym największe wahania wystąpiły w przypadku metioniny i lizyny. Najmniejsza zawartość tych aminokwasów była w nasionach odmiany Aldana i wyniosła w przeliczeniu na kg nasion – 17,0 g lizyny i 4,7 g metioniny, w nasionach odmiany Progres była większa odpowiednio o 13,5 i 14,9 %, a w nasionach odmiany Augusta o 17,1 i 23,4 %. Zawartość lizyny w nasionach odmiany Aldana odbiega od danych krajowych [8, 24]. Zawartość metioniny, tryptofanu mieściła się w granicach wahań odmian zagranicznych natomiast lizyny, cystyny, treoniny, izoleucyny, leucyny, waliny oraz argininy była mniejsza od wartości podanych przez Monari [9].

Profil kwasów tłuszczowych w analizowanych nasionach był bardziej wyrównany niż skład aminokwasowy. Stosunek udziałów kwasu oleinowego do linolowego w tłuszczu krajowych odmian wyniósł ok. 1 : 2 i okazał się podobny do stosunku tych kwasów w odmianach indyjskich analizowanych przez Rani i wsp. [21] oraz mniejszy niż w odmianach amerykańskich analizowanych przez Panthee i wsp. [12]. W badanych próbach na uwagę zasługuje korzystny, wysoki udział kwasu linolenowego.

Oznaczone składniki mineralne znajdowały się w nasionach w ilościach zbliżonych do danych krajowych i zagranicznych [8, 9, 24].

Tabela 1

Skład chemiczny nasion soi.
Chemical composition of soybean seeds.

Wyszczególnienie Items	Odmiana soi / Soybean variety		
	Augusta	Aldana	Progres
Sucha masa / Dry mass [g/kg]	915,0	929,0	921,0
Białko ogólne / Total protein [g/kg]	342,5	327,0	311,4
Tłuszcz surowy / Crude fat [g/kg]	172,0	176,2	181,0
Popiół / Ash [g/kg]	50,4	60,1	55,6
Lys [g/kg]	19,9	17,0	19,3
Met [g/kg]	5,8	4,7	5,4
Cys [g/kg]	4,9	4,1	4,8
Trp [g/kg]	4,3	4,2	4,1
Thr [g/kg]	10,7	11,7	10,3
Ile [g/kg]	14,8	12,7	14,1
Leu [g/kg]	17,9	20,5	17,0
Val [g/kg]	13,3	11,1	10,7
His [g/kg]	7,5	7,4	7,4
Arg [g/kg]	20,8	20,3	19,5
Phe [g/kg]	12,5	15,6	11,5
Tyr [g/kg]	8,9	10,8	8,4
Ca [g/kg]	2,55	2,64	2,47
P [g/kg]	6,40	5,90	6,80
Mg [g/kg]	2,83	2,64	2,58
K [g/kg]	16,61	17,12	15,67
Fe [g/kg]	94,96	81,31	78,09
Kwasy tłuszczowe / Fatty acids [% sumy FA] / [% of total FA]			
Kwas palmitynowy / Palmitic acid	11,90	12,00	12,05
Kwas stearynowy / Stearic acid	4,63	4,40	4,73
Kwas oleinowy / Oleic acid	25,43	24,99	22,90
Kwas linolowy / Linoleic acid	48,69	48,11	48,40
Kwas linolenowy / Linolenic acid	8,67	9,86	10,05

Nasiona odmian Augusta i Progres zawierały zbliżoną ilość lizyny reaktywnej, wyniosła ona odpowiednio 19,7 i 19,0 g/kg s.m., uboższe o ten składnik były nasiona

odmiany Aldana – 16,6 g/kg (tab. 2). Statystycznie istotne straty lizyny reaktywnej odnotowano w efekcie 20-minutowej ekspozycji na warunki przetwarzania nasion odmiany Progres, w nasionach odmian Augusta i Aldana wystąpiły one po 30 min. Dwukrotne autoklawowanie w ciągu 30 min spowodowało dalszy ubytek lizyny reaktywnej, w przypadku nasion odmiany Aldana i Progres zawartość tego składnika była statystycznie istotnie mniejsza w porównaniu z zawartością w nasionach przetwarzanych 20 min. Lizyna reaktywna w nasionach odmiany Augusta okazała się najbardziej odporna na obróbkę termiczną. Jej straty nawet po dwukrotnym 30-minutowym autoklawowaniu wyniosły 8 %, natomiast w nasionach odmian Aldana i Progres straty odnotowano już po 20 min obróbki i wyniosły odpowiednio 8 i 12 %. Najmniejsza końcowa zawartość lizyny reaktywnej była w nasionach odmiany Progres i wyniosła 76 %, w nasionach odmiany Aldana było to 81 % zawartości początkowej. W porównaniu z wynikami uzyskanymi przez Žilić i wsp. [26] w przypadku odmian serbskich, nasiona krajowych odmian soi okazały się bardziej wrażliwe na autoklawowanie niż odmiana Bosa, w której nie zaszły istotne zmiany zawartości lizyny reaktywnej nawet po 30 min procesu oraz odporniejsze od odmiany ZPS 015, w nasionach której znaczące straty lizyny reaktywnej odnotowano już po 10 min procesu. Qin i wsp. [19] stwierdzili, że toastowanie nasion soi (temp. 136 °C, czas 10 min) w podwyższonej wilgotności spowodowało degradację od 7 do 16 % omawianego składnika. W przypadku nasion Inianki wyższa temperatura przetwarzania (165 °C) w ekstruderze nie wpłynęła na obniżenie reaktywności lizyny [5].

Tabela 2

Zawartość lizyny reaktywnej w nasionach soi [g/kg s.m.].
Content of reactive lysine in soybean seeds [g/kg of d.m.].

Czas procesu [min] Processing time [min]	Odmiana soi / Soybean variety					
	Augusta		Aldana		Progres	
	\bar{x} SD	Ubytek Decrease [%]	\bar{x} SD	Ubytek Decrease [%]	\bar{x} SD	Ubytek Decrease [%]
0	19,7 a 0,35	0	16,6 a 0,85	0	19,0 a 0,64	0
10	19,4 ab 0,15	2	15,9 a 0,15	4	19,0 a 0,21	0
20	18,7 ab 0,81	5	15,2 ab 0,56	8	16,7 b 0,20	12
30	18,7 b 0,30	6	14,4 bc 0,20	13	14,2 c 0,71	25
2×30	18,2 b 0,45	8	13,4 c 0,55	19	14,4 c 0,35	24

a, b, c - różnice statystycznie istotne w kolumnach przy $p \leq 0,05$ / significant differences in columns, with $p \leq 0.05$.

Analiza współczynników regresji liniowej (tab. 3) w równaniach opisujących zależność zawartości lizyny reaktywnej w badanym materiale od czasu procesu pozwala stwierdzić, że wydłużenie czasu autoklawowania nasion soi o 10 min może powodować spadek zawartości tego biologicznie czynnego związku średnio o 0,9 g/kg s.m. nasion.

Tabela 3

Zależność zawartości lizyny reaktywnej (Lr) [g/kg s.m.] od czasu procesu autoklawowania (t) [min].
Relationship between the content of reactive lysine (Lr) [g/kg d.m.] and the time of autoclaving process (t) [min].

Odmiana soi Soybean variety	Współczynnik korelacji Correlation coefficient (r)	Równanie regresji Regression equation
Augusta	-0,94	$Lr = -0,04 \cdot t + 19,68$
Aldana	-0,99	$Lr = -0,07 \cdot t + 16,62$
Progres	-0,93	$Lr = -0,17 \cdot t + 19,73$

Tabela 4

Aktywność ureazy w nasionach soi [mgN/ g·min].
Ureasic activity in soybean seeds [mgN/ g·min].

Czas procesu Processing time [min]	Odmiana soi / Soybean variety					
	Augusta		Aldana		Progres	
	\bar{x} SD	Ubytek Loss [%]	\bar{x} SD	Ubytek Loss [%]	\bar{x} SD	Ubytek Loss [%]
0	6,62 a 0,07	0	8,09 a 0,03	0	8,04 a 0,02	0
10	2,15 b 0,03	67,5	5,02 b 0,03	38,0	4,97 b 0,05	37,2
20	0,25 c 0,05	96,2	0,31 c 0,07	96,2	0,20 c 0,10	97,5
30	-	100	-	100	-	100
2 x 30	-	100	-	100	-	100

a, b, c - różnice statystycznie istotne w kolumnach przy $p \leq 0,05$ / statistically significant differences in the columns at $p \leq 0.05$.

Tempo spadku aktywności ureazy było podobne w nasionach odmian Aldana i Progres (tab. 4). Aktywność enzymu zmniejszyła się po 10 min o ok. 38 %, a po 20 min ok. 96 %. W nasionach odmiany Augusta straty aktywności wyniosły odpo-

wiednio ok. 67 i 96 %. Dezaktywację ureazy stwierdzono we wszystkich próbach po 30 min przetwarzania. Zalecany dla materiałów paszowych poziom ($<0,4$ mgN/g·min) [22] uzyskano więc po 20 min autoklawowania. Podobne zmiany aktywności ureazy, przy tej samej temperaturze procesu, odnotowali Herkelman i wsp. [3]. W przypadku poddania nasion soi autoklawowaniu w temp. 125 °C Yin i wsp. [25] stwierdzili dezaktywację ureazy po 5 min.

Wnioski

1. Autoklawowanie nasion soi wpłynęło na istotne zmniejszenie zawartości lizyny reaktywnej w nasionach odmiany Progres po 20 min procesu, a w nasionach odmian Augusta i Aldana po 30 min.
2. Aktywność ureazy uległa obniżeniu po 10 min procesu w przypadku każdej badanej odmiany nasion soi.
3. Zastosowany proces przetwarzania w temp. 121 °C przez 20 min pozwolił na uzyskanie akceptowanego poziomu aktywności ureazy we wszystkich badanych odmianach nasion soi, a przedłużanie procesu prowadziło do spadku zawartości lizyny reaktywnej i w konsekwencji obniżało wartość odżywczą białka uzyskanego produktu.

Literatura

- [1] Ajandouz E.H., Tchiakpe L.S., Dalle Ore F., Benajiba A., Puigserver A.: Effects of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model system. *J. Food Sci.*, 2001, **66** (7), 926-931.
- [2] Davies M.G., Thomas A.J.: An investigation of hydrolytic techniques for the amino acid of food-stuffs. *J. Sci. Food Agric.*, 1973, **24** (12), 1525-1540.
- [3] Herkelman K.L., Cromwell G.L., Stahly T.: Effects of heating time and sodium metabisulfite on the nutritional value of full-fat soybeans for chicks. *J. Anim. Sci.*, 1991, **69**, 4477-4486.
- [4] Gujska E., Khan K.: Effect of extrusion variables on amino acids, available lysine and in vitro protein of the extrudates from pinto bean (*Phaseolus vulgaris*). *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **11/52** (1), 39-43.
- [5] Jaśkiewicz T., Matyka S., Sagan A.: The influence of extrusion on the content of chosen nutrients in false flax materials. *Pol. J. Nat. Sci.*, 2006, **Suppl. 3**, 67-72.
- [6] Klebaniuk R.: Nutritional and mineral values of different types of soya bean. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2007, **16** (3A), 120-123.
- [7] Matyka S.: Rutynowa metoda oznaczania składu i zawartości kwasów tłuszczowych w mieszankach i komponentach paszowych. *Biul. Inf. Przem. Pasz.*, 1976, **15**, 38-46.
- [8] Matyka S.: *Towaroznawstwo materiałów paszowych i dodatków paszowych*. Wyd. WIP AR, Lublin 2007.
- [9] Monari S.: *Fullfat soya handbook*. American Soybean Association, Brussels, Belgium, 1993, pp. 11-12.
- [10] Naranjo G.B., Malec L.S., Vigo M.S.: Reducing sugars effect on available lysine loss of casein by moderate heat treatment. *Food Chem.*, 1998, **62** (3), 309-313.

- [11] Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. Kenneth Helrich (Ed.) 15 th ed., Arlington, Virginia, USA, 1990.
- [12] Panthee D.R., Pantalone V.R., Saxton A.M.: Modifier QTL for fatty acid composition in soybean oil. *Euphytica*, 2006, **152**, 67-73.
- [13] PN-EN ISO 659: 1999. Nasiona oleiste. Oznaczanie zawartości oleju. (Metoda odwoławcza).
- [14] PN-ISO 5983:2000. Pasze. Oznaczanie zawartości azotu i obliczanie zawartości białka ogólnego.
- [15] PN-ISO 6491:2000. Pasze. Oznaczanie zawartości fosforu – metoda spektrometryczna.
- [16] PN-ISO 749:2001. Śruta nasion oleistych. Oznaczanie popiołu całkowitego.
- [17] PN-EN ISO 6869:2002. Pasze. Oznaczanie zawartości wapnia, miedzi, żelaza, magnezu, manganu, potasu, sodu i cynku metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej.
- [18] PN-ISO 5506:2002. Produkty sojowe. Oznaczanie aktywności ureazy.
- [19] Qin G.X., Verstegen M.W.A., van der Poel A.F.B.: Effect of temperature and time during steam treatment on the protein quality of full-fat soybeans from different origins. *J. Sci. Food Agr.*, 1998, **77**, 393-398.
- [20] Ramírez-Jiménez A., García-Villanova B., Guerra-Hernández E.: Effect of storage conditions and inclusion of milk on available lysine in infant cereals. *Food Chem.*, 2004, **85**, 239-244.
- [21] Rani A., Kumar V., Verma S.K., Shakya A.K., Chauhan G.S.: Tocopherol content and profile of soybean: genotypic variability and correlation studies. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 2007, **84**, 377-383.
- [22] Rozporządzenie MRiRW z dn. 19.01.2005 r. w sprawie materiałów paszowych wprowadzonych do obrotu. *Dz. U.* 2005 r. Nr 16, poz. 137.
- [23] Schram E., Moore S., Bigwood E.J.: Chromatographic determination of cystine as cystic acid. *Biochem. J.*, **57**, 33-37.
- [24] Smulikowska S., Rutkowski A.: Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz – Normy Żywnienia Drobiu. Instytut Fizjologii i Żywnienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego. PAN, Jabłonna 2005.
- [25] Yin Y.L., Zhong H.Y., Huang R.L., Cheng X.S.: Effects of autoclaving on urease activity, trypsin inhibitors and ileal digestibility of crude protein in jack bean, field bean, and soybean for growing-finishing pigs. *J. Anim. Physiol. An. N.*, 1993, **1(2)**, 65-75.
- [26] Žilić S.M., Božović I.N., Savić S., Šobajić S.: Heat processing of soybean kernel and its effect on lysine availability and protein solubility. *Cent. Eur. J. Biol.*, 2006, **1(4)**, 572-583.

EFFECT OF AUTOCLAVING TIME ON THE CONTENT OF REACTIVE LYSINE IN AUTOCLAVED SEEDS OF LOCAL SOYBEAN VARIETIES

S u m m a r y

There are various indices used to assess the effect of thermal processing conditions on nutritional value, however, there are only little analyses the results of which refer to the content of reactive lysine (with a free ϵ -amine group). The following was determined in seeds of 3 soybean types (Augusta, Aldana, and Progres): content of basic components, amino acids, and reactive lysine; composition of fatty acids and mineral components; and ureasic activity. The seeds were autoclaved at a temperature of 121 °C during 10, 20, 30, and 2×30 minute periods and the content of reactive lysine was determined therein. After the seeds of the Progres variety have been exposed to the processing conditions for 20 minutes, statistically significant losses of reactive lysine were found in those seeds, whereas in the seeds of the Augusta and Aldana varieties showed such losses after having been autoclaved for 30 minutes. It was found that the autoclaving process of soybean seeds resulted in a significant decrease in the ureasic activity.

Key words: soybean seeds, varieties, reactive lysine, autoclaving 

ELŻBIETA KLIMCZAK, BOGUSŁAW KRÓL

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI ROŻNYCH FORM KWASU ELAGOWEGO W UBOCZNYCH PRODUKACH PRZEROBU TRUSKAWEK

Streszczenie

Celem pracy był wybór rozpuszczalnika i warunków ekstrakcji elagotanin (ET) z wysuszonych odpadów przerobu truskawek oraz opracowanie sposobu hydrolizy estrów kwasu elagowego (KE) w glicerolowych roztworach kwasu trifluorooctowego (TFA). Równorzędnym celem było zastosowanie nowej generacji kolumny chromatograficznej do oznaczania zawartości wolnego i związanego KE w wybranych, ubocznych produktach przemysłowego przerobu truskawek. Uzyskane wyniki analiz były podstawą do obliczenia zawartości ET w badanych materiałach roślinnych.

Wykazano, że 70 % wodny roztwór acetonowy zastosowany w temperaturze (22 ± 2 °C), w co najmniej trójstopniowej ekstrakcji, umożliwił zadowalające wyodrębnienie KE i ET z wysuszonych wytlóków truskawkowych i śruty poekstrakcyjnej z nasion truskawek odfuszczonych ditenkiem węgla w stanie nadkrytycznym. Udowodniono, że ET utrzymywane w temp. 95 ± 1 °C, przez co najmniej 6 h, w 70 % wodnym roztworze glicerolu, zawierającym TFA w stężeniu 2 mol/l, uległy całkowitej hydrolizie z uwolnieniem KE. Zarejestrowanie chromatogramów składników ekstraktów, przed i po hydrolizie, z zastosowaniem techniki HPLC, umożliwiło oznaczenie zawartości wolnego i uwolnionego KE w wybranych odpadach przerobu truskawek oraz pozwoliło na obliczenie w nich udziału ET. Stwierdzono, że w próbkach wysuszonych, przemysłowych wytlóków truskawkowych pozbawionych nasion zawartość wolnego KE wyniosła poniżej 100 mg/100 g, uwolnionego około 900 mg/100 g, a udział ET wyniósł 1,4 % (m/m). W wysuszonych próbkach przemysłowych odpadów z przecieraczek zawartość wolnego KE wahała się w granicach 30 - 150 mg/100 g, uwolnionego KE 300 - 680 mg/100 g i ET 0,5 - 1,1 % (m/m).

Słowa kluczowe: truskawki, wytloki truskawkowe, kwas elagowy, elagotanimy, ekstrakcja, hydroliza

Wprowadzenie

Truskawka (*Fragaria ananasa*) należy do popularnych owoców jagodowych w strefie klimatu umiarkowanego. Od wielu lat Polska należy do największych producentów owoców miękkich na świecie, a ze zbiorem truskawek około 200 tys. ton rocz-

nie zajmuje drugie miejsce w produkcji tych owoców w Europie [20]. Owoce truskawek, poza cenionymi walorami smakowymi, charakteryzują się wysoką zawartością witaminy C, makro- i mikroelementów, błonnika pokarmowego oraz polifenoli [10]. Wśród związków polifenolowych na szczególną uwagę zasługuje kwas elagowy (KE), jego glikozydy i elagotaniny (ET) [19, 23]. Według Silva Pinto [23] sumaryczna zawartość KE w owocach truskawek waha się od 5 do 50 mg/100 g ś.m. Wolny KE stanowi jedynie niewielki procent wśród ogólnej liczby jego pochodnych, obejmujących glikozydy i wielkocząsteczkowe ET. Glikozydy KE składają się z aglikonu tego kwasu i reszty odpowiedniej heksozy lub pentozy. ET są estrami kwasu heksahydroksydifenylowego (kwas HHDP) i alkoholu wielowodorotlenowego, zwykle β -D-glukozy. Te wielkocząsteczkowe związki wykazują tendencję do tworzenia dimerów i oligomerów, których jednostki strukturalne połączone są wiązaniem C-O-C [8, 22, 23]. ET dominującą w owocach truskawek jest sanguina H-6, tj. dimer β -1-O-galloilo-2,3:4,6-bis-HHDP-D-glukozy [1, 22, 28]. Specyficzna różnorodność strukturalna, w tym podatne na hydrolizę wiązania estrowe ET są prawdopodobną podstawą prozdrowotnych właściwości surowców leczniczych i żywnościowych bogatych w te związki. Podatność ET na hydrolizę odróżnia tę grupę garbników od tanin skondensowanych i umożliwia ich oznaczenie na podstawie ilości KE uwolnionego z wiązań estrowych [4]. Dotychczas jest to najczęściej stosowana metoda oznaczania zawartości KE związanego w postaci glikozydów i estrów w materiałach roślinnych [22, 23].

Sezonowość występowania oraz mała trwałość owoców powodują, że truskawki są powszechnie stosowane do produkcji mrożonek, zagęszczonych soków, napojów, nektarów i dżemów. Podczas przerobu truskawek, w toku przecierania lub tłoczenia, powstają odpady w ilości około kilku procent masy przerabianego surowca [9]. Wytloki truskawkowe, powstające w procesie wytwarzania soku i odpady z przecierania charakteryzują się stosunkowo dużym udziałem owoców właściwych w całkowitej masie. Nasiona (orzeczki) stanowią około 1 % masy owoców, lecz zawierają nawet do 11 % sumy związków polifenolowych obecnych w owocach truskawek [1]. Nasiona truskawek są również źródłem oleju bogatego w kwas α -linolenowy, otrzymywanego metodą ekstrakcji ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym [21]. W związku z tym odpady z przetwórstwa truskawek są potencjalnie dobrym źródłem substancji przeciwutleniających [16], a zwłaszcza proantocyjanidyn [18], oleju [21], KE i ET [1]. Współczesne sposoby utylizacji wytlóków w polskich warunkach dotyczą kompostowania, biotransformacji i wyodrębniania komponentów do herbat [25]. Dotychczas brakuje jednak danych o zawartości ET w wytlókach, osadach z przecieraczek i nasionach truskawek poddanych procesom przetwórczym w Polsce. W części wynika to z niedoceniań tych odpadów, a w części z niedoskonałości istniejących metod analitycznych, wykorzystujących kwasową hydrolizę ET. Istotną trudność oznaczania jest związana z jednej strony z dużą reaktywnością KE i powstaniem estrów w roztworach alkoholowych,

zaś z drugiej strony z jego małą rozpuszczalnością w roztworach wodnych [2]. Hydrolizę ET prowadzi się zarówno w alkoholowych, jak i w wodno-alkoholowych roztworach odpowiednich ekstraktów, względnie zawiesinie próbek roślinnych zakwaszonych kwasem chlorowodorowym lub trifluorooctowym (TFA). Hydroliza przebiega w zakresie temp. 85 - 125 °C, w ciągu 1 - 20 h i niekiedy w zatopionych ampułkach [3, 4, 6, 9, 12, 13, 23, 24, 26, 28, 29]. Wariantowość postępowania analitycznego prowadzi do bardzo dużej rozbieżności wyników oznaczania ET w owocach truskawek tej samej odmiany (5 - 50 mg/100 g ś.m.) [23]. Silva Pinto [23] podjęła próby unifikacji metody oznaczania KE i jego pochodnych przez optymalizację zarówno warunków ekstrakcji, jak i przebiegu hydrolizy ET. Autorka wykazała zachowanie selektywności hydrolizy pochodnych KE w 2 M TFA, w wodnych 70 % roztworach metanolowych i acetonowych, podczas wielogodzinnych reakcji oraz niezadowalającą przydatność wodnych roztworów metanolowych do ekstrakcji ET z owoców truskawek.

Celem niniejszej pracy był wybór najkorzystniejszych warunków ekstrakcji ET z wysuszonych odpadów przerobu truskawek oraz opracowanie sposobu hydrolizy estrów KE w glicerolowych roztworach TFA. Równorzędnym celem było oznaczenie zawartości wolnego i związanego KE w wybranych ubocznych produktach przemysłowego przerobu truskawek metodą HPLC i na tej podstawie obliczenie zawartości ET w badanych materiałach roślinnych w przeliczeniu na β -1-O-galloilo-2,3:4,6-bis-HHDP-D-glukozę.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły przemysłowe odpady z przetwórstwa truskawek na soki i przeciery, pochodzące z linii produkcyjnych nowoczesnych zakładów zlokalizowanych w województwie mazowieckim i lubelskim:

- wysuszone, przemysłowe wytloki truskawkowe z kampanii 2008 r., rozdzielone na frakcje o wielkości cząstek 1-2 mm i 2-5 mm;
- wysuszone osady z przemysłowych przecieraczek z kampanii 2009 r., o granulacji 0,6-1,2 mm i powyżej 1,2 mm;
- jako materiał odniesienia wykorzystano próbki nasion truskawek z kampanii 2008 r., odtłuszczonych ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym [21].

Wybór warunków ekstrakcji ET z badanych materiałów oraz przygotowanie roztworów do hydrolizy

W pierwszej kolejności porównano skuteczność metod wyodrębniania ET z dwóch standartowych materiałów, z wykorzystaniem dotychczas najczęściej stosowanych technik ekstrakcji opisanych w literaturze [1, 11, 27, 28, 29]. Zbadano wpływ wybranych rozpuszczalników oraz metod ekstrakcji na wydajność izolowania ET z materiału roślinnego. Przed ekstrakcją badany materiał, tj. wytloki i odtłuszczone

nasiona, rozdrabniano w młynku laboratoryjnym Lab Mill-1 (Węgry), do wielkości cząstek $\varnothing \leq 0,2$ mm. Ekstrakcje wykonywano wg poniżej cytowanych autorów w następujący sposób:

Metoda 1. – wg Kołodziejczyka i wsp. [11]. Ekstrakcję ET z badanego materiału przeprowadzano trójstopniowo z użyciem kolejno 70 % roztworu etanolu i trójstopniowo z użyciem 70 % roztworu acetonu. Do plastikowych probówek o poj. 7 ml odważano po około 0,5 g badanego materiału z dokładnością do 0,0001 g. Do każdej próbki dodawano po 4 ml 70 % etanolu, dokładnie mieszano i umieszczano w myjce ultradźwiękowej na 15 min. Następnie próbki wirowano przez 5 min w wirówce laboratoryjnej, typ 317a przy 4800 x g. Po odwirowaniu ciecz z nad osadu zlewano do kolby miarowej o poj. 10 ml. Pozostały w probówce osad poddawano, analogicznie wykonywanym, dwóm ekstrakcjom z użyciem ekstrahenta w ilości po 3 ml. Uzyskiwane kolejne ekstrakty alkoholowe umieszczano w kolbie miarowej o poj. 10 ml. W podobny sposób zbierano trzy ekstrakty acetonowe. Ekstrakty etanolowe i acetonowe łączono, oddestylowano rozpuszczalniki, po czym suchą pozostałość w kolbie rozpuszczano w 2 ml 70 % wodnego roztworu gliceryny.

Metoda 2. – modyfikacja metody wg Aaby i wsp. [1]. ET ekstrahowano sukcesywnie sześciokrotnie 70 % wodnym roztworem acetonu. Postępowanie analityczne wykonywano w analogiczny sposób jak w metodzie 1. Uzyskiwane kolejne ekstrakty zbierano do dwóch kolb miarowych o poj. 10 ml każda i łączono. Ekstrakty przenoszono ilościowo do kolby destylacyjnej wyparki próżniowej i oddestylowano rozpuszczalnik, po czym suchą pozostałość w kolbie rozpuszczano w 2 ml 70 % wodnego roztworu gliceryny.

Metoda 3. – modyfikacja metody wg Aaby i wsp. [1] z zastosowaniem jedynie trójstopniowej ekstrakcji wykonywanej wg postępowania analitycznego opisanego powyżej (metoda 2).

Metoda 4. – wg Vrhovsek i wsp. [29]; 10 g rozdrobnionego materiału ekstrahowano 100 ml 70 % wodnego roztworu acetonu przez 1 min, stosując blender Broun Minipimer 400 Watt. Ekstrakt sączono, oddestylowano rozpuszczalnik, po czym suchą pozostałość w kolbie rozpuszczano w 70 % roztworze gliceryny, w ilości odpowiednio 50 ml w przypadku wyłoków truskawkowych i 25 ml w przypadku odtłuszczonych nasion truskawek, a następnie poddawano hydrolizie.

Metoda 5. – wg Vekari i wsp. [27]; 0,5 g rozdrobnionego materiału zalewano 30 ml 100 % metanolu, pozostawiano na 30 min w temp. 22 ± 2 °C, a następnie umieszczano w myjce ultradźwiękowej na 20 min. Ekstrakt sączono, oddestylowano rozpuszczalnik, po czym suchą pozostałość w kolbie rozpuszczano w 2 ml 70 % wodnego roztworu gliceryny i poddawano hydrolizie.

Każdą z ekstrakcji wykonywano w dwóch powtórzeniach z każdej próbki badanego materiału.

Warunki hydrolizy KE związanego w postaci estrów i glikozydów

Hydrolizę ET i glikozydów prowadzono w 70 % wodnym roztworze glicerolu zawierającym TFA w stężeniu odpowiednio 0,5, 1, 2, 3, 4 mol/l. W tym celu w próbówce z PET o poj. 2 ml umieszczano po 0,5 ml 70 % ekstraktu glicerynowego otrzymywanego według najkorzystniejszej z wyżej opisanych metod ekstrakcji i odpowiednio 18, 37,5, 75, 112,5, 150 μ l stężonego TFA. Następnie składniki dokładnie mieszano w vortexie i utrzymywano w temp. 95 ± 1 °C, w ciągu od 1 do 24 h, w odstępach czasu 1, 2, 4, 6, 8 h w celu ustalenia czasu niezbędnego do osiągnięcia całkowitej hydrolizy. Po zakończeniu hydrolizy próbki przenoszono ilościowo do kolby miarowej o poj. 5 ml i uzupełniano metanolem do kreski, uzyskując roztwór podstawowy zhydrolizowanych ET.

Oznaczanie zawartości wolnego i całkowitego KE oraz ET w odpadach z przerobu owoców truskawek

Zawartość wolnego KE oznaczano metodą HPLC z roztworów uzyskanych po oddestylowaniu rozpuszczalnika z ekstraktów i rozpuszczeniu suchej pozostałości w 2 ml wodnego 70 % roztworu glicerolu. Po 0,5 ml powyższego roztworu umieszczano w kolbie o poj. 5 ml, uzupełniano metanolem do kreski, po czym, po przefiltrowaniu przez filtr o porach 0,45 μ m, poddawano analizie w układzie HPLC.

Zawartość całkowitego KE oznaczano metodą HPLC z roztworów po hydrolizie wykonanej w temp. 95 ± 1 °C, w ciągu 6 h, w 70 % wodnym roztworze glicerolu, zawierającym 2 mol/l TFA. Do analizy pobierano 1 ml roztworu podstawowego zhydrolizowanych ET, rozcieńczano dwu - pięciokrotnie metanolem i po przefiltrowaniu przez filtr o porach 0,45 μ m poddawano analizie HPLC. Zawartość uwolnionego KE, w mg/100 g materiału, wyliczano z różnicy oznaczonych zawartości całkowitego i wolnego KE. ET, w % (m/m), obliczano na podstawie ilości uwolnionego KE i mnożnik 1,55, który uwzględnia udział masowy KE w β -1-O-galloilo-2,3:4,6-bis-HHDP-D-glukozie, która jest monomeryczną jednostką ET.

Układ chromatograficzny do oznaczania zawartości KE w badanym materiale

Stosowano układ chromatograficzny (chromatograf firmy Dionex) z detektorem diodowym UV-DAD 340U. Rozdział prowadzono w kolumnie Kinetex 2,6 μ C18 100A, 100 x 2.10 mm, Phenomenex. Kolumnę termostatowano w temp. 35 °C. Faza A – 0,25 % kwas mrówkowy w wodzie, faza B – 85 % acetonitryl w metanolu. Przepływ fazy ruchomej: 0,3 ml/min. Rozdział w układzie gradientowym: stabilizacja przez 5 min z 6 % fazy B; 0 - 3 min 6 % fazy B; 3 - 20 min 6 - 20 % fazy B; 20 - 31,5 min 20 - 50 % fazy B; 31,5 - 33 min 50 - 70 % fazy B; 33 - 38 min 70 % fazy B; 38 - 45 min 70 - 6 % fazy B. Objętość nastrzyku 5 μ l. Warunki detekcji: 360 nm. Dane rejestrowano za pomocą programu do rejestracji i obróbki danych chromatograficznych.

Zweryfikowana została stabilność KE w zaproponowanych warunkach hydrolizy. Próbki wzorca KE (Extrasynthese, France) o znanym stężeniu poddawano hydrolizie. Na tej podstawie obliczano procentowy odzysk KE w stosunku do jego wyjściowej zawartości. Nie zaobserwowano strat zawartości KE poddanego działaniu TFA w zaproponowanych warunkach hydrolizy, w stosunku do jego ilości przed hydrolizą.

Wykonano elementy walidacji opracowanej metody oznaczania KE i jego pochodnych w odpadach z przerobu truskawek, z uwzględnieniem najkorzystniejszych metod ekstrakcji ET z wyłoków truskawkowych, na podstawie czterech powtórzeń. Każda z prób poddawana była hydrolizie. Obliczano wartość średnią uwolnionego KE, odchylenie standardowe, a na tej podstawie określano współczynnik zmienności, który w przypadku KE uwolnionego z wyłoków truskawkowych, rozdrobnionych po wysuszeniu do cząstek o średnicy 1-2 mm, wyniósł 11 %.

Wyniki badań poddano jednoczynnikowej analizie wariancji przy użyciu programu statystycznego Anova.

Wyniki i dyskusja

W pierwszym etapie badań porównano skuteczność ekstrakcji związanych form KE, występujących w dwóch typowych, naturalnych matrycach, zróżnicowanych składem chemicznym i strukturą, a mianowicie: wysuszonych wyłokach truskawkowych, z których usunięto nasiona oraz w śrucie z nasion truskawek odtłuszczonych ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym. Do ekstrakcji zastosowano metanol, wodne roztwory etanolu i acetonu użyte w ilościach, stężeniach i postępowaniach analitycznych stosowanych przez innych autorów do wyodrębniania polifenoli i/lub ET z owoców truskawek [23, 24, 27], nasion truskawek [1] lub wyłoków innych owoców [11]. W tab. 1. przedstawiono ilość KE uwolnionego z estrów i glikozydów zawartych w poszczególnych ekstraktach i przeliczoną na 100 g badanego materiału, świadcząca o skuteczności wybranych metod ekstrakcji ET. Hydrolizę wykonano w jednakowy sposób opisany w metodyce. Zawartość KE uwolnionego w wyłokach wahała się w granicach 112 - 1170 mg/100 g, a w odtłuszczonych nasionach od 104 do 430 mg/100 g. Z danych w tab. 1. wynika tendencja wyższej precyzji oznaczeń KE w odtłuszczonych nasionach niż w wyłokach, co można przypisać mniej korzystnym warunkom wydobywania ET z rozdrobnionych cząstek miąższu i szypulek. Skutecznym sposobem izolowania ET z badanego materiału było zastosowanie wielokrotnej i wspomaganej ultradźwiękami, sukcesywnej ekstrakcji 70 % wodnym roztworem acetonu w temp. 22 ± 2 °C. Wyniki oznaczenia przy użyciu trój- i sześciostopniowej ekstrakcji nie różniły się statystycznie, jednak sześciostopniowa ekstrakcja zapewniła lepszą powtarzalność wyników. Ekstrakcja momentalna 70 % wodnym roztworem acetonu, w ciągu 1 min, z użyciem blendera, jest prostą oraz szybką metodą analityczną stosowaną do ekstrakcji polifenoli z owoców truskawek [29]. Metoda ta nie nada-

wała się jednak do ekstrakcji wielkocząsteczkowych pochodnych KE z wycieków i odtłuszczonych nasion. Wydajność tej metody ekstrakcji wyniosła bowiem odpowiednio 37 % oraz 74 % wydajności uzyskanej w przypadku sześciokrotnej ekstrakcji tym samym rozpuszczalnikiem. Powyższe dane zgodne są z wynikami badań Silva Pinto [23], która zaleca stosowanie 80 % acetonu jako efektywnego ekstrahenta tanin hydrolizujących z owoców truskawek. Według badań Okudy i wsp. [17] taniny hydrolizujące w warunkach ekstrakcji prowadzonej w temperaturze pokojowej z dostępem powietrza są trwałe, podczas gdy taniny skondensowane w tych samych warunkach ulegają utlenianiu.

Tabela 1

Zawartość uwolnionego kwasu elagowego w wyciekach truskawkowych o średnicy cząstek 2-5 mm oraz w odtłuszczonych nasionach truskawek, uzyskana w wyniku ekstrakcji różnymi metodami i rozpuszczalnikami oraz hydrolizy kwasem trifluorooctowym.

Content of released ellagic acid in strawberry pomace with particles of a 2 to 5 mm diameter and defatted strawberry achenes obtained as a result of extraction using different methods and solvents, and of subsequent hydrolysis with trifluoroacetic acid.

Rodzaj ekstrakcji Extraction methods	Kwas elagowy uwolniony Released ellagic acid		Zawartość uwolnionego kwasu elagowego w stosunku do metody 2 Content of released ellagic acid in comparison with method 2	
	[mg/100 g]		[%]	
	Wytłoki truskawkowe Ø 2-5 mm Strawberry pomace Ø 2-5 mm	Odtłuszczone nasiona truskawek Defatted strawberry achenes	Wytłoki truskawkowe Ø 2-5 mm Strawberry pomace Ø 2-5 mm	Odtłuszczone nasiona truskawek Defatted strawberry achenes
Metoda 1 Method 1	784 ± 19 c	307 ± 1 b	67 ± 7	73 ± 1
Metoda 2 Method 2	1170 ± 95 d	421 ± 4 c	100	100
Metoda 3 Method 3	1079 ± 151 d	431 ± 45 c	93 ± 20	102 ± 10
Metoda 4 Method 4	430 ± 6 b	310 ± 81 b	37 ± 4	74 ± 20
Metoda 5 Method 5	112 ± 3 a	104 ± 5 a	10 ± 1	25 ± 1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

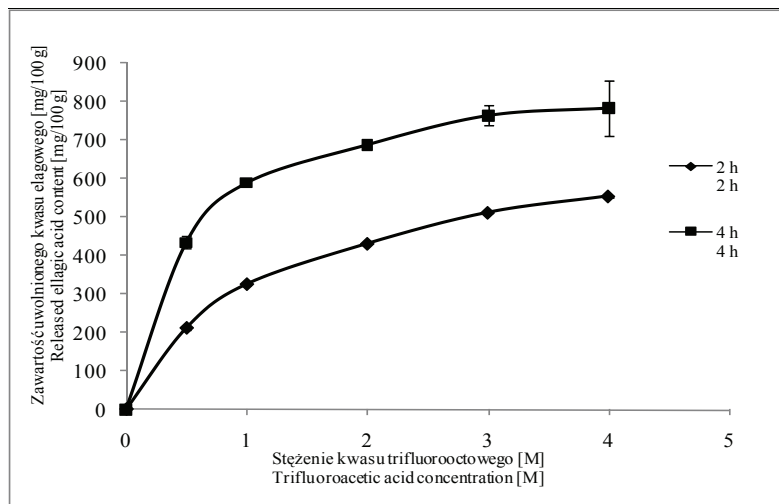
a, b, c – wartości w kolumnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$,

a, b, c – values in one column denoted by the same letters do not statistically significantly differ at $\alpha = 0.05$.

Wyniki przedstawione w tab. 1. wskazują na nieprzydatność metanolu i wodnych roztworów etanolu do ekstrakcji wielkocząsteczkowych pochodnych KE z wycieków i odtłuszczonych nasion truskawek. Wydajność jednokrotnej ekstrakcji ET metanolem, wspomaganej ultradźwiękami, w temperaturze pokojowej, w ciągu 30 min, była, w stosunku do trójstopniowej ekstrakcji acetonem, wielokrotnie niższa, tj. odpowiednio dziesięciokrotnie w przypadku wycieków i czterokrotnie w przypadku odtłuszczonych nasion. Mueller-Harvey [15] podkreśla, że metanol znajduje zastosowanie do izolowania tanin o niskiej masie cząsteczkowej, a do ekstrakcji wysokocząsteczkowych pochodnych KE zaleca stosowanie acetonu, z uwagi na mniejszą niż metanol czy woda podatność na reakcje z cząsteczkami tanin hydrolizujących. Taniny o dużej masie cząsteczkowej oraz związki o budowie oligomerycznej mogą być łatwo degradowane do związków o mniejszej masie cząsteczkowej nawet przez takie rozpuszczalniki, jak woda czy roztwory rozcieńczonych kwasów, szczególnie w podwyższonej temperaturze. Zastosowanie jako ekstrahenta wody w temp. 100 °C może powodować uwalnianie KE z ET [15].

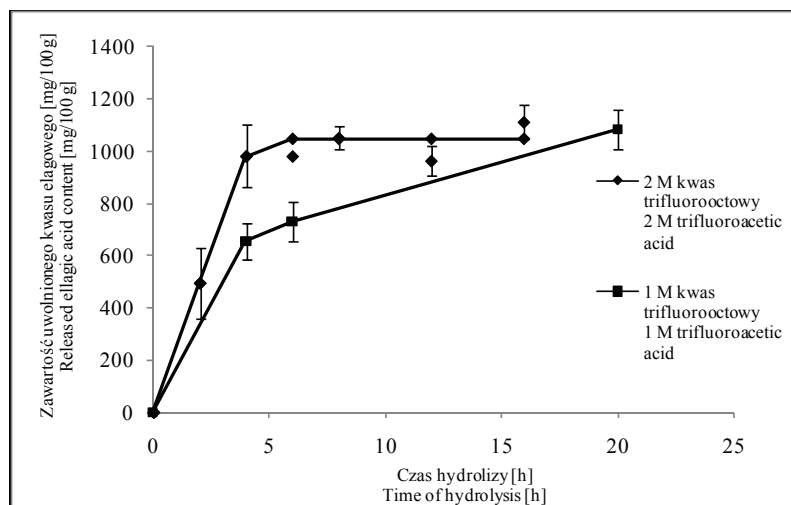
Z uwagi na dwukrotnie większe zużycie rozpuszczalnika, wydłużenie czasu analizy oraz nieznaczny przyrost skuteczności stosowanie sześciokrotnej ekstrakcji acetonowej, w odniesieniu do trzykrotnej, nie jest analitycznie uzasadnione. W dalszym postępowaniu analitycznym do izolowania ET z badanego materiału stosowano trzykrotną ekstrakcję 70 % wodnym roztworem acetonu.

W następnym etapie doświadczeń badano przebieg hydrolizy ET wyekstrahowanych w najkorzystniejszych warunkach z wycieków i ogrzewanych w temp. 95 ± 1 °C, przez 2 i 4 h, w 70 % wodnym roztworze glicerolu, zawierającym TFA w stężeniu odpowiednio: 0,5; 1; 2; 3; 4 mol/l (rys. 1.) oraz zależność stopnia hydrolizy ET od czasu, pod wpływem TFA o stężeniu 1 i 2 mol/l w 70 % glicerolu (rys. 2.). Z przebiegu zależności przedstawionych na rys. 1. wynika, że w zakresie stężeń 1 - 3 mol/l TFA użytego do hydrolizy, w wodnym 70 % glicerolu, występowała prostoliniowa zależność stężenia uwolnionego KE z ET i każde z tych stężeń czynnika hydrolizującego może być brane pod uwagę przy wyznaczaniu czasu niezbędnego do całkowitej hydrolizy. Ze względów praktycznych zasadne jest stosowanie stężenia 2 mol/l, które zapewnia należytą powtarzalność wyników.



Rys. 1. Wpływ stężenia kwasu trifluorooctowego na ilość uwolnionego kwasu elagowego w ciągu 2 i 4 h hydrolizy.

Fig. 1. Effect of trifluoroacetic acid concentration on content of released ellagic acid during 2 and 4 h lasting hydrolysis.



Rys. 2. Wpływ czasu hydrolizy w 1 M i 2 M roztworze kwasu trifluorooctowego na ilość uwolnionego kwasu elagowego.

Fig. 2. Effect of hydrolysis time in 1 M and 2 M trifluoroacetic acid solution on content of released ellagic acid.

Przebieg wykresów na rys. 2. wskazuje, że całkowita hydroliza ET wyekstrahowanych z wytlóków truskawkowych w 70 % wodnym roztworze glicerolu, zawierającym TFA w stężeniu 1 mol/l, w temp. 95 ± 1 °C, następowała po około 20 h lub po 5 -

6 h, gdy hydroliza przebiegała w analogicznych warunkach w środowisku zawierającym TFA w stężeniu 2 mol/l. W roztworze o wyższym stężeniu TFA przebieg procesu był prostoliniowy do osiągnięcia około 90 % stopnia hydrolizy, zaś w stężeniu TFA 1 mol/l występowały dwie różne szybkości hydrolizy i cały proces przebiegał znacznie dłużej. Korzystny wpływ wyższego stężenia TFA w roztworach glicerolu może wynikać z ograniczenia ubytku TFA w procesach odparowania z parą wodną oraz zwiększenia rozpuszczalności KE jako produktu reakcji w mieszaninie glicerolu i TFA.

W procesie hydrolizy nie ma potrzeby stosowania specjalnych ampulek lub chłodnic zwrotnych, a ilość analitu jest dostosowana do potrzeb i wymagań efektywnej i bezpiecznej analizy chromatograficznej. Mieszanina po reakcji hydrolizy, po odpowiednim rozcieńczeniu metanolem i rutynowej filtracji, była stosowana do nastrzyku do układu chromatograficznego. Dotychczas brak jest danych w dostępnej literaturze o stosowaniu glicerolu jako rozpuszczalnika do hydrolizy estrów i glikozydów KE pod wpływem TFA. W literaturze znane są natomiast liczne opisy przebiegu hydrolizy ET z kwasem solnym [9, 23, 28, 29] lub TFA [7, 23, 24] w szerokim zakresie stężeń (od 1,2 do 4 M) i temperatury (85 - 120 °C) w ciągu 1 - 20 h. Zastosowanie do hydrolizy kwasu solnego wymaga jego neutralizacji (doprowadzenie do pH 2,5 wodorotlenkiem sodu) przed poddaniem próbki analizie HPLC [28, 29]. Takie postępowanie jest czasochłonne, a nadto skraca żywotność typowych kolumn chromatograficznych. Zastosowanie TFA, który często jest składnikiem faz ruchomych, nie wymaga dodatkowego oczyszczania, a jego obecność zwiększa rozpuszczalność KE w mieszaninie z glicerolem. Opracowany sposób hydrolizy ET wyodrębnionych z wyłoków truskawkowych jest możliwy do zastosowania w przeciętnie wyposażonym laboratorium chromatograficznym.

Współczynnik zmienności w przypadku KE uwolnionego z wyłoków truskawkowych, rozdrobionych po wysuszeniu do cząstek o średnicy 1 - 2 mm, wyniósł 11 %. Wynik ten można uznać za zadowalający, biorąc pod uwagę niejednorodność rozpatrywanego materiału, spowodowaną dużą zmiennością udziału nasion i miąższu. Hakkinen [9], dla zaproponowanej przez siebie metody hydrolizy, uzyskał współczynnik zmienności na poziomie 5,3 % w przypadku owoców truskawek oraz 6,0 % w przypadku malin. Procentowy odzysk wzorca KE w zaproponowanych warunkach hydrolizy, w stosunku do jego wyjściowej zawartości, wyniósł 99 %. Silva Pinto [23], stosując do hydrolizy 2 M TFA, uzyskała odzysk KE również na poziomie 99 %. Według Mangels [14] odzysk na poziomie 80 % jest akceptowalny.

Wyznaczone korzystne warunki ekstrakcji KE i jego pochodnych z wyłoków truskawkowych oraz opracowany sposób hydrolizy ET kwasem TFA w roztworze glicerolu zastosowano do oznaczenia tych substancji w typowych, ubocznych produktach przemysłowego przerobu truskawek. Za pomocą techniki HPLC oznaczono w ekstraktach wolny KE, a w roztworach po hydrolizie sumę kwasu wolnego i uwolnionego. Na

podstawie wyników analiz obliczono zawartość ET w sposób opisany w metodyce. Wyniki analiz przedstawiono w tab. 2. Zawartość wolnego KE w badanych, wysuszonych wyłokach pozbawionych nasion wyniosła 90 - 100 mg/100 g. Zawartość KE w wysuszonych odpadach z przecieraczek wahała się w granicach 31 - 151 mg/100 g i była istotnie różna w zależności od granulacji, a zwłaszcza składu morfologicznego.

Tabela 2

Zawartość wolnego i uwolnionego kwasu elagowego oraz stosunek kwasu elagowego wolnego do całkowitego w przemysłowych odpadach z przetwórstwa truskawek.

Content of free and released ellagic acid, as well as ratio of free ellagic acid to total ellagic acid in industrial by-products from strawberry processing.

Materiał Material	Kwas elagowy wolny Free ellagic acid	Kwas elagowy uwolniony Released ellagic acid	Elagotaniny w przeliczeniu na galloilo-HHDP-glukozę Ellagitannins expressed as galloyl-HHDP-glucose	Kwas elagowy wolny/kwas elagowy całkowity Free ellagic acid/ released ellagic acid
	[mg/100 g]			[%]
Wyłoki truskawkowe Ø 2-5 mm Strawberry pomace Ø 2-5 mm	90 ± 1 b	971 ± 99 c	1505 ± 154 c	8 ± 1 a
Wyłoki truskawkowe frakcja beznasienna Ø 1-2 mm Strawberry pomace, seedless fraction, Ø 1-2mm	100 ± 1 b	859 ± 81 b, c	1332 ± 126 b, c	10 ± 1 a
Osady z przecieraczek Ø > 1,2 mm Rubbing machine pomace, Ø > 1,2 mm	151 ± 8 c	683 ± 18 b	1059 ± 28 b	18 ± 1 b
Osady z przecieraczek Ø 0,6-1,2 mm Rubbing machine pomace, Ø 0,6-1,2 mm	31 ± 1 a	328 ± 9a	509 ± 14 a	8 ± 1 a

Objaśnienie jak pod tab. 1. / Explanatory note as in Tab. 1.

Odpady o granulacji 0,6 - 1,2 mm zawierały głównie nasiona, które były uboższe w ET niż beznasienna część wyłoków (tab. 1). Zawartość KE związanego w postaci estrów i glikozydów w badanych materiałach wyniosła od blisko 330 mg/100 g w odpadach z przecieraczek o granulacji 0,6 - 1,2 mm do 971 mg/100 g w wysuszonych wyłokach pozbawionych nasion i różniła się istotnie w każdej z grup tych sortymentów. Udział wolnego KE w sumie wolnego i uwolnionego wyniósł od 8 do 18 % i różnił się istotnie tylko w przypadku odpadów z przecieraczek o granulacji powyżej 1,2 mm. Według wyników badań Silva Pinto [24], procentowy udział wolnego KE w całkowitej ilości kwasu po hydrolizie wynosi od 3 do 8 % w owocach truskawek i od 1,2 do 10 % w dżemach truskawkowych. W zależności od materiału obserwowano od pięcio- do dziesięciokrotny wzrost ilości KE uwolnionego w wyniku hydrolizy wiązań estrowych w cząsteczkach ET. Jest to zgodne z wynikami badań Silva Pinto i wsp. [24], którzy w dżemach truskawkowych, po wykonaniu hydrolizy kwasowej, uzyskali ośmio- do czternastokrotny wzrost ilości KE w stosunku do materiału przed hydrolizą. Obliczony udział ET w wysuszonych materiałach, w przeliczeniu na β -galliolo-HHDP-D-glukozę, wyniósł 0,5 - 1,5 %. Wyłoki truskawkowe pozbawione nasion mogą być brane pod uwagę jako potencjalnie dobre źródło ET i KE. Godne uwagi jest również rozpatrzenie wykorzystania nasion także z tego samego względu.

Wnioski

1. Wielokrotna i wspomagana ultradźwiękami, sukcesywna ekstrakcja wodnym 70 % roztworem acetonu w temp. 22 ± 2 °C, umożliwiła ilościowe wyodrębnienie KE wolnego i związanego z wysuszonych wyłoków i odtłuszczonych nasion truskawek.
2. Związane formy KE, wyodrębnione z wysuszonych odpadów przerobu truskawek na soki i przeciery, uległy całkowitej hydrolizie podczas 6-godzinnego ogrzewania w temp. 95 ± 1 °C, w 70 % wodnych roztworach glicerolu, zawierających TFA w stężeniu 2 mol/l.
3. Wysuszone wyłoki truskawkowe pozbawione nasion i wysuszone osady z przecierania zawierały od 0,5 do 1,5 % ET i mogą być brane pod uwagę jako potencjalnie dobre źródło ET i KE, których właściwości prozdrowotne są już znane.

Literatura

- [1] Aaby K., Skrede G., Wrolstad R.E.: Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananasa*). J. Agric. Food Chem., 2005, **53**, 4032-4040.
- [2] Bala I., Bhardwaj V., Hariharan S., Ravi Kumar M.N.V.: Analytical methods for assay of ellagic acid and its solubility studies. J. Pharm. Biomed. Anal., 2006, **40**, 206-210.
- [3] Bushman B.S., Phillips B., Isbell T., Ou B., Crane J.M., Knapp S.J.: Chemical composition of cranberry (*Rubus* spp.) seed and oils and their antioxidant potential. J. Agric. Food Chem., 2004, **52**, 7982-7987.

- [4] Carpita N.C.: Hemicellulosic polymers of cell-walls of *Zea coleoptiles*. Plant Physiology, 1983, **72**, 515-512.
- [5] Cerda B., Thomas-Barberan F.A., Espin J.C.: Metabolism of antioxidant and chemopreventive ellagitannins from strawberries, raspberries, walnuts and oak-aged wine in humans: identification of biomarkers and individual variability. J. Agric. Food Chem., 2005, **53**, 227-235.
- [6] Daniel E.M., Krupnick A.S., Heur Y.H., Blinzler J.A., Nims R.W., Stoner G.D.: Extraction, stability and quantitation of ellagic acid in various fruits and nuts. J. Food Compos. Anal., 1989, **2**, 338-349.
- [7] Godevac D., Tesevic V., Vajs V., Milosavljevic S., Stankovic M.: Antioxidant properties of raspberry seed extracts on micronucleus distribution in peripheral blood lymphocytes. Food Chem. Toxicol., 2009, **47**, 2853-2859.
- [8] Grundhofer P., Niemetz R., Schilling G., Gross G.G.: Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolysable tannins. Phytochemistry, 2001, **57**, 915-927.
- [9] Hakkinen S.H., Karenlampi S.O., Mykkanen H.M., Heinonen I.M., Torronen A.R.: Ellagic acid content in berries: Influence of domestic processing and storage. Eur. Food. Res. Technol., 2000, **212**, 75-80.
- [10] Kalisz S., Marszałek K., Mitek M.: Badania nad wpływem dodatku preparatów pektyn wysoko metylowanych na parametry jakościowe nektarów truskawkowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2009, **6 (67)**, 129-139.
- [11] Kołodziejczyk K., Markowski J., Kosmala M., Król B., Płocharski W.: Apple pomace as a potential source of nutraceutical products. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2007, **57**, 291-295.
- [12] Lee J.H., Talcott S.T.: Fruit maturity and juice extraction influences ellagic acid derivatives and other antioxidant polyphenolics in muscadine grapes. J. Agric. Food Chem., 2004, **52**, 361-366.
- [13] Maas J.L., Wang S.Y., Galletta G.J.: Evaluation of strawberry cultivars for ellagic acid content. HortScience, 1991, **26**, 66-68.
- [14] Mangels A.R., Holden J.M., Beecher G.R., Forman M.R., Lanza E.: Carotenoid content of fruit and vegetables: An evaluation of analytic data. J. Am. Diet. Assoc., 1993, **93**, 256-384.
- [15] Mueller-Harvey I.: Analysis of hydrolysable tannins. Anim. Feed Sci. Technol., 2001, **9**, 3-20.
- [16] Nawirska A., Sokół-Lętowska A., Kucharska A.Z.: Właściwości przeciwutleniające wyłoków z wybranych owoców kolorowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **4 (53)**, 120-125.
- [17] Okuda T., Yoshida T., Hatano T.: New methods of analyzing tannins. J. Nat. Prod., 1989, **52**, 1-31.
- [18] Oszmiański J., Wojdyło A., Matuszewski P.: Zmiany zawartości związków fenolowych podczas produkcji zagęszczonego soku truskawkowego w warunkach przemysłowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **(1) 50**, 94-104.
- [19] Oszmiański J., Wojdyło A.: Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear and cloudy juices. Eur. Food Res. Technol., 2009, **228**, 623-631.
- [20] Rocznik Statystyczny, Warszawa 2007, poz. 468.
- [21] Rój E., Dobrzyńska-Inger A., Kostrzewa D., Kołodziejczyk K., Sójka M., Król B., Miszczak A., Markowski J.: Otrzymywanie ekstraktów olejowych z nasion owoców jagodowych z wykorzystaniem CO₂ w warunkach nadkrytycznych. Przem. Chem., 2009, **88/12**, 1325-1330.
- [22] Seeram N.P., Lee R., Scheller S., Heber D.: Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. Food Chem., 2006, **97**, 1-11.
- [23] Silva Pinto M., Lajolo F.M., Genovese M.I.: Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananasa* Duch). Food Chem., 2008, **107**, 1629-1635.
- [24] Silva Pinto M., Lajolo F.M., Genovese M.I.: Bioactive compounds and antioxidant capacity of strawberry jams. Plant Food Hum. Nutr., 2007, **62**, 127-131.
- [25] Tarko T., Sobusiak J., Duda-Chodak A.: Sposoby wykorzystania odpadów przemysłu owocowo-warzywnego. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2009, **3**, 32-34.

- [26] Wilson T.C., Hegerman A.E.: Quantitative determination of ellagic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 1990, **38**, 1678-1683.
- [27] Vekiari S.A., Gordon M.H., Garcia-Macias P., Labrinea H.: Extraction and determination of ellagic acid content in chestnut bark and fruit. *Food Chem.*, 2008, **110**, 1007-1011.
- [28] Vrhovsek U., Palchetti A., Reniero F., Guillou C., Masuero D., Mattivi F.: Concentration and mean degree of polymerization of *Rubus* ellagitannins evaluated by optimized acid methanolysis. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 4469-4475.
- [29] Vrhovsek U., Giongo L., Mattivi F., Viola R.: A survey of ellagitannin content in raspberry and blackberry cultivars grown in Trentino (Italy). *Eur. Food. Res. Technol.*, 2008, **226**, 817-824.

MACRO- AND MICROELEMENTS IN DETERMINATION OF DIFFERENT FORMS OF ELLAGIC ACID IN BY-PRODUCTS FROM STRAWBERRY PROCESSING

S u m m a r y

The objective of the research was to select a solvent and the conditions for extracting ellagitannins (ET) from dried by-products from strawberry processing, as well as to develop a method for hydrolyzing ellagic acid (EA) esters in glycerol solutions of trifluoroacetic acid (TFA). Another equal objective was to determine the free and bond EA in some selected by-products from strawberry processing. The results obtained constituted a basis for the calculation of the ET content in the analyzed plant materials.

It was evidenced that a 70 % aqueous acetone solution, applied at a room temperature (22 ± 2 °C) to at least three-step extraction, made it possible to satisfactorily isolate EA and ET from dried strawberry pomace and from post-extraction strawberry achenes defatted under a supercritical CO₂ extraction process. It was proved that ET, if maintained at a temperature of 95 ± 1 °C in a 70 % aqueous glycerol containing 2 M TFA for at least 6 hours, were completely hydrolyzed and the release of free EA occurred. The chromatograms were recorded of extract components before and after the hydrolysis using a HPLC method; this made it possible to determine the content of free and released EA in the selected strawberry by-products and to calculate a percent content of ET therein. It was found that, in the dried industrial seedless strawberry pomace, the content of free EA was below 100 mg/100 g and the content of released EA was about 900 mg/100 g, whereas the percent content of ET was 1.4 % m/m. In the dried industrial residues obtained from a rubbing machine, the content of free EA, released EA, and ET ranged from 30 to 150 mg/100 g, 300 to 600 mg/100 g, and 0.5 to 1.1 %, respectively.

Key words: strawberries, strawberry pomace, ellagic acid, ellagitannins, extraction, hydrolysis ☒

ALICJA Z. KUCHARSKA, KATARZYNA KOWALCZYK, AGNIESZKA
NAWIRSKA-OLSZAŃSKA, ANNA SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA

WPLYW DODATKU ARONII, TRUSKAWEK I MALIN NA SKŁAD FIZYKOCHEMICZNY PRZECIERU DERENIOWEGO

Streszczenie

W pracy porównano właściwości fizykochemiczne, antyoksydacyjne i organoleptyczne przecierów dereniowych bez i z dodatkiem przecieru z aronii, truskawek i malin.

Przecier dereniowy charakteryzował się wysoką kwasowością (2,89 %) oraz dużą zawartością pektyn (2,12 %). Jego średnia lepkość wynosiła 31,63 Pa·s. Zawierał on 365 mg/100 g polifenoli, 48 mg/100 g antocyjanów i 21 mg/100 g witaminy C, a jego aktywność przeciwutleniająca wobec DPPH wynosiła 27 μ M Troloxu/g. Wszystkie dodane owoce spowodowały obniżenie: kwasowości, zawartości pektyn oraz lepkości przecierów. Zawartość suchej masy, ekstraktu i antocyjanów w przecierze z dodatkiem truskawek i malin zmniejszyła się w stosunku do przecieru dereniowego, natomiast w przecierze z dodatkiem aronii – zwiększyła się. Przecier aroniowy dodany w ilości 20 % wzbogacił przecier dereniowy w aktywne związki. W mieszanym przecierze stwierdzono zwiększenie: ponad 2,5-krotne zawartości antocyjanów, 2-krotne polifenoli i 1,8-krotnie aktywności wobec DPPH. Równocześnie nastąpiło zmniejszenie zawartości witaminy C. Dodatek aronii spowodował istotne pociemnienie przecierów w porównaniu z próbką kontrolną, natomiast dodatek malin i truskawek nie zmienił znacząco jasności (L^*) badanych przecierów. W ocenie organoleptycznej, pod względem barwy, najwyżej oceniony został przecier dereniowy z dodatkiem aronii, natomiast pod względem smakowitości i konsystencji – przecier z dodatkiem truskawek.

Słowa kluczowe: dereń właściwy, przecieri owocowe, aktywność przeciwutleniająca, antocyjany, polifenole ogółem, lepkość

Wprowadzenie

Owoce derenia właściwego mogą być wykorzystywane do wyrobu soków, dżemów, kompotów, nalewek, a także przecierów, stanowiących półprodukt do otrzymywania m.in. nektarów, soków przecierowych, odżywek dla dzieci, musów i innych delikatnych przetworów. Charakteryzują się one atrakcyjną barwą i są cennym źródłem

Dr inż. A.Z. Kucharska, mgr inż. K. Kowalczyk, dr inż. A. Nawirska-Olszańska, dr inż. A. Sokół-Łętowska, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław

tych związków, jak polifenole czy witamina C [11, 23, 27]. Zawierają jednak dużą ilość kwasów, których stężenie w niektórych odmianach może dochodzić nawet do 3 - 4 % [3, 13]. Dlatego łączenie derenia z innymi owocami wydaje się uzasadnione. Dodatek owoców o niższej kwasowości oraz atrakcyjnym smaku i bogatych w związki biologicznie czynne może poprawić walory smakowe i dodatkowo zwiększyć właściwości przeciwutleniające produktów dereniowych.

W niniejszej pracy jako dodatek do przecierów dereniowych wykorzystano owoce truskawek, malin i aronii. Wymienione gatunki owoców charakteryzują się dużą zawartością związków biologicznie czynnych [5, 10] oraz niższą niż dereń kwasowością [4, 7, 21]. Ponadto truskawki i maliny odznaczają się atrakcyjnym aromatem i popularnością wśród konsumentów, natomiast aronia – intensywną i stabilną barwą.

Celem pracy było porównanie właściwości fizykochemicznych i antyoksydacyjnych przecierów dereniowych bez i z dodatkiem przecieru z aronii, truskawek i malin.

Material i metody badań

Do badań wykorzystano owoce derenia właściwego (*Cornus mas* L.) odmiany Słowianin, pochodzące z kolekcji Arboretum i Zakładu Fizjografii w Bolestraszcach oraz owoce aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa*), truskawki (*Fragaria sp.*) odmiany Elsanta i maliny (*Rubus idaeus*) odmiany Glen Ample zakupione w handlu detalicznym. Owoce do badań przechowywano w zamrażarce w temp. ok. -20 °C.

Material badawczy stanowiły przeciery wykonane w Zakładzie Technologii Owoców i Warzyw Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu we wrześniu 2008 roku.

Owoce rozdrabniano i rozparzano w temp. 80 °C przez 5 min w urządzeniu Thermomix TM-31. Po ochłodzeniu, z miazgi dereniowej usuwano pestki i sporządzano przeciery z dodatkiem 10 i 20 % przecierów z aronii (A), truskawek (T) i malin (M). Przecier dereniowy bez dodatku przecierów z innych owoców stanowił próbkę kontrolną (100 % D). Otrzymane przeciery pasteryzowano w temperaturze 90 °C przez 2 min i rozlewano na gorąco do słoików. W przecierach przed i po 6 miesiącach przechowywania w temp. 4 °C oznaczano: suchą masę [15], ekstrakt [14], pH, kwasowość ogólną [16], zawartość pektyn metodą Morrisa [12]. W próbkach oznaczano także zawartość witaminy C, jako kwas L-askorbinowy, według Polskiej Normy [17] po usunięciu antocyjanów w minikolumnach Sep-Pak C18. Polifenole ogółem oznaczano w przeliczeniu na kwas galusowy (GAE) z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a [1], natomiast monomery antocyjanów – według Giusti i Wrolstad [2] z odczytem absorbancji przy pH 1,0 i 4,5 oraz $\lambda = 510$ i 700 nm. Zawartość czerwonych barwników była przeliczona na cyjanidyno-3-glukozyd ($\epsilon=26900$ L/Mol x cm, $M=449,2$ g/Mol). Właściwości przeciwutleniające określano jako efektywność wygaszania stabilnych rodniki-

ków DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) [26]. Oznaczenie lepkości wykonywano za pomocą lepkościomierza Brookfield Dv-II+Pro (wrzeczono numer 64, obroty 10, czas 30 s). Wynik odczytywano w Pa·s.

Pomiaru barwy dokonywano przy użyciu kolorymetru Color Quest XE firmy HunterLab w systemie klasyfikacji barw CIE $L^*a^*b^*$. Barwę oznaczano przy użyciu iluminantu D_{65} dla obserwatora 10° . Przeciery umieszczano w kuwetach o grubości 2 cm. Pomiaru dokonywano w świetle odbitym.

Ocenę organoleptyczną przecierów (przed przechowywaniem) przeprowadzono metodą skali punktowej. Przeciery oceniano pod względem barwy, zapachu, smaku i konsystencji. W skali od 1 do 5, wartość 1 oznaczała ocenę bardzo niepożądaną, a wartość 5 – bardzo pożądaną. Z poszczególnych ocen wyliczono wartości średnie i odchylenia standardowe.

Wszystkie analizy fizykochemiczne wykonano w trzech powtórzeniach i podano w przeliczeniu na świeżą masę przecierów. Wyniki opracowano statystycznie testem Duncana na poziomie $P \leq 0,05$ przy użyciu programu Statistica 8.1.

Wyniki i dyskusja

Podstawowy skład chemiczny oraz lepkość przecierów dereniowych bez i z dodatkiem przecieru z aronii, malin i truskawek*, przed i po 6 miesiącach przechowywania w temperaturze 4°C , przedstawiono w tab. 1.

Kwasowość ogólna przecieru dereniowego (100 % D) wynosiła 2,9 % w przeliczeniu na dominujący w nich kwas jabłkowy. Jest to wysoka wartość w porównaniu z kwasowością innych owoców, ale otrzymane wyniki znajdują potwierdzenie w danych literaturowych dotyczących owoców derenia. Tural i Koca [23] oznaczyli kwasowość ogólną owoców derenia rosnących na terenie Turcji na poziomie 1,1 - 2,5 %, natomiast inni autorzy [3, 13] w różnych fenotypach derenia uzyskali wyższe wartości kwasowości, dochodzące nawet do 4,7 %. Zawartość kwasów w przecierze z derenia nie odbiegała zatem od danych literaturowych dotyczących tego gatunku. Dodatek przecieru z każdego z badanych owoców spowodował zmniejszenie kwasowości ogólnej uzyskanych produktów. Im większy był udział aronii, malin i truskawek w przecierze, tym jego kwasowość była niższa, gdyż owoce te charakteryzują się mniejszą zawartością kwasów niż dereń. Według Haffner i wsp. [4] maliny wykazują kwasowość na poziomie od 2,5 % w przypadku odmiany Glen Lyon do 1,9 % w przypadku Malting Admiral. Skupień i Oszmiański [20] oznaczyli zawartość kwasów w truskawkach odmiany Elsanta na poziomie 0,69 % i była to niska kwasowość w porównaniu z od-

* W dyskusji wyników autorki używają skrótowo pojęcia aronia, malina, truskawka na określenie przecierów z wymienionych owoców, aby uniknąć ciągłych powtórzeń tego słowa i tym samym zapewnić dobrą czytelność tekstu.

mianami Elkat (1,18 %) czy Dukat (1,26 %), analizowanymi przez wymienionych autorów. Natomiast kwasowość ogólna owoców aronii, według Loiko i wsp. [7] wynosi 1,2 - 1,6 %.

Tabela 1

Skład chemiczny i lepkość przecierów dereniowych (D) bez i z dodatkiem (10 lub 20 %) aronii (A), malin (M), truskawek (T), przed i po przechowywaniu 6 miesięcy w temperaturze 4 °C.

Chemical composition and viscosity of cornelian cherry purées (D) without and with addition (10 or 20 %) of chokeberry (A), raspberry (M), and strawberry (T) before and after 6 months of storage at 4 °C.

Rodzaj przecieru Type of purée	Sucha masa Dry matter [%]	Ekstrakt Extract [%]	Kwasowość ogólna Total acidity [%]	Pektyny Pectin [%]	Lepkość Viscosity [Pa·s]
Przed przechowywaniem / Prior to storage					
100%D	20,87 ^d ±0,16	18,73 ^{ab} ±0,12	2,89 ^a ±0,01	2,12 ^a ±0,19	31,63 ^{def} ±0,15
D+10%A	21,92 ^b ±0,10	18,80 ^{ab} ±0,10	2,65 ^d ±0,01	1,84 ^{ab} ±0,07	29,33 ^{efg} ±0,09
D+20%A	22,23 ^a ±0,06	18,73 ^{ab} ±0,06	2,47 ^f ±0,01	1,71 ^b ±0,10	27,73 ^{fgh} ±0,22
D+10%M	21,17 ^c ±0,09	17,73 ^d ±0,12	2,76 ^c ±0,00	1,82 ^{ab} ±0,48	29,41 ^{efg} ±0,40
D+20%M	20,55 ^e ±0,28	17,27 ^{ef} ±0,06	2,66 ^d ±0,01	1,81 ^{ab} ±0,18	23,56 ⁱ ±0,15
D+10%T	19,78 ^f ±0,01	17,83 ^d ±0,06	2,67 ^d ±0,00	1,80 ^b ±0,08	27,37 ^{gh} ±0,08
D+20%T	19,26 ^g ±0,11	17,13 ^f ±0,06	2,4 ^g ±0,00	1,71 ^b ±0,18	24,69 ^{hi} ±0,12
Po przechowywaniu / After storage					
100%D	20,82 ^d ±0,11	19,00 ^a ±0,27	2,86 ^b ±0,01	1,94 ^{ab} ±0,03	43,79 ^a ±2,14
D+10%A	21,22 ^c ±0,28	18,63 ^b ±0,12	2,62 ^c ±0,00	1,74 ^b ±0,03	38,63 ^b ±0,36
D+20%A	21,31 ^c ±0,01	18,87 ^{ab} ±0,40	2,47 ^f ±0,00	1,62 ^b ±0,03	33,55 ^{cd} ±1,24
D+10%M	20,39 ^e ±0,16	18,13 ^c ±0,15	2,77 ^c ±0,01	1,69 ^b ±0,04	36,87 ^{bc} ±2,79
D+20%M	19,86 ^f ±0,10	17,43 ^e ±0,15	2,67 ^d ±0,01	1,61 ^b ±0,04	31,01 ^{defg} ±1,96
D+10%T	19,76 ^f ±0,06	17,90 ^{cd} ±0,10	2,62 ^c ±0,00	1,69 ^b ±0,01	34,57 ^{cd} ±4,40
D+20%T	19,25 ^g ±0,09	17,23 ^{ef} ±0,12	2,37 ^h ±0,01	1,63 ^b ±0,06	31,97 ^{de} ±1,42

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Litery a, b, c... w kolumnach oznaczają różnice statystycznie istotne ($p < 0,05$) / Letters: a, b, c... in the columns indicate statistically significant differences ($p < 0,05$).

Podczas przechowywania kwasowość większości przecierów nieznacznie obniżyła się. Skupień i Wójcik-Stopczyńska [22], przeprowadzając badania przechowalnicze przecierów truskawkowych odmiany Elsanta w temp. – 25 °C nie zaobserwowali istotnych zmian kwasowości nawet po 12-miesięcznym zamrażalniczym przechowywaniu.

Jak wynika z danych przedstawionych w tab. 1 przecier dereniowy zawierał stosunkowo dużo związków pektynowych (2,12 %) i wykazywał wysoką lepkość (31,63 Pa·s). We wcześniejszych badaniach autorów niniejszej pracy zawartość pektyn

w owocach derenia odmiany Słowianin była zdecydowanie mniejsza i wynosiła 1,1 % w 2004 r. i 1,2 % w 2005 i 2006 r. [6]. Maghradze i wsp. [8] oznaczyli w owocach derenia od 0,98 do 1,12 % pektyn, czyli o wiele mniej niż w przecierze dereniowym badanym w niniejszej pracy. Tak znacząca różnica między uzyskanymi wynikami a danymi literaturowymi i wcześniejszymi badaniami surowca może wynikać z dużego wpływu obróbki termicznej na skład i jakość pektyn, które uwalniane są z połączeń formy protopektynowej z błonnikiem [20].

Dodatek wszystkich owoców spowodował zmniejszenie zawartości pektyn oraz lepkości przecierów. Poziom pektyn w mieszanych przecierach wynosił 1,7 - 1,8 % natomiast lepkość mieściła się w zakresie od 23,6 do 29,4 Pa·s. Aronia i maliny są owocami ubogimi w związki pektynowe. Ochoa i wsp. [9] oznaczyli ilość tych związków w malinach, w zależności od odmiany, na poziomie 0,33 g/100 g – 0,53 g/100 g. Natomiast Loiko i wsp. [7] badając owoce aronii określili stężenie pektyn w granicach od 0,2 do 0,7 %.

Zawartość suchej masy i ekstraktu w przecierze dereniowym była wysoka i wynosiła odpowiednio 20,89 i 18,73 % (tab. 1). W przecierach z dodatkiem truskawek i malin poziom suchej masy i ekstraktu istotnie obniżył się, natomiast w przecierze z dodatkiem aronii – nie zmienił się istotnie.

W wyniku przechowywania zawartość suchej masy, ekstraktu i pektyn w przecierach zmniejszyła się, a lepkość wzrosła. Na wzrost lepkości prawdopodobnie miała wpływ hydroliza pektyn w kwaśnym środowisku przecierów oraz zmiany we frakcjach błonnikowych, które mogą wykazywać zróżnicowaną lepkość. Największą różnicę lepkości stwierdzono w przecierze dereniowym, który charakteryzował się najwyższą kwasowością.

Owoce derenia są bogate w związki biologicznie aktywne. Wielu autorów [11, 23, 27] podaje stężenia polifenoli, antocyjanów i witaminy C, w zależności od odmiany derenia, na poziomie odpowiednio 281 - 579 mg/100 g s.m., 112 - 292 mg/100 g, 16 - 103 mg/100 g. Przecier dereniowy w niniejszych badaniach zawierał 365 mg/100 g polifenoli, 48 mg/100 g antocyjanów i 21 mg/100 g witaminy C, a jego aktywność przeciwutleniająca wobec DPPH wynosiła 27,1 μ M Troloxu/g (tab. 2).

Dodatek przecieru z truskawek i malin nie wpłynął istotnie na zawartość polifenoli ogółem i antocyjanów w przecierach mieszanych w porównaniu z próbką kontrolną. Inaczej było w przypadku przecieru aroniowego, który dodany w ilości 10 % zwiększył 1,5-krotnie zawartość polifenoli, a dodawany w ilości 20 % – 2-krotnie. Aronia wpłynęła na wzbogacenie przecieru dereniowego także w barwniki antocyjanowe. Przecier dereniowy z 10 % dodatkiem aronii zawierał 1,8-krotnie więcej czerwonych barwników niż 100 % przecier dereniowy, a z 20 % dodatkiem aronii – ponad 2,5-krotnie więcej. Z powyższych danych wynika, że owoce aronii są cennym surowcem wzbogacającym przecier w związki biologicznie aktywne, w tym barwniki. Według

Wu i wsp. [25] owoce aronii są jednym z bogatszych źródeł polifenoli oraz antocyjanów i zawierają ich odpowiednio 2010 mg/100 g oraz 1480 mg/100 g.

Tabela 2

Zawartość wybranych składników bioaktywnych oraz aktywność wygaszania rodników DPPH przecierów dereniowych (D) bez i z dodatkiem (10 lub 20 %) aronii (A), malin (M), truskawek (T), przed i po przechowywaniu 6 miesięcy w temperaturze 4 °C.

Content of some selected bioactive components and DPPH radical scavenging activity of cornelian cherry purées without and with the addition (10 or 20 %) of chokeberry (A), raspberry (M), and strawberry (T) before and after 6 months of storage at 4 °C.

Rodzaj przecieru Type of purée	Witamina C Vitamin C [mg/100g]	Antocyjany Anthocyanins [mg/100g]	Polifenole ogółem Total polyphenols [mg/100g]	Aktywność wygaszania rodników DPPH DPPH radical scavenging activity [µM Troloxu/g]
Przed przechowywaniem Prior to storage				
100%D	21,35 ^c ±0,10	48,29 ^e ±2,37	365,4 ^d ±55,1	27,07 ^d ±0,80
D+10%A	17,75 ^d ±0,35	91,08 ^c ±1,39	612,9 ^b ±50,3	41,55 ^b ±2,92
D+20%A	15,09 ^e ±0,18	129,52 ^a ±8,52	767,1 ^a ±75,7	47,39 ^a ±2,51
D+10%M	22,32 ^b ±0,00	48,67 ^e ±1,38	356,3 ^d ±38,3	26,60 ^d ±0,58
D+20%M	22,13 ^b ±0,00	48,88 ^e ±2,90	344,2 ^d ±25,2	26,08 ^d ±1,64
D+10%T	21,67 ^{bc} ±0,23	44,89 ^e ±2,73	373,4 ^d ±28,1	25,54 ^d ±1,50
D+20%T	24,59 ^a ±0,06	43,15 ^e ±2,73	379,0 ^d ±18,4	24,87 ^d ±1,55
Po przechowywaniu After storage				
100%D	5,86 ⁱ ±0,19	27,89 ^f ±2,02	332,1 ^d ±18,5	26,22 ^d ±0,28
D+10%A	3,76 ^j ±0,10	77,24 ^d ±1,99	518,0 ^c ±64,8	33,88 ^c ±2,09
D+20%A	3,69 ^j ±0,22	106,00 ^b ±7,46	640,6 ^b ±72,0	34,75 ^c ±1,60
D+10%M	11,41 ^g ±0,21	28,50 ^f ±3,44	316,0 ^d ±7,5	25,68 ^d ±0,84
D+20%M	10,53 ^h ±0,20	21,67 ^g ±2,43	304,1 ^d ±19,5	24,82 ^d ±3,32
D+10%T	11,54 ^g ±0,33	28,74 ^f ±0,68	342,6 ^d ±34,2	26,47 ^d ±0,92
D+20%T	13,60 ^f ±0,98	24,37 ^g ±1,87	335,8 ^d ±27,0	27,14 ^d ±0,31

Objaśnienie jak pod tab. 1 /Explanatory note as in Tab. 1

Aronia jest surowcem zasobnym w związki z grupy flawonoidów i jednocześnie ubogim w witaminę C, dlatego jej 20-procentowy dodatek do przecieru dereniowego zmniejszył zawartość tej witaminy. Inaczej było w przypadku pozostałych surowców, gdyż dodatek przecierów zarówno z truskawek, jak i z malin zwiększył istotnie poziom witaminy C w mieszanych przecierach. Truskawki i maliny, podobnie jak dereń, są uznawane za dobre źródło witaminy C. Jednak jej zawartość zależy m.in. od odmiany

danego gatunku owoców. Według danych literaturowych zawartość witaminy C w truskawkach, malinach i dereniu, w zależności od odmiany, wynosi odpowiednio 54 - 87 mg/100 g [21], 15 - 32 mg/100 g [4] i 29 - 112 mg/100 g [27].

Jednocześnie zaobserwowano dużą stabilność polifenoli w przecierach dereniowych bez i z dodatkiem truskawek i malin w trakcie ich przechowywania. W wymienionych przecierach nie było istotnych różnic zawartości polifenoli przed i po 6 miesiącach przechowywania w temp. 4 °C. Natomiast w przypadku przecierów z dodatkiem aronii zawartość polifenoli podczas przechowywania istotnie zmniejszyła się. W przecierze z 10-procentowym dodatkiem aronii podczas przechowywania ubyło 95 mg/100 g polifenoli, a w przecierze z 20-procentowym dodatkiem aronii – 127 mg/100 g.

Podczas przechowywania czerwone barwniki antocyjanowe uległy degradacji w większym stopniu niż polifenole. We wszystkich przecierach istotnie zmniejszyła się zawartość antocyjanów, choć w przypadku przecierów z dodatkiem aronii stopień ich degradacji był mniejszy niż w pozostałych próbkach. Może to wynikać z różnicy w składzie zarówno ilościowym, jak i jakościowym antocyjanów występujących w badanych surowcach. W aronii występuje tylko cyjanidyna, natomiast w truskawce, dereniu i malinie oprócz cyjanidyny jest jeszcze obecna, najmniej stabilna ze wszystkich aglikonów, pelargonidyna [5, 23]. W owocach derenia występuje ponadto w małych ilościach delfinidyna [19].

Analizując stężenia witaminy C w próbkach po 6 miesiącach przechowywania zaobserwowano większą stabilność tej witaminy w przecierach z dodatkiem truskawek i malin niż z dodatkiem aronii i przecierze dereniowym bez dodatków. W przypadku przecierów z dodatkiem aronii przyczyną tego mogło być duże stężenie czerwonych barwników, gdyż w obecności antocyjanów kwas askorbinowy jest związkiem bardzo aktywnym zwłaszcza podczas przechowywania [18].

Spośród przecierów mieszanych najwyższą siłą wygaszania rodników DPPH charakteryzowały się próbki z dodatkiem aronii. Wynika to z dużej jej zasobności w związki biologicznie aktywne, które wysoko korelują z pojemnością przeciwutleniającą. Dodatek przecierów z truskawek i malin nie spowodował istotnych zmian pojemności przeciwutleniającej przecierów mieszanych w stosunku do próbki kontrolnej.

Po przechowywaniu aktywność wygaszania rodników DPPH obniżyła się istotnie tylko w przecierach z dodatkiem aronii. W pozostałych próbkach nie zaobserwowano istotnych zmian.

Wartości parametrów barwy $L^*a^*b^*$ przecierów dereniowych bez i z dodatkiem przecierów z owoców przed i po 6 miesiącach przechowywania przedstawiono w tab. 3.

Tabela 3

Parametry barwy L*a*b* przecierów dereniowych (D) bez i z dodatkiem (10 lub 20 %) aronii (A), malin (M), truskawek (T), przed i po przechowywaniu 6 miesięcy w temperaturze 4 °C.

Colour parameters: L*a*b* of cornelian cherry purées (D) without and with the addition (10 or 20 %) of chokeberry (A), raspberry (M), and strawberry (T) before and after 6 months of storage at 4 °C.

Rodzaj przecieru Type of purée	Parametr L* Parameter L*	Parametr a* Parameter a*	Parametr b* Parameter b*
Przed przechowywaniem / Prior to storage			
100%D	36,15 ^f ±0,10	28,80 ^b ±0,13	9,20 ^c ±0,08
D+10%A	31,04 ^g ±0,05	17,78 ^f ±0,15	4,11 ^g ±0,04
D+20%A	28,98 ⁱ ±0,01	12,45 ^h ±0,08	2,73 ⁱ ±0,02
D+10%M	36,21 ^f ±0,01	29,23 ^a ±0,00	9,52 ^a ±0,03
D+20%M	36,45 ^e ±0,06	29,20 ^a ±0,05	9,29 ^{bc} ±0,01
D+10%T	36,42 ^{de} ±0,16	29,10 ^{ab} ±0,06	9,41 ^{abc} ±0,12
D+20%T	36,75 ^c ±0,11	28,99 ^{ab} ±0,27	9,44 ^{ab} ±0,12
Po przechowywaniu / After storage			
100%D	36,63 ^{cd} ±0,09	26,05 ^e ±0,24	7,58 ^f ±0,11
D+10%A	30,95 ^g ±0,04	16,95 ^g ±0,06	3,73 ^h ±0,04
D+20%A	29,18 ^h ±0,11	12,18 ^h ±0,20	2,43 ^j ±0,18
D+10%M	36,65 ^c ±0,01	27,25 ^c ±0,16	7,67 ^{ef} ±0,14
D+20%M	37,23 ^b ±0,13	26,86 ^d ±0,06	7,55 ^f ±0,03
D+10%T	37,19 ^b ±0,08	27,00 ^{cd} ±0,23	7,82 ^e ±0,17
D+20%T	37,71 ^a ±0,12	27,02 ^{cd} ±0,06	8,24 ^d ±0,01

Objaśnienie jak pod tab. 1 /Explanatory note as in Tab. 1

Z analizy parametru L* wynika, że dodatek aronii spowodował istotne pociemnienie przecierów w porównaniu z próbką kontrolną. Im wyższy był dodatek aronii, tym mniejsza była wartość parametru L*. Wartości parametrów a* i b* w próbkach z aronią także istotnie obniżyły się w stosunku do przecieru kontrolnego. Np. wartości parametrów a* i b* przecieru dereniowego wynosiły odpowiednio 28,80 i 9,20 natomiast przecieru z dodatkiem 20 % aronii – 12,45 i 2,73. Podobny efekt uzyskali Wojdyło i wsp. [24] w dżemach truskawkowych z dodatkiem 10 % aronii. Wymienieni autorzy w dżemie z truskawek Senga Sengana otrzymali wartości parametrów a* i b* na poziomie odpowiednio 23,47 i 11,66, natomiast w dżemie truskawkowym z dodatkiem aronii na poziomie 8,16 i 1,99. Analizując w niniejszej pracy wpływ dodatku malin i truskawek na barwę otrzymanych przecierów nie zaobserwowano większych zmian wartości parametrów L* a*, b* .

Barwa przecierów w czasie sześciomiesięcznego przechowywania uległa nieznacznym zmianom. Zaobserwowano wzrost jasności L^* oraz obniżenie wartości parametrów a^* i b^* w badanych przecierach.

Tabela 4

Ocena organoleptyczna przecierów dereniowych (D) bez i z dodatkiem (10 lub 20%) aronii (A), malin (M), truskawek (T).

Organoleptic assessment of cornelian cherry pure (D) without and with the addition (10% or 20%) of chokeberry (A), raspberry (M), and strawberry (T).

Rodzaj przecieru Type of purée	Barwa Colour	Zapach Flavour	Smak Taste	Konsystencja Consistency
100%D	4,80 ^a ±0,26	3,90 ^c ±0,21	4,50 ^{bc} ±0,33	4,30 ^{ab} ±0,35
D+10%A	4,90 ^a ±0,21	3,75 ^c ±0,49	4,00 ^d ±0,47	3,30 ^c ±0,26
D+20%A	5,00 ^a ±0,00	3,25 ^d ±0,49	3,15 ^e ±0,53	2,80 ^d ±0,67
D+10%M	4,80 ^a ± 0,26	3,90 ^c ± 0,46	4,25 ^{cd} ± 0,26	4,65 ^a ± 0,34
D+20%M	4,50 ^b ±0,24	4,30 ^b ±0,26	4,55 ^{bc} ±0,37	4,45 ^{ab} ±0,37
D+10%T	4,45 ^b ±0,37	4,80 ^a ±0,26	4,75 ^{ab} ±0,26	4,50 ^{ab} ±0,33
D+20%T	4,15 ^c ±0,41	4,95 ^a ±0,16	4,95 ^a ±0,16	4,20 ^b ±0,26

W celu sprawdzenia stopnia pożądalności badanych przecierów przeprowadzono konsumencką ocenę organoleptyczną metodą pięciopunktową. Wyniki tej oceny przedstawiono w tab. 4. Oceniono takie wyróżniki jakości, jak: barwa, zapach, konsystencja i smak. Pierwszym wyróżnikiem w ocenie była barwa, na którą konsumenci w pierwszej kolejności zwracają uwagę. Według oceniających najatrakcyjniejsze pod względem barwy były przecier dereniowy bez i z dodatkiem aronii (10 i 20 %) i malin (10 %) natomiast najmniej atrakcyjny był przecier z dodatkiem 20 % truskawek (4,1 pkt). Wśród barwników antocyjanowych truskawek dominuje najmniej stabilna pelargonidyna, z pomarańczowym odcieniem, natomiast w pozostałych surowcach wymieniony aglikon albo nie występuje, jak w przypadku aronii, albo nie jest dominujący, jak w przypadku derenia, albo występuje w małych ilościach, jak w przypadku malin. Mało stabilna barwa truskawek w porównaniu z pozostałymi surowcami prawdopodobnie była przyczyną niższych ocen przecierów z dodatkiem tego surowca. Drugim ocenianym wyróżnikiem był zapach. Pod względem tej cechy najwyżej ocenione były przecier z dodatkiem truskawek (4,95 pkt), a najniżej – przecier z dodatkiem aronii (3,25 pkt). Z zapachem silnie związany jest smak, który dla konsumenta jest niezwykle istotny, gdyż decyduje o stopniu pożądalności produktu. Ocena smaku była porównywalna do oceny zapachu, gdyż przecier z dodatkiem truskawek były ocenio-

ne najwyżej, a z dodatkiem aronii – najniżej. Im większy był dodatek truskawek, tym ocena była wyższa, a w przypadku aronii – niższa. W ocenie konsystencji najniżej były punktowane przecierzy z dodatkiem aronii (2,8 - 3,3 pkt). Pozostałe przecierzy nie różniły się istotnie pod względem konsystencji. Reasumując, pod względem barwy najlepszym produktem okazał się przecier dereniowy z dodatkiem aronii, natomiast pod względem pozostałych wyróżników – z dodatkiem truskawek, których aromat i smak są bardzo pożądane przez konsumentów. Atrakcyjny produkt można zatem uzyskać poprzez sporządzenie mieszanki trójskładnikowej, która pod względem wszystkich cech organoleptycznych zadowoli konsumentów.

Wnioski

1. Przecier dereniowy zawierał 365 mg/100 g polifenoli, 48 mg/100 g antocyjanów i 21 mg/100 g witaminy C, a jego aktywność przeciwutleniająca wynosiła 27 μ M Troloxu/g. Kwasowość, sucha masa, ekstrakt, zawartość pektyn i lepkość przecieru dereniowego wynosiły odpowiednio 2,89 %, 20,9 %, 18,7 %, 2,12 %, 31,63 Pa·s.
2. Dodatek przecierów ze wszystkich badanych owoców spowodował zmniejszenie kwasowości, zawartości pektyn oraz lepkości otrzymanych przecierów. Zawartość suchej masy, ekstraktu i antocyjanów w przecierze z dodatkiem truskawek i malin zmniejszyła się, natomiast z dodatkiem aronii – zwiększyła się.
3. Przecier aroniowy dodawany w ilości 20 % wzbogacił przecier dereniowy, zwiększając w nim zawartość antocyjanów ponad 2,5-krotnie, polifenoli – 2-krotnie i aktywność wygaszania rodników DPPH – 1,8-krotnie, zmniejszył jednak zawartość witaminy C.
4. W przecierach dereniowych po dodaniu przecieru z aronii, wartości parametrów $L^*a^*b^*$ istotnie się obniżyły. Podobnego efektu nie zaobserwowano po dodaniu przecieru z malin i truskawek.
5. Pod względem barwy najkorzystniejszym dodatkiem do przecieru dereniowego okazała się aronia, natomiast w przypadku pozostałych wyróżników jakości – truskawka. Dla uzyskania atrakcyjnego produktu celowe wydaje się sporządzenie mieszanki trójskładnikowej, która zarówno pod względem barwy, jak i smakowitości może zadowolić konsumentów.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2007-2010 jako projekt badawczy nr N N312 2864 33. Praca była prezentowana podczas IX Konferencji Naukowej z cyklu „Żywność XXI wieku”, Kraków 18 - 19 czerwca 2009 r.

Literatura

- [1] Gao X., Ohlander M., Jeppsson N., Bjork L., Trajkorski V.: Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 1485-1490.
- [2] Giusti M.M., Wrolstad R.E.: Anthocyanins: Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad, R.E., ed. *Current protocols in food analytical chemistry*. John Wiley and Sons, New York 2001.
- [3] Guleryuz M., Bolat I., Pirlak L.: Selection of table cornelian cherry (*Cornus mas* L.) types in Coruh Valley. *Turk. J. Agric. Forestry*, 1998, **22**, 357-364.
- [4] Haffner K., Rosenfeld H.J., Skrede G., Wang L.: Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biol. Technol.*, 2002, **24**, 279-289.
- [5] Koponen J. M., Happonen A. M., Mattila P. H., Torronen A. R.: Contents of Anthocyanins and Ellagitannins in Selected Foods Consumed in Finland *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 1612-1619.
- [6] Kucharska A.Z., Sokół-Lętowska A., Piórecki N.: Differentiation of chemical composition of fruits from *Cornus mas* L., International Scientific Conference Quality of Horticultural Production, Lednice, Czech Republic 2007, May 30-31, pp. 285-294.
- [7] Loiko R., Maksymenko M., Zuikevich O.: Suitability of fruits of *Crataegus* L., *Viburnum opulus* L., *Hippophae rhamnoides* L., *Aronia melanocarpa* (Minch) Elliott, *Sorbus aucuparia* L., *Rosa cinnamomea* L., *Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. For processing. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 1999, **468**, 371-377.
- [8] Maghradze D., Abashidze E., Bobokashvili Z., Tchipashvili R., Maghlakelidze E.: Cornelian cherry in Georgia. *ISHS Acta Hort.*, 2009, **818**, 65-72.
- [9] Ochoa M.R., Kessler A.G., Vullioud M.B., Lozano J.E.: Physical and Chemical Characteristics of Raspberry Pulp: Storage Effect on Composition and Color, *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1999, **32**, 149-153.
- [10] Oszmiański J., Wojdyło A.: Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.*, 2007, **221**, 809-813.
- [11] Pantelidis G.E., Vasilakakis M., Manganaris G.A., Diamantidis G.R.: Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, red currants, gooseberries and cornelian cherries. *Food Chem.*, 2007, **102**, 777-783.
- [12] Pijanowski E., Mrożewski S., Horubała A., Jarczyk A.: *Technologia produktów owocowych i warzywnych*, tom I. PWRiL, Warszawa 1973.
- [13] Pirlak L., Guleryuz M., Bolat I.: Promising cornelian cherries (*Cornus mas* L.) from The Northeastern Anatolia Region of Turkey. *J. Am. Pom. Soc.*, 2003, **1**, 14-18.
- [14] PN-90/A-75101/02. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości ekstraktu ogólnego.
- [15] PN-90/A-75101/03 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [16] PN-90/A-75101/04 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie kwasowości ogólnej.
- [17] PN-90/A-75101/11 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie zawartości witaminy C.
- [18] Poesi-Langston, M.S., Wrolstad, R.E.: Color degradation in an ascorbic acid-anthocyanin-flavonol model system. *J. Food Sci.*, 1981, **46**, 1218-1222.
- [19] Seeram, N.P., Schutzki R., Chandra A., Nair M.G. Characterization, quantification, and bioactivities of anthocyanins in *Cornus* Species. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 2519-2523.

- [20] Sila D.N., Van Buggenhout S., Duvetter T., Fraeye I., De Roeck A., Van Loey A, Hendrickx M.: Pectins in Processed Fruits and Vegetables: Part II— Structure– Function Relationships Comprehensive. *Reviews in Food Science and Food Safety*, 2009, **8(2)**, 86-104.
- [21] Skupień K., Oszmiański J.: Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) grown in northwest Poland. *Eur. Food Res. Technol.*, 2004, **219**, 66-70.
- [22] Skupień K., Wójcik-Stopczyńska B. Ocena jakości przecierów z truskawek odmiany Elsanta. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2005, **4(2)**, 25-35.
- [23] Tural S., Koca I.: Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grow in Turkey. *Sci. Hortic.*, 2008, **116**, 36-366.
- [24] Wojdyło A., Oszmiański J., Bober I.: The effect of addition of chokeberry, flowering quince fruits and rhubarb juice to strawberry jams on their polyphenol content, antioxidant activity and colour. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **227**, 1043-1051.
- [25] Wu XL, Gu LW, Priori RL, McKay S.: Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia* and *Sambucus* and their antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 7846-7856.
- [26] Yen, G.C., Chen, H.Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.
- [27] Yilmaz K.U., Ercisli S., Zengin Y., Sengul M., Kafkas E.Y.: Preliminary characterization of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes for their physico-chemical properties. *Food Chem.*, 2009, **114**, 408-412.

EFFECT OF CHOKEBERRY, STRAWBERRY, AND RASPBERRY ADDED TO CORNELIAN CHERRY PURÉE ON ITS PHYSICAL AND CHEMICAL COMPOSITION

S u m m a r y

In this paper, the physical-chemical, antioxidant, and organoleptic properties were compared of cornelian cherry purées without and with the addition of chokeberry, strawberry, and raspberry purée.

The purée of cornelian cherry was characterized by a high acidity (2.89 %) and a high content of pectin (2.12 %). Its viscosity was at a level of 31.63 Pa·s. It contained 365 mg/100 g of total polyphenols, 48 mg/100 g of anthocyanins, and 21 mg/100 g of vitamin C. Its antioxidant activity against DPPH was 27 µM Trolox/g.

All added fruits caused the acidity level, content of pectin, and the viscosity of purées to decrease. The content of dry matter, extract, and anthocyanin in the purées with strawberries and raspberries added decreased compared to the purée of cornelian cherry, whereas the addition of chokeberry caused those parameters to increase. With the amount of the chokeberry purée added being 20 %, the content of active compounds therein increased. As for the mixed cornelian cherry purée, it was found that the following values increased: the content of anthocyanin increased by more than 2.5 times, of polyphenols – twice, and its activity against DPPH improved by 1.8 times. At the same time, the content of vitamin C decreased. The chokeberry added to the purée of cornelian cherry caused the purées of cornelian cherry to significantly darken compared to the control sample, while the addition of raspberries and strawberries did not change the brightness (L*) of the tested purées. According to the organoleptic assessment, the colour of the cornelian cherry purée with chokeberry was scored the best (it was given the highest number of points), while the flavour and consistency of the purée with strawberry added was scored the best.

Key words: cornelian cherry, fruit purées, antioxidant activity, anthocyanins, total polyphenols, viscosity



BEATA SPERKOWSKA, GRZEGORZ BAZYŁAK

WPLYW WARUNKÓW EKSTRAKCJI NA ZAWARTOŚĆ ROZPUSZCZALNYCH SZCZAWIANÓW W WODNYCH NAPARACH HERBAT ZIELONYCH I HERBATEK ZIOŁOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było porównanie zawartości rozpuszczalnych szczawianów (RSZ) w wodnych naparach herbat zielonych i herbatek ziołowych uzyskiwanych przy zastosowaniu czterech sposobów ekstrakcji, tj. tradycyjnej metody ekstrakcji przy użyciu wrzącej wody o temp. 100 °C, ekstrakcji wspomagananej promieniowaniem mikrofalowym w temp. 80 °C (EWPM), ekstrakcji wspomagananej ultradźwiękami w temp. 40 °C (EWU-40) i w temp. 60 °C.

Oznaczona metodą manganianometryczną średnia zawartość RSZ w badanych naparach była największa po zastosowaniu metody EWPM i wynosiła od 7,73 do 14,89 mg/g s.m. w herbatach zielonych oraz od 3,53 do 18,11 mg/g s.m. w herbatach ziołowych. Natomiast najmniejsze wartości otrzymano po zastosowaniu metody EWU-40, tzn. od 5,06 do 10,88 mg/g s.m. w herbatach zielonych oraz od 1,5 do 11,03 mg/g s.m. w herbatach ziołowych. W przypadku herbatek ziołowych, pobranych do badań wyłącznie w saszetkach do parzenia ekspresowego, stwierdzono istotną zależność pomiędzy ilością oznaczonych RSZ a rodzajem części anatomicznych wyjściowego surowca roślinnego. Podobnie, jak w przypadku herbat zielonych, największą średnią zawartością RSZ charakteryzowały się napary uzyskane metodą EWPM z herbatek ziołowych z całych liści, np. mięty – 18,11 mg/g s.m., szalwi – 12,23 mg/g s.m. oraz pokrzywy – 11,76 mg/g s.m. Z owoców (nasion) kopru włoskiego uzyskano RSZ na poziomie 3,53 mg/g s.m. produktu, a z kwiatostanu lipy 4,01 mg/g s.m. Wyjątek w tej grupie naparów stanowił kwiatostan rumianku, w którym oznaczono 16,05 mg/g s.m. produktu.

Uzyskane wyniki mogą zostać wykorzystane do standaryzacji metod analitycznych stosowanych podczas oznaczania RSZ w naparach herbat zielonych i herbatek ziołowych w celu identyfikacji kraju i regionu ich pochodzenia, rozpoznawania okresu zbiorów i sposobu produkcji, ujawniania domieszek i zafałszowań oraz weryfikacji przydatności do spożycia i potwierdzania jakości zdrowotnej takich produktów.

Słowa kluczowe: kwas szczawiowy, szczawiany, herbata zielona, herbata ziołowa, ekstrakcja, promieniowanie mikrofalowe, ultradźwięki

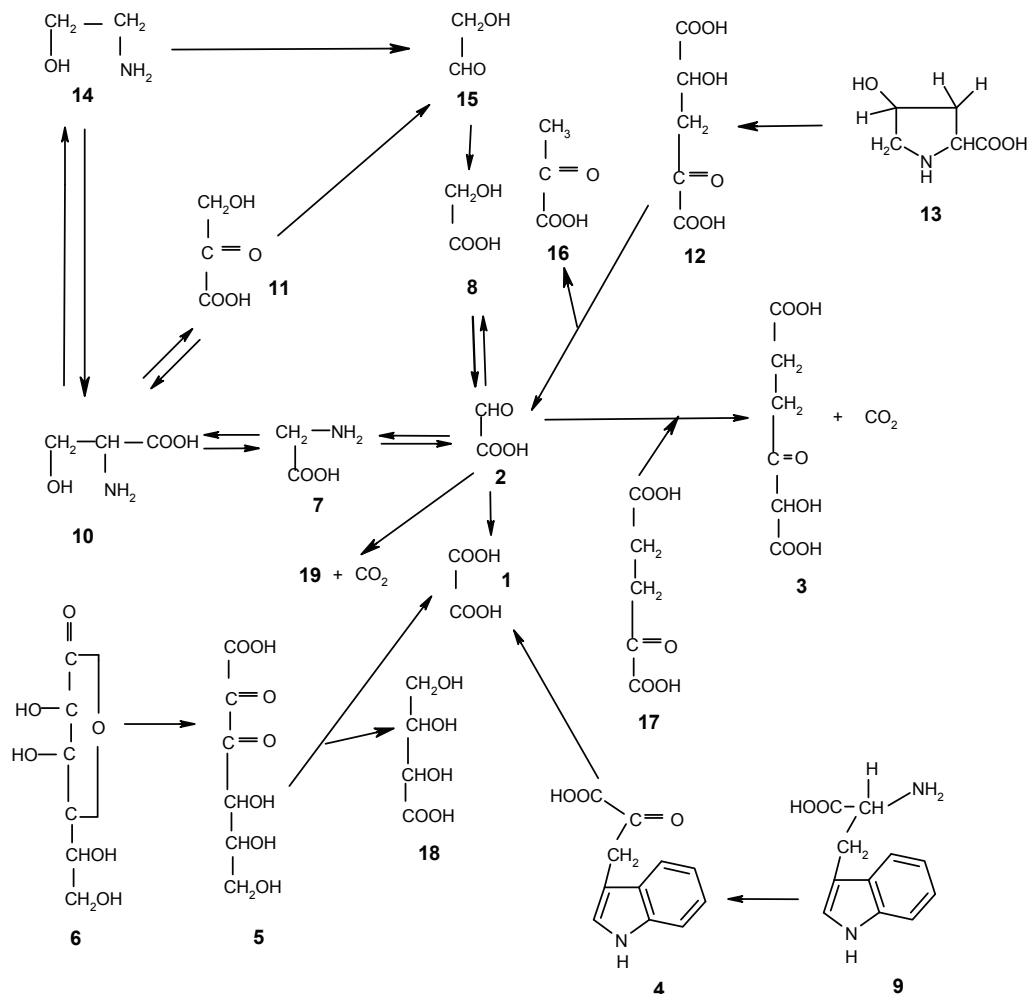
Wprowadzenie

Kwas szczawiowy zaliczany jest do kwasów dikarboksylowych o zwiększonej mocy – jego stałe dysocjacji kwasowej (pK_a) w temp. pokojowej wynoszą 1,3 oraz 4,3 [14]. Występuje powszechnie zarówno w świecie roślinnym, jak i zwierzęcym [1, 14]. Powstaje w roślinach na drodze zróżnicowanych procesów biosyntezy (rys. 1) z takich wyjściowych substratów, jak: kwas askorbinowy, tryptofan, hydroksyprolina, seryna i etanoloamina [17].

Kwas szczawiowy tworzy rozpuszczalne w wodzie sole sodowe i potasowe oraz jedno- i dwupodstawione estry. W wakuolach wyspecjalizowanych komórek roślinnych zwanych idioblastami część jonów szczawianowych jest związana w postaci nierozpuszczalnych soli wapnia i magnezu. Sole te odgrywają istotną rolę w wielu ważnych funkcjach życiowych komórki roślinnej takich, jak: regulacja poziomu wapnia, detoksykacja metali ciężkich, ochrona przed roślinożercami, a także determinują aktywność allelopatyczną poszczególnych roślin [1, 7, 14]. Ilość szczawianów odkładanych w tkankach roślinnych uwarunkowana jest kilkoma czynnikami, przede wszystkim intensywnością biosyntezy szczawianów, która jest najpełniejsza w fazie kwitnienia rośliny [7]. Ponadto ilość zgromadzonych szczawianów uzależniona jest także od części anatomicznej rośliny. Najwięcej szczawianów gromadzonych jest w dolnych liściach roślin, a następnie w liściach górnych, nasionach, łodygach, a najmniejsze ilości występują w korzeniach [7, 14].

Zwiększające się w ostatnich latach spożycie herbat zielonych i herbatek ziołowych w Polsce, które zdeterminowane jest ich prozdrowotnymi właściwościami (np. obecnością polifenoli) oraz powszechną dostępnością, zwiększa także ryzyko wystąpienia szeregu dolegliwości związanych z zaburzeniami bilansu wapnia w ustroju człowieka, szczególnie tworzenia kamieni nerkowych [7, 8, 9, 14, 22]. Badania prowadzone w licznych placówkach naukowych dowodzą, że ilość szczawianów jaką przyjmuje człowiek z codzienną dietą znacznie przewyższa dozwolone normy, tj. 40 – 50 mg/dobę [15, 17]. Na podkreślenie zasługuje fakt, że nie tylko egzogenne źródła szczawianów w diecie stanowią czynnik ryzyka wystąpienia takich zespołów patologicznych, jak: nadmierne wydalanie kwasu szczawowego z moczem (hiperoksaluria), kamica nerkowa, niewydolność nerek, kardiomiopatia i zaburzenia przewodności serca [15].

Określenie ilości szczawianów w żywności i codziennej diecie jest niezwykle istotne, zwłaszcza w przypadku osób narażonych na kamicę nerkową. Gasińska i Gajewska [6] wykazały w diecie osób chorych znacznie wyższą podaż litogenego kwasu szczawowego z kawy i herbaty (około 80 %) niż z antylitogennych składników diety takich, jak wapń, witamina B₆ i całkowita objętość spożytych płynów [6]. W licznych badaniach podaje się graniczną objętość spożywanych naparów herbat zielonych, a także herbatek ziołowych, na poziomie do 2,5 litra na dzień [3, 15, 16, 17]. Stosowane bardzo



Rys. 1. Biosynteza kwasu szczawiowego w roślinach. Oznaczenia związków: (1) kwas szczawiowy, (2) kwas gliksalowy, (3) kwas 2-hydrokso-3-keto-adipinowy, (4) kwas indolopirogronowy, (5) kwas L-4,5,6-trihydrokso-2,3-diketokapronowy (6) kwas L-askorbinowy, (7) glicyna, (8) kwas glikolowy, (9) tryptofan, (10) seryna, (11) kwas hydroksopirogronowy, (12) 4-hydrokso-2-ketoglutaryny, (13) L-hydroksoprolina, (14) etanolamina, (15) aldehyd glikolowy, (16) kwas pirogronowy, (17) kwas 2-ketoglutaryny, (18) kwas L-2,3,4-trihydroksoymasłowy, (19) formyl-S-koenzym A.

Fig. 1. Biosynthesis of oxalic acid in plants. Compounds: (1) oxalate; (2) glyoxylate; (3) 2-hydroxy-3-oxo-adipate; (4) indolepyruvate; (5) 2,3-dioxo-L-gulonate; (6) L-ascorbate; (7) glycine; (8) glycolate; (9) tryptophan; (10) serine; (11) hydroxypyruvate; (12) 4-hydroxy-2-oxoglutarate; (13) L-hydroxyproline; (14) ethanolamine; (15) glycolaldehyde; (16) pyruvate; (17) 2-oxo-glutarate; (18) L-threonate; (19) formyl-S-CoA.

Opracowanie własne na podstawie [1, 17]. / The authors' own adaptation based on [1, 17].

różnorodne metody analityczne, takie jak miareczkowanie manganianometryczne [10], chromatografii gazowej [18], wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją UV [3, 8], HPLC z detekcją enzymatyczną [9], elektroforezy kapilarnej [5], enzymatyczna Trinity Biotech (Irlandia) [22], chemiluminescencyjna [19], a także spektrofotometrii w bliskiej podczerwieni NIR [12], nie gwarantują uzyskania rzetelnej informacji na temat rzeczywistej zawartości rozpuszczalnych szczawianów (RSZ) w takich naparach. Jak dowodzą nieliczne opublikowane badania, przede wszystkim długość czasu parzenia oraz temperatura wody użytej do ekstrakcji mają ścisły związek z ilością rozpuszczalnych szczawianów w naparach herbaty [3, 9, 16]. Obniżenie temperatury zaparzania oraz stosowanie odpowiednich rozcieńczeń może znacznie zmniejszyć ilość szczawianów przechodzących do naparu. Należy również zwrócić uwagę na fakt, że herbaty czarne i zielone należą do często fałszowanych produktów spożywczych [4, 13], a jednym z powszechnie występujących zafałszowań jest deklarowanie przez dystrybutorów obecności w oferowanym produkcie najwyższej jakości herbaty otrzymanej z młodych listków, podczas gdy w rzeczywistości herbaty takie zawierają często starsze liście, a nawet łodygi, o dużej zawartości kwasu szczawowego [13, 17]. Kwas szczawowy może więc pełnić rolę pośredniego biomarkera zafałszowań herbaty i napojów ziołowych, bowiem jak już wspomniano, w starszych liściach, jak również w łodygach, występuje go więcej niż w deklarowanych na opakowaniu młodych listkach [4, 17].

Celem przedstawionej pracy było określenie wpływu alternatywnych metod zaparzania herbat zielonych i herbatek ziołowych, pozwalających na uzyskanie naparów o najwyższych walorach smakowych i odżywczo-zdrowotnych, na wyniki oznaczania rozpuszczalnych szczawianów metodą manganianometryczną w takich napojach. Przeprowadzono analizy naparów uzyskanych w wyniku zastosowania kilku metod, t.j. tradycyjnej ekstrakcji wodnej, ekstrakcji wspomagananej promieniowaniem mikrofalowym i ekstrakcji wspomagananej ultradźwiękami w różnych wartościach temperatury. Podjęte badania miały także na celu sprawdzenie na ile opisywane w literaturze alternatywne metody ekstrakcji wykorzystywane przy oznaczaniu zawartości innych bioaktywnych związków w herbatach zielonych i czarnych, m.in. katechin [2, 11, 13, 20, 23], mogą mieć wpływ na wyniki oznaczania rozpuszczalnych szczawianów.

Material i metody badań

Badaniami objęto napary uzyskane z 3 marek handlowych herbaty zielonej liściastej, 3 marek handlowych herbaty zielonej ekspresowej w saszetkach oraz 7 marek herbatek ziołowych ekspresowych w saszetkach, określanych przez producentów jako „zioła w torebkach do zaparzania” (tab. 1). Trzy produkty, w postaci herbatek ziołowych z lipy, szalwi i mięty, zakupiono w aptekach ogólnodostępnych, a pozostałe produkty w sklepach spożywczych i hipermarketach na terenie Bydgoszczy w okresie

marzec – sierpień 2008 r. Z produktu każdej marki przeanalizowano 3 próbki w trzech powtórzeniach.

Do oznaczenia rozpuszczalnych szczawianów zastosowano metodę manganianometryczną z uwagi na jej prostotę, dostępność i powtarzalność. W przypadku każdego rodzaju herbaty wykonano ekstrakcję czterema sposobami, najpierw referencyjną metodą tradycyjną przy użyciu wrzącej wody o temp. 100 °C (EWW, sposób 1). Następnie zastosowano trzy alternatywne metody ekstrakcji: wspomaganej promieniowaniem mikrofalowym w temp. 80 °C (EWPM, sposób 2), wspomaganej ultradźwiękami w temp. 40 °C (EWU-40, sposób 3) i w temp. 60 °C (EWU-60, sposób 4). W przypadku ekstrakcji gorącą wodą (EWW) naważkę 3,0 g herbaty zalewano 50 cm³ wody dejonizowanej o temp. 100 °C i zaparzano napój przez 5 min pod przykryciem. Podczas ekstrakcji z wykorzystaniem ultradźwięków (EWU) zastosowano termostatowaną łaźnię ultradźwiękową o częstotliwości generatora 35 MHz typu Sonorex RK 100H (Bendelin Electronic, Niemcy). Napary do badań przygotowywano zalewając 3,0 g badanej herbaty 50 cm³ wody dejonizowanej o temp. pokojowej, a następnie prowadzono proces ekstrakcji EWU przez 15 min w temp., odpowiednio, 40 i 60 °C. W przypadku ekstrakcji EWPM użyto kuchenki mikrofalowej typu M1914 (Samsung, Korea Płd.), o częstotliwości promieniowania 2450 MHz. Naważki wielkości 3,0 g badanej herbaty zalewano wodą destylowaną (50 cm³) o temp. pokojowej i poddawano działaniu promieniowania mikrofalowego o mocy 450 W przez 2 min do osiągnięcia temp. 80 °C. Uzyskane różnymi metodami napary filtrowano przez sączi wykonane z bibuły jakościowej średniej (61-69 g/m², POCH, Polska) i pobierano 2,5 cm³ uzyskanego przesącza do próbki wirówkowej o pojemności 15 cm³. Następnie dodawano 1,0 cm³ 25 % chlorku wapnia oraz 2,5 cm³ acetonu. Przygotowane w ten sposób próbki ochładzono przez 30 min do temp. -6 °C. Powstały osad szczawianu wapnia odwirowywano przez 5 min przy 3000 obr./min przy zastosowaniu wirówki laboratoryjnej typu NPW-53 (NPW, Polska). Płyn z nad osadu dekantowano, dodawano 5,0 cm³ 10 % kwasu siarkowego i przenoszono ilościowo uzyskany roztwór do kolbek stożkowych na 100 cm³, a następnie rozpuszczano na gorąco w łaźni wodnej w temp. 90 °C. Miareczkowanie na gorąco wykonywano przy użyciu 0,002 M roztworu nadmanganianu potasowego do uzyskania barwy różowej utrzymującej się około 1 min. Oznaczone i przeliczone na 1 g suchej masy (s.m.) badanego produktu ilości rozpuszczalnych szczawianów w zależności od zastosowanej metody i warunków ekstrakcji przedstawiono w tab. 2 i 3.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono z użyciem nieparametrycznego testu Kruskala-Wallisa ($p < 0,05$), z zastosowaniem programu Statistica 6.1 (Stat Soft, Tulsa, OK, USA).

Tabela 1

Charakterystyka badanych herbat zielonych i herbatek ziołowych.
Profiles of green and herbal teas analyzed under this research.

Lp. Pos.	Badany produkt # Product analyzed#	Kraj pochodzenia Country of origin	Dystrybutor Distributor	Postać Form
1	Herbata zielona „Gunpowder”	Indonezja, Chiny	Bastek, Mrągowo	duże, zwinięte liście
2	Herbata „Zielona z cytryną”	Indonezja	Tentor, Koneck	drobne liście
3	Tao-Tao-Herbata Zielona „Jaśminowa”	Wietnam	Tan-Viet, Łęgowo	drobne liście, jaśmin
4	Herbata zielona „Sir Roger”	Chiny	Roger, Łódź	saszetki 1,7 g drobne cz. roślin
5	Herbata zielona „Bio-Active”	Chiny	Bio-Active, Warszawa	saszetki 2,0 g b. drobne cz. roślin
6	Herbata zielona „Vitax”	Chiny	Multeafil, Dobrzyca	saszetki 2,0 g b. drobne cz. roślin
7	„Lipa - Herbata Ziołowa- Zielnik Polski” *	Polska	Herbapol, Lublin	saszetki 1,5 g kwiatostan
8	„Owoc kopru włoskiego” *	Polska	Kawon-Hurt, Gostyń	saszetki 2,0 g owoc
9	„Liść pokrzywy- zioła do zaparzenia w saszetkach” *	Polska	Flos, Mokrsko	saszetki 1,5 g liście
10	„Dziurawiec-Herbatka Ziołowa”	Polska	Malwa, Lubiszyn	saszetki 2,0 g całe ziele
11	„Szałwia Fix – Zielnik Apteczny” *	Polska	Herbapol Lublin	saszetki 1,6 g liście
12	„Mięta - Herbata Ziołowa - Zielnik Polski” *	Polska	Herbapol Lublin	saszetki 2,0 g liście
13	„Rumianek - Herbatka Ziołowa”	Polska	Posti, Warszawa	saszetki 1,7 g koszyczki

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Oryginalne nazwy handlowe umieszczone na opakowaniach / Original commercial names placed on the package;

*Produkty zakupione w aptekach ogólnodostępnych na terenie Bydgoszczy / Products purchased in public (widely available) pharmacies in Bydgoszcz

Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczeń zawartości rozpuszczalnych szczawianów (RSZ) w herbatach zielonych i herbatkach ziołowych oraz ich statystyczną ocenę przedstawiono w tab. 2.

i 3. Zwraca uwagę herbatka ziołowa z szałwi – zastosowanie tradycyjnej metody parzenia gorącą wodą EWW prowadziło do uzyskania naparu o największej zawartości szczawianów (13,13 mg/g s.m) w porównaniu z naparami uzyskanymi pozostałymi trzema metodami (tab. 3).

Stwierdzono, że w przypadku większości badanych herbat zielonych oraz czterech herbatek ziołowych (kopru włoskiego, pokrzywy, mięty oraz rumianku) największą wydajnością uwalniania do naparu rozpuszczalnych szczawianów charakteryzowała się ekstrakcja z wykorzystaniem promieniowania mikrofalowego EWPM. W porównaniu z tradycyjną metodą ekstrakcji gorącą wodą EWW, po zastosowaniu ekstrakcji EWPM najbardziej zwiększył się poziom rozpuszczalnych szczawianów w naparze z herbaty zielonej „Bio-Active”, w której nastąpił prawie trzykrotny wzrost zawartości szczawianów z 4,2 do 12,26 mg/g s.m. tej herbaty (tab. 2). Wysoki wzrost ilości szczawianów odnotowano także po zastosowaniu ekstrakcji EWPM w przypadku herbatki miętowej, z 9,58 do 18,11 mg/g s.m., co stanowi prawie dwukrotny wzrost ilości szczawianów w naparze w porównaniu z ekstrakcją tradycyjną EWW (tab. 3). Podobną zmianę stwierdzono w przypadku herbatki rumiankowej, w której w wyniku zastosowania ekstrakcji EWPM nastąpił wzrost zawartości rozpuszczalnych szczawianów z 9,71 do 16,05 mg/g s.m. (tab. 3). Jedynie w przypadku naparów herbatki ziołowej z lipy, dziurawca i szałwi odnotowano statystycznie istotne zmniejszenie zawartości rozpuszczalnych szczawianów w wyniku zastosowania promieniowania mikrofalowego EWPM w porównaniu z tradycyjnym parzeniem wrzącą wodą EWW (tab. 3). W porównaniu z metodą EWW oraz EWPM, jedynie w przypadku herbaty zielonej „Vitax”, zielonej „Jaśminowej” oraz herbatki ziołowej z dziurawca, najwyższą wydajność ekstrakcji szczawianów do naparu uzyskano przy zastosowaniu ekstrakcji EWU-60, czyli wspomaganej ultradźwiękami w temp. 60 °C (tab. 2 i 3).

W celu optymalizacji wydajności ekstrakcji rozpuszczalnych szczawianów metodą EWU dokonano kilku eksperymentów, z herbatą zieloną liściastą „Gunpowder”, w których zmieniano temperaturę ekstrakcji i czas chłodzenia (w temp. -6 °C) wytrącanego z uzyskanych naparów drobnokrystalicznego osadu szczawianu wapnia. Ze wzrostem temperatury ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami EWU od 40 do 80 °C następował proporcjonalny wzrost zawartości szczawianów w naparze. Podczas ekstrakcji EWU w temp. 60 °C uzyskano zawartość rozpuszczalnych szczawianów w naparze na poziomie porównywalnym z wynikami RSZ w herbacie podczas ekstrakcji metodą tradycyjną z użyciem wrzątku EWW (rys. 2).

Tabela 2

Zawartość rozpuszczalnych szczawianów w badanych herbatach zielonych [mg/g s.m.].
Content of soluble oxalates in green teas analyzed [mg/g d.m.].

Herbata Tea	„Gunpowder” „Gunpowder” ^a	„Z cytryną” „With lemon” ^a	„Jaśminowa” „Jasmine” ^a	„Sir Roger” „Sir Roger” ^b	„Bio- Active” „Bio- Active” ^b	„Vitax” „Vitax” ^b
EWW	12,24 ± 0,24 (12,0 - 12,48)	8,39 ± 0,09 (8,28 - 8,52)	7,23 ± 0,05 (7,2 - 7,31)	7,59 ± 0,22 (6,15 - 8,25)	4,20 ± 0,62 (3,45 - 4,95)	6,30 ± 0,12 (6,15 - 6,45)
EWPM	14,89 ± 0,63 (13,95 - 15,60)	11,7 ± 1,10 (10,5 - 13,5)	14,36 ± 1,14 (13,2 - 16,2)	8,48 ± 0,57 (7,95 - 9,30)	12,26 ± 1,76 (10,5 - 14,1)	7,73 ± 1,0 (6,60 - 9,0)
EWU-40	8,85 ± 1,59 (7,05 - 10,65)	7,95 ± 0,11 (7,80 - 8,10)	10,88 ± 0,23 (10,50 - 11,10)	5,06 ± 0,51 (4,35 - 5,55)	6,52 ± 0,35 (6,10 - 7,05)	6,34 ± 0,06 (6,30 - 6,45)
EWU-60	13,76 ± 0,27 (13,50 - 14,10)	10,50 ± 0,30 (10,20 - 10,80)	14,63 ± 0,58 (13,80 - 15,30)	6,34 ± 0,06 (6,30 - 6,45)	9,28 ± 0,28 (9,00 - 9,65)	10,91 ± 0,47 (10,50 - 11,70)

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± SD oraz zakres, n = 3; / The Table presents mean values ± SD, and the range, n = 3;

EWW – ekstrakcja wrzącą wodą, 100 °C, 5 min / extraction with boiling water at 100 °C, t = 5 min; EWPM – ekstrakcja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym, 80 °C, 450 W, 2 min / microwave radiation supported extraction at 80 °C, 450 W, t = 2 min; EWU-40 – ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami, 40 °C, 15 min / ultrasound supported extraction at 40 °C, t = 15 min; EWU-60 – ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami, 60 °C, 15 min / ultrasound supported extraction at 60 °C, t = 15 min; a – herbata liściasta / leaf green tea; b – herbata mielona w saszetkach / crushed green tea in sachets.

Wydłużenie czasu chłodzenia (w temp. -6 °C) wytrąconego z naparu osadu szczawianu wapnia od 30 do 60 min powodowało spadek wyników oznaczeń RSZ w badanym naparze zielonej herbaty „Gunpowder”. Dlatego w celu zachowania porównywalności uzyskanych wyników oznaczania RSZ z danymi literaturowymi oraz w celu ujednoczenia czasu analizy manganianometrycznej pozostałych badanych próbek herbaty i herbatek przyjęto okres 30 min, jako optymalny czas chłodzenia (w temp. -6 °C), który zapewnia pełne wytrącenie osadu szczawianu wapnia z naparu.

Tabela 3

Zawartość rozpuszczalnych szczawianów w badanych herbatkach ziołowych [mg/g s.m.].
Content of soluble oxalates in herbal teas analyzed [mg/g d.m.].

Herbatka Tea Ekstrakcja Extraction	Lipa Lime ^a	Koper Fennel ^b	Pokrzywa Nettle ^c	Dziurawiec Hypericum ^d	Szałwia Sage ^c	Mięta Peppermint ^c	Rumianek Camomile ^a
EWW	4,88 ± 0,08 (4,80-4,95)	2,48 ± 0,08 (2,40-2,55)	10,13 ± 0,44 (9,45-10,65)	7,64 ± 0,28 (7,35-8,1)	13,13 ± 0,48 (12,45-13,65)	9,58 ± 0,11 (9,45-9,75)	9,71 ± 0,29 (9,45-10,2)
EWPM	4,01 ± 0,53 (3,45-4,80)	3,53 ± 0,23 (3,15-3,75)	11,76 ± 0,81 (10,45-12,65)	6,56 ± 0,19 (6,30-6,75)	12,23 ± 1,15 (10,80-13,5)	18,11 ± 0,76 (16,80-18,6)	16,05 ± 0,5 (15,6-16,8)
EWU-40	3,60 ± 0,11 (3,45-3,75)	1,50 ± 0,11 (1,35-1,65)	6,86 ± 0,89 (5,40-7,65)	6,64 ± 0,16 (6,45-6,90)	7,65 ± 0,26 (7,50-8,10)	11,03 ± 0,39 (10,50-11,40)	10,99 ± 0,53 (10,22-11,55)
EWU-60	4,54 ± 0,12 (4,35-4,65)	3,38 ± 0,31 (3,15-3,90)	7,84 ± 0,16 (7,65-8,10)	9,45 ± 0,11 (9,30-9,60)	11,74 ± 0,16 (11,55-12,00)	13,76 ± 0,78 (12,90-15,00)	13,54 ± 0,27 (13,20-13,80)

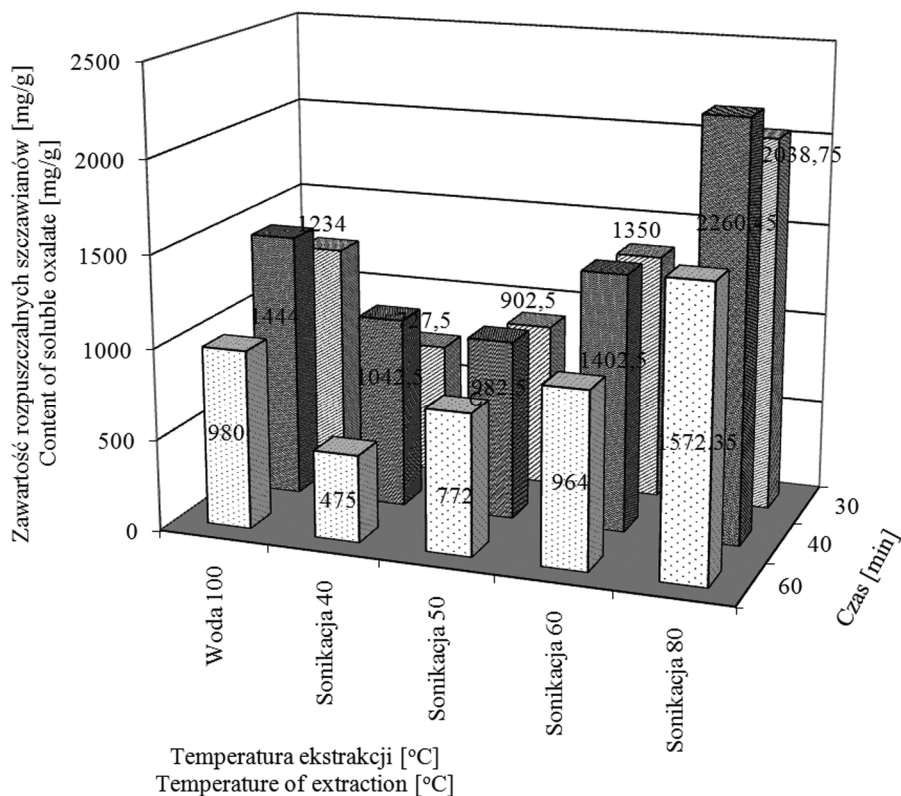
Objaśnienia: / Explanatory notes:

a – kwiaty/kwiatostan / flowers/inflorescence; b – owoce / fruits; c – liście / leaves; d – całe ziele / whole plant;

Pozostałe oznaczenia jak pod tab. 2 / All other explanatory notes as in Tab. 2.

Generalnie, w odniesieniu do herbat i herbatek, najmniejszą wydajnością uwalniania szczawianów do naparu charakteryzowała się metoda ekstrakcji EWU-40, czyli wspomagana ultradźwiękami w temp. 40 °C. Dotyczy to większości badanych herbatek ziołowych, w których po zastosowaniu metody EWU-40 zamiast metody tradycyjnej EWW, nastąpił spadek zawartości szczawianów w naparze o ok. 20 - 40 %, za wyjątkiem herbatki ziołowej rumiankowej i miętovej (tab. 3). W tych dwóch ostatnich przypadkach po zastosowaniu metody EWU-40 stwierdzono ok. 10 - 12 % wzrost zawartości szczawianów, tj. w herbatce rumiankowej z 9,71 (metoda EWW) do 10,99 mg/g s.m. (metoda EWU-40) oraz w herbatce miętovej z 9,52 (EWW) do 11,08 mg/g s.m. (EWU-40). Podobny efekt, czyli 30 - 50 % wzrost zawartości rozpuszczalnych szczawianów w naparze, zaobserwowano w przypadku dwóch herbat zielonych, czyli „Jaśminowej” (liściasta) i „Bio-Active” (saszetki) (tab. 3). Natomiast w przypadku herbat zielonych „Gunpowder” (liściastej) oraz „Sir Roger” (saszetki) sonikacja EWU-40 okazała się o wiele mniej skuteczna ze względu na ilość uzyskiwa-

nych w naparze rozpuszczalnych szczawianów. W zastosowanej trzeciej metodzie ekstrakcji EWU-60 (sonikacja w temp. 60 °C) uzyskano w większości herbat zielonych i herbatek ziołowych wyniki zbliżone do rezultatów oznaczania rozpuszczalnych szczawianów w naparach uzyskanych z zastosowaniem ekstrakcji EWPM, czyli po zastosowaniu ekstrakcji z mikrofalowaniem w temp. 80 °C.



Rys. 2. Zmiany zawartości rozpuszczalnych szczawianów (RSZ) w naparach herbaty zielonej liściastej „Gunpowder” w zależności od zastosowanej metody ekstrakcji wodą o temp. 100 °C (EWW) lub ekstrakcji wspomagananej ultradźwiękami (EWU) w czterech różnych temperaturach (40, 50, 60, 80 °C) oraz od czasu chłodzenia (w temp. -6 °C) wytrąconego z naparu herbaty osadu szczawianu wapnia.

Fig. 2. Changes in the content of soluble oxalates (SO) in the water infusions of „Gunpowder” green tea (mg/g) depending on both the extraction procedure used, i.e. either boiling water extraction at 100 °C (EWW) or ultrasound supported extraction (EWU) at four different temperatures (40, 50, 60, 80 °C) and the cooling time at -6 °C of calcium oxalate precipitated from the final infusion.

Biorąc pod uwagę postać badanych herbat i herbatek, stwierdzono, że – niezależnie od zastosowanej w badaniach metody ekstrakcji – grupą produktów o największej średniej zawartości rozpuszczalnych szczawianów są herbaty zielone liściaste („Gunpowder”, „Zielona z cytryną”) oraz herbatki ziołowe z liści, tj. herbatki z pokrzywy, szalwi i mięty (tab. 2 i 3).

W przypadku zastosowania tradycyjnej metody ekstrakcji EWW największą zawartością rozpuszczalnych szczawianów odznaczał się napar herbaty zielonej „Gunpowder” (12,44 mg/g s.m.) oraz „Zielona z cytryną” (8,39 mg/g s.m.), mniejsze ilości szczawianów oznaczono w herbatach zielonych ekspresowych, zawierających mocno zdeintegrowane części roślin o niezdefiniowanym pochodzeniu, jakie zostały użyte do ich produkcji, np. „Bio-Active” (4,20 mg/g s.m.) oraz „Vitax” (6,30 mg/g s.m.).

Wszystkie użyte w badaniach herbatki ziołowe miały postać tzw. herbatek ekspresowych w jednorazowych saszetkach, z tą różnicą, że surowiec stanowiły różne części roślin: liście, kwiatostany, owoce lub całe rośliny. W przypadku zastosowania tradycyjnej metody ekstrakcji EWW największą ilość szczawianów oznaczono w przypadku herbatek ziołowych liściastych, tj. mięty (9,58 mg/g s.m.), szalwii (13,13 mg/g s.m.) oraz pokrzywy (10,13 mg/g s.m.). Zdecydowanie mniejsze wartości RSZ uzyskano w herbatce z owocu kopru włoskiego (2,48 mg/g s.m.) oraz w herbatce z lipy (4,88 mg/g s.m.). Odstępstwo od tej reguły wykazywały koszyczki rumianku, które charakteryzowały się stosunkowo dużą zawartością rozpuszczalnych szczawianów w naparze uzyskanym metodą EWW na poziomie 9,71 mg/g s.m. (tab. 3).

Analiza statystyczna wyników ($N = 486$) wykazała, że oznaczone średnie zawartości rozpuszczalnych szczawianów w badanych naparach różnią się istotnie ze względu na postać handlową produktu ($p = 0,0001$), rodzaj herbaty ($p = 0,0099$), jak i sposób zastosowanej ekstrakcji ($p = 0,0001$).

W nielicznych opublikowanych dotychczas rezultatach badań dotyczących zawartości rozpuszczalnych szczawianów w naparach herbatek ziołowych, otrzymanych tradycyjną metodą ekstrakcji EWW, w przypadku herbatki miętovej uzyskano wyniki w zakresie od 0,2 do 0,7 mg/100 g s.m. [9], z zastrzeżeniem, że zastosowano nie tylko inną metodę analityczną (wysokosprawną chromatografię cieczową, HPLC), ale także niższą temperaturę wody do ekstrakcji EWW (70 °C, przez 5 min) oraz mniejszą naważkę próbki, tj. 1,25 g na 200 cm³ naparu. W tych samych badaniach, dotyczących produktów oferowanych w Niemczech, średnia zawartość rozpuszczalnych szczawianów wynosiła: 0,3 mg/100 g s.m. w herbatce rumiankowej (naważka 1,5 g), 1,3 mg/100 g s.m. w herbatce z kopru (3,5 g), 41,2 mg/100 g s.m. w herbatce z szalwi (liście) i 0,6 mg/100 g s.m. w herbatce „owocowej” o niezdefiniowanym składzie (naważka 3,0 g) [9]. W badaniach Charriera i wsp. [3] oznaczona metodą HPLC średnia zawartość rozpuszczalnych szczawianów w naparach sporządzonych metodą EWW w temp. 90 °C (250 cm³, 5 min) wynosiła: 0,21 mg/g w ekspresowej herbatce mięto-

wej, od 0,34 do 0,74 mg/g w rumiankowej, 0,12 mg/g w hibiskusowej i od 0,19 do 3,00 mg/g w herbatce z czarnej porzeczki [3]. W badaniach Tsai i wsp., przy użyciu testów enzymatycznych wykorzystujących bakteryjną oksydazę szczawianową, średnia zawartość szczawianów w herbatkach ziołowych dostępnych na Tajwanie wynosiła 3,375 mg/100 g s.m. [22]. Według McKay i wsp. [16] w ekspresowych herbatkach ziołowych oferowanych w Kanadzie zawartość rozpuszczalnych szczawianów w świeżo sporządzonym naparze (wrząca woda – 250 cm³, 5 min) wynosiła 6,93 mg/dm³ w herbatce miętovej, 4,95 mg/dm³ w herbatce z rumianku (kwiatostan) oraz 47,97 mg/dm³ w herbatce z dzikiej róży. Wyniki te uzyskano stosując do oznaczania szczawianów metodę enzymatyczną.

Opublikowane dotychczas wyniki badań nt. zawartości rozpuszczalnych szczawianów w naparach zielonej herbaty są często nieporównywalne i rozbieżne ze względu na różnorodność stosowanych warunków przygotowania naparów metodą EWW [3, 17], niustalonego wpływu obecności substancji przeszkadzających [9], jak i niejednolitej metodyki oznaczania tego związku [3, 9, 17, 22]. Według Charriera i wsp. [3] w Nowej Zelandii średnia zawartość rozpuszczalnych szczawianów w naparach herbat zielonych sprządzonych metodą EWW w temp. 90 °C (przez 5 min) wynosiła 0,68 mg/g s.m. (zakres od 0,24 do 1,15 mg/g s.m.). W herbatach zielonych sprzedawanych na Tajwanie średnia zawartość szczawianów oznaczona metodą enzymatyczną wynosiła 4,59 mg/100 g s.m. [22]. W obszernych badaniach Honow i Hessego [9] ustalono, że średnia zawartość rozpuszczalnych szczawianów w naparach zielonej herbaty sprzedawanej na terenie Niemiec wynosiła 6,3 mg/100 g s.m. (zakres od 0,9 do 19,6 mg/100 g s.m.), przy czym wykorzystano naważkę 1,75 g zielonej herbaty i 200 cm³ wody do sporządzenia naparu, a ekstrakcję EWW prowadzono w temp. 70 °C przez 5 min. Według Massey'a zawartość rozpuszczalnych szczawianów mieści się w zakresie od 6 do 26 mg na 100 cm³ tradycyjnie sporządzanego naparu zielonej herbaty [15]. Według McKay i wsp. [16] w ekspresowych herbatach zielonych oferowanych w Kanadzie zawartość rozpuszczalnych szczawianów w świeżo sporządzonym naparze (wrząca woda, 250 cm³, 5 min) wynosiła 47,97 mg/dm³ (metoda enzymatyczna). Natomiast Noonan i wsp. [17] podają, że zawartość rozpuszczalnych szczawianów w zielonej herbacie może zawierać się w przedziale od 300 do 2000 mg/100 g s.m.

Pomimo tego, że herbaty zielone i herbatki ziołowe zaliczane są przez żywieniowców w wielu krajach do środków spożywczych o małej (poniżej 2 mg) i średniej (od 2 do 10 mg) zawartości rozpuszczalnych szczawianów w porcji 250 cm³ napoju [3, 8, 15, 17], a biodostępność kwasu szczawowego z takich produktów nie przekracza 5 - 6 % [15, 17, 21], to niniejsze badania wskazują, że codzienne spożycie zarówno herbat zielonych, jak i herbatek ziołowych, pomimo ich wielu cennych właściwości prozdrowotnych, powinno być ograniczone do 2,5 litra z uwagi na potencjalnie niekorzystne skutki zdrowotne spożycia nadmiaru szczawianów zawartych w tych naparach [3, 9,

15, 16, 17]. Dotyczy to szczególnie herbat zielonych pozyskiwanych często z niepełnowartościowego i niestandardyzowanego surowca roślinnego.

Wnioski

1. Na zawartość oznaczanych rozpuszczalnych szczawianów w herbatach ma wpływ sposób przygotowywania naparu (metoda ekstrakcji). W większości przypadków badane herbaty zielone i herbatki ziołowe zaparzone metodą ekstrakcji wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym (EWPM) charakteryzowały się większą zawartością szczawianów w porównaniu z naparami uzyskanymi metodą tradycyjną (wrzątek) lub metodą z wykorzystaniem ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami.
2. Największą średnią zawartość rozpuszczalnych szczawianów oznaczono w naparach uzyskanych metodą ekstrakcji wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym w temp. 80 °C (EWPM) w herbatach zielonych liściastych (14,89 mg/g s.m. „Gunpowder”, 14,36 mg/g s.m. „Jaśminowa”). Mniejszą zawartością charakteryzowały się napary uzyskane tą samą metodą z tzw. herbat zielonych ekspresowych w saszetkach, np. „Vitax” 7,73 mg/g s.m.
3. Herbaty i herbatki liściaste, zarówno zielone, jak i ziołowe, charakteryzują się wyższą zawartością rozpuszczalnych szczawianów, w porównaniu z herbatami i herbatkami uzyskanymi z innych części roślin, co wynika z anatomicznego rozmieszczenia szczawianów w roślinie. Wynik taki uzyskano niezależnie od zastosowanego w przeprowadzonych badaniach sposobu ekstrakcji.
4. Ze względu na zawartość rozpuszczalnych szczawianów, objętość i ilość spożywanych w ciągu dnia naparów herbatek ziołowych, jak i herbat zielonych powinna być kontrolowana i limitowana, zwłaszcza w przypadku osób chorych z zaburzeniami funkcjonowania nerek i ze skłonnościami do występowania kamicy nerkowej.

Literatura

- [1] Caliskan M.: The metabolism of oxalic acid. *Turk. J. Zool.*, 2000, **24**, 103-106.
- [2] Chang Ch. J., Chiu K. L., Chen Y. L., Chang Ch. Y.: Separation of catechins from green tea using carbon dioxide extraction. *Food Chem.*, 2000, **68**, 109-113.
- [3] Charrier M.S., Savage G.P., Vanhanen L.: Oxalate content and calcium binding capacity of tea and herbal teas. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 2002, **11** (4), 298-301.
- [4] Dmowski P., Śmiechowska M.: Wykorzystanie włókna surowego do wykrywania zafałszowań w herbacie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **3** (58), 116-122.
- [5] Galli V., Barbas C.: Capillary electrophoresis for the analysis of short-chain organic acids in coffee. *J. Chromatogr. A*, 2004, **1032**, 299-304.
- [6] Gasińska A., Gajewska D.: Tea and coffee as the main sources of oxalate in diets of patients with kidney oxalate stones. *Rocz. PZH*, 2007, **58** (1), 61-67.
- [7] Gawęda M.: Zawartość szczawianów w roślinach szczawiu zwyczajnego (*Rumex acetosa L.*), pozyskiwanego ze stanowisk naturalnych. *Rocz. Akad. Rol. w Poznaniu*, 2007, **383**, 471-475.


- [8] Holmes R.P., Assimos D.G.: The impact of dietary oxalate on kidney stone formation. *Urol. Res.*, 2004, **32** (5), 311-316.
- [9] Honow R., Hesse A.: Comparison of extraction methods for the determination of soluble and total oxalate in foods by HPLC-enzyme-reactor. *Food Chem.*, 2002, **78**, 511-521.
- [10] Jabłonowski W.: Zawartość szczawianów w niektórych roślinnych produktach żywnościowych. *Rocz. PZH*, 1964, **15** (4), 411-420.
- [11] Jin Y., Jin Ch. H., Row K. H.: Separation of catechin compounds from different teas. *Biotechnol. J.*, 2006, **1**, 209-213.
- [12] Kim Y. E., Hong S. H., Kim J. W., Lee J. Y.: Evaluation of Fourier transform near-infrared spectrometer for determination of oxalate in standard urinary solution. *L. Prev. Med. Public. Health.*, 2006, **39** (2), 165-170.
- [13] Krawczyk P., Drużyńska B.: Porównanie oznaczania zawartości katechin w liściach zielonej i czarnej herbaty metodą wanilinową i metodą HPLC. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **3** (58), 116-122.
- [14] Lane B.G.: Oxalate, germin, and the extracellular matrix of higher plant. *FASEB J.*, 1994, **8** (3), 294-301.
- [15] Massey L.K.: Food oxalate: Factors affecting measurement, biological variation, and bioavailability. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2007, **107** (7), 1191-1194.
- [16] McKay D., Seviour P., Comerford A., Vasdev S., Massey M.K.: Herbal tea: An alternative to regular tea for those who form calcium oxalate stones, *J. Am. Diet. Assoc.*, 1995, **95** (3), 360-361.
- [17] Noonan S.C., Savage G.P.: Oxalate content of foods and its effect on humans. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 1999, **8** (1), 64-74.
- [18] Ohkawa H.: Gas chromatographic determination of oxalic acid in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1985, **68** (1), 108-111.
- [19] Perez-Ruiz T., Martinem-Lozano C., Tomas V., Fenoli J.: Chemiluminescent determination of oxalate based on its enhancing effect on the oxidation of methyl red by dichromate. *Anal. Chim. Acta*, 2005, **552** (1-2), 147-151.
- [20] Row K. H., Jin Y.: Recovery of catechin compounds from Korean tea by solvent extraction. *Biore-sour. Technol.*, 2006, **97**, 790-793.
- [21] Savage G.P., Charrier M.J.S., Vanhanen L.: Bioavailability of soluble oxalate from tea and the effect on consuming milk with the tea. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2003, **57** (3), 415-419.
- [22] Tsai J.Y., Huang J.K., Wu T.T., Lee Y.H.: Comparison of oxalate content in foods and beverages in Taiwan. *J. Taiwan Urol. Assoc.*, 2005, **16** (3), 93-98.
- [23] Yoshida Y., Kiso M., Goto T.: Efficiency of the extraction of catechins from green tea. *Food Chem.*, 1999, **67**, 429-433.

EFFECT OF EXTRACTION CONDITIONS ON THE SOLUBLE OXALATE CONTENT IN WATER INFUSIONS OF GREEN AND HERBAL TEAS

S u m m a r y

The objective of this research was to compare the content of soluble oxalates (SO) in water infusions of green and herbal teas made using four different extraction procedures, i.e. a traditional extraction procedure with boiling water of 100°C, a microwave radiation supported extraction at 80 °C (EWPM), and an ultrasound supported extraction at 40°C (EWU-40) and at 60 °C.

The average SO content in the water infusions analyzed, determined by a manganometric method, was the highest after the microwave EWPM procedure of extraction was applied; it ranged from 7.73 to 14.89 mg/g (dry mass) as for the green teas and from 3.53 to 18.11 mg/g as for the herbal teas. The lowest values were obtained after the use of ultrasound EWU-40 procedure; those values ranged from 5.06 to 10.88 mg/g as for green teas, and from 1.5 to 11.03 mg/g as for herbal teas. In the case of herbal teas delivered for the analysis in tea bags for instant brewing, a significant dependency was found between the SO amounts determined and the kind of anatomical parts of the initial raw material. Similarly to the green teas, the water infusions prepared from whole herbal tea leaves with the use of EWPM procedure were characterized by the highest SO content, for example: peppermint tea: 18.11 mg/g; sage tea: 12.23 mg/g; and nettle tea: 11.76 mg/g. In the case of fennel fruit (seed) tea, the content of soluble oxalate determined was at a level of 3.53 mg/g of dry matter of the product, and in the case of linden inflorescence tea: at a level of 4.01 mg/g of dry matter. The exception in this group was the camomile inflorescence tea with a 16.05 mg/g of SO content determined. The results obtained can be applied to standardize analytical procedures used to determine SO contents in imported green teas and local herbal teas for such purposes as: identification of the country and region of origin of a given tea; fixing the harvesting period and determining the type of production process; finding admixtures and stating/excluding falsification; verifying the declared expiration date; and confirming the healthful properties (quality) of those products.

Key words: oxalic acid, oxalates, green tea, herbal tea, extraction, microwave radiation, ultrasounds 

BARBARA WÓJCIK-STOPCZYŃSKA, PAULINA JAKOWIENKO,
DOROTA JADCZAK

OCENA MIKROBIOLOGICZNEGO ZANIECZYSZCZENIA ŚWIEŻEJ BAZYLI I MIĘTY

Streszczenie

Celem badań było określenie stanu mikrobiologicznego różnych odmian bazylii i gatunków mięty, bezpośrednio po zbiorze roślin. Badaniami objęto cztery odmiany bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum*): 'Fine Verde', 'Genovese', 'Red Rubin' i 'Wala' oraz ziele mięty: pieprzowej białej (*Mentha x piperita* f. *pallescens*), cytrynowej (*Mentha x piperita* var. *citrata*), kędzierzawej (*Mentha crispa*) i nadwodnej (*Mentha aquatica*). Ocenie poddano ulistnione, niemyte pędy ziół, które zbierano w fazie tuż przed kwitnieniem. Stwierdzono, że ogólna liczba bakterii mezofilnych tlenowych, drożdży i pleśni mieściła się na poziomie odpowiednio: $10^4 - 10^6$, $10^3 - 10^5$ oraz $10^2 - 10^5$ jtk·g⁻¹. Poszczególne odmiany bazylii oraz gatunki mięty różniły się istotnie zanieczyszczeniem przez bakterie, drożdże i pleśnie. W bazylii średnia liczba bakterii i grzybów pleśniowych wynosiła odpowiednio 10^6 oraz 10^4 jtk·g⁻¹ i była istotnie wyższa niż w mięcie, w której wynosiła 10^5 i 10^3 jtk·g⁻¹. Jednak zgodnie z kryteriami systemu HACCP, większość badanych ziół odznaczała się średnim stopniem zanieczyszczenia przez drobnoustroje mezofilne i jedynie w bazylii 'Fine Verde' był on wysoki. Zastrzeżenia budził stan sanitarno-higieniczny mięty cytrynowej oraz bazylii 'Red Rubin', w których wykryto skażenie przez bakterie *E. coli*. Miano bakterii z grupy *coli* mieściło się w przedziale >0,1 - 0,001g. W żadnym z badanych surowców nie występowały pałeczki *Salmonella* sp. oraz gronkowce koagulazododatnie. We wszystkich odmianach bazylii i gatunkach mięty grzyby pleśniowe były reprezentowane głównie przez *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. i *Botrytis* sp.

Słowa kluczowe: świeże zioła, bazylia, mięta, zanieczyszczenie mikrobiologiczne

Wprowadzenie

Zioła cieszą się powszechnym zastosowaniem jako środki przyprawowe, farmaceutyczne i kosmetyczne. Wiele badań poświęca się możliwościom wykorzystania ich właściwości przeciwutleniających i przeciwdrobnoustrojowych w konserwowaniu i przechowywaniu artykułów żywnościowych [5, 6]. Rosnące zapotrzebowanie na

Dr hab. B. Wójcik-Stopczyńska, mgr inż. P. Jakowienko, Zakład Technologii Rolnej i Przechowywania Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, dr hab. D. Jadczyk prof. ZUT, Katedra Warzywnictwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Janosika 8, 71-424 Szczecin

surowce zielarskie sprawia, że do uprawy ziół wprowadza się nowe lub mniej rozpowszechnione odmiany i gatunki – bardziej wydajne w plonowaniu, odznaczające się dobrymi cechami sensorycznymi oraz wysoką aktywnością biologiczną.

Ze względu na niską trwałość świeżych ziół są one zwykle przetwarzane na susze. Wygodną i dobrą metodę konserwowania stanowi też zamrażanie. Wyniki badań wskazują na często silne zanieczyszczenie mikrobiologiczne suszonych ziół przyprawowych [10, 23] i leczniczych [4]. Także w ziołach zamrożonych utrzymuje się niekiedy wysoka liczba mikroorganizmów [27]. Zanieczyszczenie drobnoustrojami ziół zarówno świeżych, jak i utrwalonych, może być przyczyną ich zepsucia, zmian cech sensorycznych oraz stanowić zagrożenie zdrowotne, z uwagi na możliwość występowania mikroflory patogennej i mikotoksyn [8, 28].

Badania mikrobiologiczne ziół dotyczą głównie produktów suszonych, których mikroflora kształtowana jest przez wiele czynników o pierwotnym i wtórnym charakterze [13]. Mniej jest natomiast prac charakteryzujących zanieczyszczenie mikrobiologiczne świeżych surowców ziołowych [12], od którego w znacznym stopniu zależy jakość otrzymanych produktów [27]. Jednym z podstawowych źródeł kontaminacji surowców roślinnych przez drobnoustroje jest środowisko uprawy.

Celem niniejszych badań była ocena stanu mikrobiologicznego ziela różnych odmian bazylii pospolitej oraz gatunków mięty, przeprowadzona bezpośrednio po zbiorze tych surowców.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiło ziele czterech odmian bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum*): ‘Fine Verde’, ‘Genovese’, ‘Red Rubin’ i ‘Wala’ oraz trzech gatunków mięty: pieprzowej (*Mentha piperita*) – w tym mięty białej (*Mentha x piperita* f. *pallenscens*), cytrynowej (*Mentha x piperita* var. *citrata*), kędzierzawej (*Mentha crispa*) i nadwodnej (*Mentha aquatica*).

Ziola pochodziły z upraw Katedry Warzywnictwa ZUT w Szczecinie, prowadzonych w stacji doświadczalnej w Dołujach. Ocenie poddano niemyte, zdrowe, ulistnione pędy zbierane w fazie tuż przed kwitnieniem. Badania przeprowadzano w dniu zbioru, po ok. 2 h od momentu pobrania próbek ziół (o masie ok. 1 kg). Analiza mikrobiologiczna obejmowała: ogólną liczbę bakterii mezofilnych tlenowych oraz ich przetrwalników - wg PN-ISO 4833 [20], liczbę drożdży i grzybów pleśniowych – wg PN-ISO 7954 [22], miano *coli* – wg PN-90/A-75052/11 [17] oraz występowanie *Escherichia coli* (w 1 g) – wg PN-90/A-75052/12 [18], pałeczek *Salmonella* sp. (w 25 g) - wg PN-ISO 6579 [21] i gronkowców koagulazododatnich (w 0,1 g) – wg PN-EN ISO 6888-1 [19]. Ponadto na podstawie cech makro- i mikroskopowych kolonii [7, 14, 25] określano skład jakościowy grzybów pleśniowych, wyizolowanych z badanych próbek ziół.

Posiewy każdej z prób ziół przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Liczbę drobnoustrojów wyrażano jako jednostki tworzące kolonie w 1 g produktu ($\text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$) i transponowano je do postaci logarytmicznej ($\log \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$). Wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji. Za pomocą testu Tukey'a obliczono ($\alpha = 0,05$) istotność różnic między średnimi liczbami bakterii, drożdży i pleśni w poszczególnych odmianach bazylii oraz gatunkach mięty, a także istotność różnic między średnimi liczbami tych drobnoustrojów w bazylii i mięcie.

Wyniki i dyskusja

Wyniki oceny zanieczyszczenia badanych odmian bazylii pospolitej oraz różnych gatunków mięty przez bakterie, drożdże i grzyby pleśniowe zamieszczono w tab. 1. Liczba bakterii mezofilnych tlenowych mieściła się przedziale od $4,56 \log \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ ($3,63\cdot 10^4 \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$) w mięcie kędzierzawej, do $6,56 \log \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ ($3,63\cdot 10^6 \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$) w bazylii 'Fine Verde'. Zamieszczone dane wskazują, że bakterie były reprezentowane głównie przez formy wegetatywne. Liczba przetrwalników mezofilnych mieściła się na poziomie 10^2 - $10^4 \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$, a ich udział w ogólnej liczbie bakterii (obliczony na podstawie $\text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$, jako procentowy stosunek liczby przetrwalników do całkowitej liczby bakterii), był niewielki i wynosił średnio 2,1 %.

W badanym materiale liczba drożdży wahała się od $3,35 \log \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ ($2,24\cdot 10^3 \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$) w bazylii 'Genovese' do $5,24 \log \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ ($1,74\cdot 10^5 \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$) w mięcie nadwodnej. Liczba pleśni mieściła się na poziomie 10^2 - $10^5 \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ ($2,13$ - $5,41 \log \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$). Najwięcej grzybów pleśniowych występowało w bazylii 'Fine Verde', a najmniej w mięcie cytrynowej.

Statystyczna analiza wyników (tab. 1) wykazała, że poszczególne odmiany bazylii oraz gatunki mięty różniły się istotnie między sobą liczbami bakterii, drożdży i pleśni. Stwierdzono też, że w bazylii pospolitej średnia liczba bakterii i grzybów pleśniowych mieściła się na poziomie odpowiednio 10^6 oraz $10^4 \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ ($6,21$ i $4,62 \log \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$) i była istotnie wyższa (o rząd wielkości) niż przeciętne zanieczyszczenie przez te drobnoustroje ziół z rodzaju mięta (wynosiło ono odpowiednio $5,60$ oraz $3,28 \log \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$). Średnia liczba drożdży w bazylii oraz mięcie wynosiła $10^4 \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$ i była do siebie zbliżona ($4,00$ oraz $4,17 \log \text{jtk}\cdot\text{g}^{-1}$).

W tab. 2. przedstawiono wyniki oceny składu jakościowego grzybów pleśniowych wyizolowanych z ocenianych odmian bazylii oraz gatunków mięty.

Tabela 1

Ogólna liczba bakterii mezofilnych tlenowych, drożdży i pleśni w badanej bazylia i mięcie.
Total counts of mesophilic aerobic bacteria, yeasts, and moulds in basil and mint analyzed.

Zioła Herbs	Bakterie mezofilne tlenowe [log jtk·g ⁻¹] Aerobic mesophilic bacteria [log cfu·g ⁻¹]		Drożdże [log jtk·g ⁻¹] Yeasts [log cfu·g ⁻¹]	Pleśnie [log jtk·g ⁻¹] Moulds [log cfu·g ⁻¹]
	Liczba ogólna Total count	Przetrwalniki Spores		
I. Bazylia / Basil (<i>O. basilicum</i>):				
Fine Verde	6,56	4,33	4,23	5,41
Genovese	6,15	4,12	3,35	4,34
Red Rubin	6,30	4,57	4,14	4,39
Wala	5,83	4,75	4,30	4,33
\bar{X}	6,21	4,44	4,00	4,62
NIR _{0,05} / LSD _{0,05}	0,143	0,05	0,156	0,03
II. Mięta / Mint (<i>Mentha</i>):				
<i>M. piperita</i> f. <i>pallescens</i>	6,12	4,48	3,39	4,83
<i>M. piperita</i> var. <i>citrata</i>	6,10	3,11	4,47	2,13
<i>M. crispa</i>	4,56	2,32	3,58	2,95
<i>M. aquatica</i>	5,63	3,53	5,24	3,22
\bar{X}	5,60	3,36	4,17	3,28
NIR _{0,05} / LSD _{0,05}	0,139	0,048	0,109	0,043
NIR _{0,05} dla I i II LSD _{0,05} for I and II	0,601	0,486	r.n., n.s.	0,528

Pleśnie obecne w badanym materiale należały łącznie do 11 rodzajów, jednak we wszystkich badanych ziołach stwierdzono obecność pleśni trzech rodzajów: *Alternaria*, *Botrytis* oraz *Cladosporium*. Z nieco mniejszą częstotliwością występowały pleśnie z rodzaju *Fusarium*, a w dalszej kolejności *Penicillium* sp. oraz *Aspergillus* sp. i *Trichoderma* sp., następnie *Mucor* sp. *Rhizopus* sp., *Aureobasidium* sp. i pojedynczo – *Phoma* sp. Najliczniej reprezentowane były pleśnie z rodzajów *Alternaria* i *Cladosporium*, których średni udział w ogólnej liczbie wyizolowanych szczepów wynosił odpowiednio 28,1 i 24,4 %. Mniejszy był udział szczepów *Botrytis* sp., (16,8 %), natomiast w przypadku pozostałych szczepów wahał się on w przedziale od 8,5 % (*Penicillium* sp.) do 0,8 % (*Phoma* sp.).

Z uwagi na bezpieczeństwo zdrowotne ważny jest stan sanitarno-higieniczny ziół. Przeprowadzone badania wykazały (tab. 3), że miano coli większości ocenianych ziół wynosiło >0,1 - 0,1g, w mięcie nadwodnej i cytrynowej stwierdzono poziom 0,01 g, natomiast najniższe (0,001 g) było w bazylia 'Red Rubin'. W tej odmianie bazylia oraz w mięcie cytrynowej wykryto również skażenie przez bakterie *E. coli*. W żadnej z badanych prób mięty i bazylia nie występowały natomiast pałeczki *Salmonella* sp. oraz gronkowce koagulazododatnie.

Tabela 2

Skład jakościowy grzybów pleśniowych.
Quality composition of moulds.

Jednostka systematyczna Taxonomy unit	Udział % ogólnej liczby szczepów wyizolowanych z badanych ziół Percent content in total count of strains isolated from herbs analyzed								
	\bar{X}	B1	B2	B3	B4	M1	M2	M3	M4
<i>Alternaria sp.</i>	28,1	66,2	12,8	22,0	22,2	32,2	16,8	21,0	31,8
<i>Aspergillus sp.</i>	5,6	6,8	-	4,0	8,3	-	9,6	16,2	-
<i>Aureobasidium sp.</i>	1,8	-	8,5	-	-	-	-	1,6	4,7
<i>Botrytis sp.</i>	16,8	13,5	14,9	16,0	22,2	27,4	7,2	21,0	11,8
<i>Cladosporium sp.</i>	24,4	10,8	42,5	24,0	13,9	19,4	42,8	6,4	35,3
<i>Fusarium sp.</i>	3,6	2,7	2,1	8,0	-	4,8	2,3	6,4	2,3
<i>Mucor sp.</i>	2,4	-	-	10,0	-	-	-	4,8	4,7
<i>Penicillium sp.</i>	8,5	-	12,8	4,0	8,3	4,8	19,0	19,4	-
<i>Phoma sp.</i>	0,8	-	6,4	-	-	-	-	-	-
<i>Rhizopus sp.</i>	3,2	-	-	-	13,9	8,2	-	3,2	-
<i>Trichoderma sp.</i>	4,8	-	-	12,0	11,2	3,2	2,3	-	9,4

Objaśnienia / Explanatory notes:

B – bazylia / basil (B1 – Fine Verde, B2 – Genovese, B3 – Red Rubin, B4 – Wala), M – mięta / mint (M1 – *M. piperita* f. *pallescens*, M2 – *M. piperita* var. *citrate*, M3 – *M. crispa*, M4 – *M. aquatica*).

Tabela 3

Wskaźniki sanitarno-higieniczne ocenianych ziół.
Hygienic parameters of tested herbs.

Zioła Herbs	Miano <i>coli</i> Titre of coliform	<i>E. coli</i> [w 1g] [in 1g]	Gronkowce koagulazododatnie Staphylococci coagulase (+) [w 0,1g] [w 0,1g]	<i>Salmonella</i> sp. [w 25g] [in 25g]
Bazylia / Basil (<i>O. basilicum</i>): Fine Verde Genovese Red Rubin Wala	0,1 0,1 0,001 0,1	-* - obecna / present -	nie stwierdzono w żadnej z badanych prób; not found in any of all the samples analyzed	nie stwierdzono w żadnej z badanych prób; not found in any of all the samples analyzed
Mięta Mint (<i>Mentha</i>): <i>M. piperita</i> f. <i>pallescens</i>	0,1	-		
<i>M. piperita</i> var. <i>citrate</i>	0,01	obecna / present		
<i>M. crispa</i>	>0,1	-		
<i>M. aquatica</i>	0,01	-		

* nieobecne / absent

W dostępnej literaturze brak jest danych dotyczących liczby mikroorganizmów w świeżo zebranej bazylii i mięcie. Liczba bakterii występujących w materiale badanym w tej pracy jest ogólnie niższa niż w ziele kolendry, pietruszki i kopru ($4,61 - 7,48 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$), ocenianym przez Johnston i wsp. [12]. Mieści się natomiast w zakresie $4,3 - 6,8 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$, podawanym przez Aycicek i wsp. [1] w odniesieniu do świeżego kopru i natki pietruszki. Zbliżoną do wykazanej w badaniach własnych, ale bardziej zróżnicowaną liczbą bakterii mezofilnych ($3,9 - 6,7 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$) odznaczały się też świeże, umyte zioła (bazylia, cząber, majeranek i pietruszka naciowa), przygotowane do zamrożenia [27].

Przeprowadzone w pracy badania dowiodły, że w mikroflorze bakteryjnej nieznaczny był udział przetrwalników. Potwierdza to opinię, że świeże surowce roślinne, o wysokiej aktywności wody, charakteryzują się zwykle niską liczbą przetrwalników [29].

Liczba drożdży i pleśni występujących w badanej bazylii i mięcie była zbliżona do wykazanej przez Tournas [26] w świeżej sałacie, pietruszce i szpinaku ($3,2 - 4,95 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$) oraz w przeznaczonych do zamrożenia umytych ziołach ($2,2 - 4,1 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$) [27]. Natomiast większym niż w badaniach własnych zróżnicowaniem ($<100 - 10^8 \text{ jtk/g}$) odznaczała się liczba drożdży i pleśni w świeżo zebranych różnych warzywach, przy czym najwyższy był udział próbek, w których liczba tych drobnoustrojów wynosiła $10^3 - 10^6 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ [16].

Duże zróżnicowanie liczby mikroorganizmów ($10^3 - 10^9 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$) jest charakterystyczne dla nieprzetworzonych surowców roślinnych [16, 28]. Można zatem stwierdzić, że ogólna liczba drobnoustrojów w ziołach badanych w pracy jest typowa dla surowców roślinnych. Na powierzchni ziół po zbiorze mogą bytować głównie drobnoustroje pochodzące ze środowiska naturalnego (gleba, woda, powietrze) oraz mikroflora epifityczna, ale wpływ na stan mikrobiologiczny mają także warunki zbioru i transportu [8, 13]. Wpływ na zróżnicowanie ilościowe i jakościowe mikroflory ma też aktywność metaboliczna roślin [2]. Olejki eteryczne bazylii i mięty wykazują aktywność antymikrobiologiczną [15], ale w przypadku hydrozoli ziołowych notowano też stymulowanie rozwoju niektórych drobnoustrojów [3]. Właściwości te, wraz z cechami morfologiczno-anatomicznymi roślin, odgrywają rolę w tworzeniu nisz ekologicznych, a w efekcie w kształtowaniu mikroflory surowców roślinnych [2].

Pomimo stwierdzonych statystycznie istotnych różnic, występujących między średnią liczbą drobnoustrojów obecnych w poszczególnych odmianach bazylii oraz gatunkach mięty, stopień ich mikrobiologicznego zanieczyszczenia można określić jako średni. Zgodnie bowiem z zaleceniami systemu HACCP, odnoszącymi się do surowej żywności, ogólnej liczbie drobnoustrojów, zawierającej się w przedziałach $<4,0$; $4,0 - 6,5$ oraz $>6,5 - 7,5 \log \text{ jtk/g}$, odpowiada kolejno dobra, średnia i niska jakość mikrobiologiczna [1]. We wszystkich ocenianych ziołach ogólna liczba drobn-

ustrojów mieściła się w zakresie średnim, jedynie w bazylii 'Fine Verde' była wysoka ($>6,5 \log \text{ jtk/g}$).

Przeprowadzone badania wykazały, że mikoflora bazylii i mięty reprezentowana była głównie przez pleśnie pochodzące ze środowiska uprawy, tj. *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. oraz *Botrytis* sp. O wysokim udziale grzybów z rodzajów *Cladosporium* i *Alternaria* w mikoflorze świeżych, niemytych warzyw liściowych donosił Tournas [26]. Wyniki badań Bugno i wsp. [4] wskazują, że w ziołach wysuszonych dominowały wprawdzie pleśnie z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium*, ale obecne były też grzyby występujące w mikoflorze świeżych ziół ocenianych w niniejszej pracy: *Cladosporium* sp. i *Alternaria* sp., a także *Mucor*, *Phoma*, *Rhizopus* i *Trichoderma*. Należy podkreślić, że pleśnie najliczniej występujące w badanej bazylii i mięcie tj. *Alternaria* i *Cladosporium*, a także *Fusarium*, *Penicillium* i *Trichoderma* stanowią potencjalne zagrożenie dla jakości i bezpieczeństwa surowca, ze względu na możliwość wytwarzania mikotoksyn [4, 10].

Uzyskane w pracy wyniki wskaźników sanitarno-higienicznych odpowiadają opinii, że w surowcach ziołowo-przyprawowych dość powszechna jest obecność bakterii *coli*, ale gronkowce i pałeczki *Salmonella* występują z mniejszą częstotliwością [29]. W odniesieniu do kryteriów mikrobiologicznych dotyczących świeżych surowców [1], stan sanitarno-higieniczny większości badanych odmian bazylii i gatunków mięty był dobry. Budził zastrzeżenia w przypadku mięty nadwodnej i bazylii 'Red Rubin', w których wykryto obecność bakterii *E. coli*. Aycicek i wsp. [1] wykazali wysokie zanieczyszczenie świeżej sałaty, kopru i pietruszki naciowej przez bakterie z grupy *coli* oraz występowanie *E. coli* w ok. 30 % próbek (spośród 150) tych surowców. Z kolei różne zioła rosące w doniczkach, w tym bazylii i mięta, były wolne zarówno od bakterii *E. coli*, jak również pałeczek *Salmonella* sp. i gronkowców [11]. Jednym z głównych źródeł zanieczyszczenia plonów roślinnych przez bakterie patogenne jest najczęściej środowisko uprawy [8, 24].

Hsu i wsp. [9] udowodnili, że bakterie *E. coli* i *Salmonella* zaszczepione na świeżych liściach oregano, bazylii, pietruszki, rozmarynu i kolendry mogą przeżyć w ciągu normalnego okresu dystrybucji ziół. Jeśli więc dojdzie do zanieczyszczenia przez te bakterie, zioła stanowią potencjalne źródło zatruc pokarmowych. Ma to szczególne znaczenie wobec wyników badań [12] wskazujących na stosunkowo niską efektywność mycia. Stwierdzono bowiem, że mycie i odwirowanie wody z ziela kolendry, kopru i pietruszki, przed ich zapakowaniem i dystrybucją, nie spowodowało istotnego obniżenia ogólnej liczby bakterii oraz bakterii z grupy *coli* i *E. coli*. Przyczyną niskiej niekiedy skuteczności mycia jest tworzenie biofilmów na powierzchni surowców roślinnych. Badania biofilmu liści bazylii, endywii i pietruszki wykazały, że obejmował on ok. 40 % populacji bakterii. Biofilmy mogą ułatwiać drobnoustrojom patogennym miejsca kolonizacji na powierzchni roślin i utrudniać ich sanityzację [2]. Dlatego umy-

te zioła – świeże, jak też utrwalone – odznaczają się niekiedy nie tylko wysokim zanieczyszczeniem przez drobnoustroje saprofityczne, ale także występowaniem bakterii mogących powodować zatrucia pokarmowe [4, 23, 27].

Podsumowując, można powiedzieć, że znajomość stopnia zanieczyszczenia przez drobnoustroje ziół świeżo zebranych, może wskazywać na potrzebę ich jak najszybszego utrwalenia, aby ograniczyć rozwój mikroflory i otrzymać dzięki temu produkty zielarskie o dobrej jakości mikrobiologicznej.

Wnioski

1. W świeżo zebranej bazylii średnia liczba bakterii mezofilnych tlenowych i pleśni wynosiła odpowiednio 10^6 oraz 10^4 jtk·g⁻¹ i była istotnie wyższa niż w mięcie, w której wynosiła 10^5 oraz 10^3 jtk·g⁻¹. Przeciętne zanieczyszczenie tych surowców przez drożdże było do siebie zbliżone i wynosiło 10^4 jtk·g⁻¹.
2. Wskaźniki zanieczyszczenia sanitarnego ziół rosnących w tych samych warunkach były zróżnicowane. Niezadowolający stan sanitarno-higieniczny bazylii ‘Red Rubin’ i mięty cytrynowej (skażenie przez *Escherichia coli* oraz obniżone miano bakterii z grupy *coli*) mógł wynikać z niższej aktywności biobójczej tych ziół.
3. W mikoflorze wszystkich odmian bazylii pospolitej i gatunków mięty występowały głównie grzyby pleśniowe pochodzące ze środowiska uprawy: *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp. i *Botrytis* sp.

Literatura

- [1] Aycicek H., Oguz U., Karci K.: Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. Int. J. Hyg. Environ.-Health, 2006, **209**, 197-201.
- [2] Beuchat L.R.: Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. Microbes and Infection, 2002, **4**, 413-423.
- [3] Boyraz N., Özcan M.: Antifungal effect of some spice hydrosols. Fitoterapia, 2005, **76**, 661-665.
- [4] Bugno A., Almodovar A., Pereira T., Pinto T., Sabino M.: Occurrence of toxigenic fungi in herbal drugs. Brazilian J. Microbiol., 2006, **37**, 47-51.
- [5] Burt S.: Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International J. Food Microbiol., 2004, **94**, 223-253.
- [6] Ćwiertniewski K., Polak E.: Zastosowanie naturalnych antyoksydantów w chłodzonych i mrożonych produktach mięsnych. Przem. Spoż., 2007, **5**, 45-46.
- [7] Domsch K. H., Gams W., Anderson T. H., 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press, London 1980.
- [8] Doyle M.P., Erickson M.C.: Summer meeting 2007 – the problems with fresh produce: an overview. J. Appl. Microbiol., 2008, **105**, 317-330.
- [9] Hsu W.-Y., Simonne A., Jitareerat P.: Fates of seeded *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on selected fresh culinary herbs during refrigerated storage. J. Food Prot., 2006, **8** (69), 1997-2001.

- [10] Janda-Ulfig K., Ulfig K.: Susze ziołowe i przyprawy jako źródło mikotoksyn. *Przem. Spoż.*, 2008, **3**, 36-38.
- [11] Johannessen G.S., Loncarevic S., Kruse H.: Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **77**, 199-204.
- [12] Johnston L., Jaykus L.A., Moll D., Anciso J., Mora B., Moe C.L.: A field study of the microbiological quality of fresh produce of domestic and Mexican origin. *International J. Food Microbiol.*, 2006, **112** (2), 83-95.
- [13] Kędzia B.: Drogi zanieczyszczenia surowców zielarskich drobnoustrojami. *Herba Polonica*, 2002, **1**, 35-51.
- [14] Klich M. A.: Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht 2000.
- [15] Moreira M.R., Ponce A.G., Valle C.E., Roura S.I.: Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT*, 2005, **38**, 565-570.
- [16] Nguz K., Shindano J., Samapundo S., Huyghebaert A.: Microbiological evaluation of fresh-cut organic vegetables produced in Zambia. *Food Control*, 2005, **16**, 623-628.
- [17] PN-90/A-75052/11. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie obecności, miana i najbardziej prawdopodobnej liczby pałeczek z grupy coli.
- [18] PN-90/A-75052/12. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie obecności i miana pałeczek *Escherichia coli*
- [19] PN-EN ISO 6888-1:2000. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby gronkowców koagulazododatnich (*Staphylococcus aureus* i innych gatunków). Część 1: metoda z zastosowaniem pożywki agarowej Baird-Parkera.
- [20] PN-ISO 4833:1998. Mikrobiologia. Ogólne zasady oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w 30°C.
- [21] PN-ISO 6579:1998. Mikrobiologia. Ogólne zasady metod wykrywania pałeczek Salmonella.
- [22] PN-ISO 7954:1999. Mikrobiologia. Ogólne zasady oznaczania drożdży i pleśni. Metoda płytkowa w 25°C.
- [23] Remiszewski M., Kulczak M., Jeżewska M., Korbas E., Czajkowska D.: Wpływ procesu dekontaminacji z zastosowaniem pary wodnej na jakość wybranych przypraw. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **3** (48), 23-34.
- [24] Roever de C.: Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. *Food Control*, 1998, **6**, 321-347.
- [25] Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O.: Introduction to food – borne fungi. Centraalbureau voor schimmelcultures. Fifth Edition, Utrecht 1996.
- [26] Tournas V.H.: Moulds and yeasts in fresh minimally processed vegetables and sprouts. *Int. J. Food Microbiol.*, 2005, **99** (1), 71-77.
- [27] Wójcik-Stopczyńska B., Jadczak D.: The effect of freezing storage on microbiological quality of some spice plants. *Res. Vegetable Crops*, 2007, **66**, 85-93.
- [28] Zagory D.: Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. *Postharvest Biol. Technol.*, 1999, **15**, 313-321.
- [29] Żakowska Z., Piątkiewicz A.: Mikroflora pierwotna i wtórna surowców roślinnych, zwierzęcych oraz surowców dodatkowych. W: *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym – pod red. Z. Żakowskiej i H. Stobińskiej*, Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 2000, ss. 387-398.

ASSESSING MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION OF FRESH BASIL AND MINT

S u m m a r y

The objective of this paper was to determine the microbiological quality of various fresh basil varieties and mint species immediately after their harvest on the fields. The research material covered four varieties of basil (*Ocimum basilicum*): 'Fine Verde', 'Genovese', 'Red Rubin', and 'Wala', as well as the following mint herbs: *Mentha x piperita* f. *pallescens*, *Mentha x piperita* var. *citrata*, *Mentha crispera*, and *Mentha aquatica*. Shoots with leaves (unwashed), harvested before blooming, were analyzed. It was found that the total counts of mesophilic bacteria, yeasts, and moulds amounted to 10^4 - 10^6 , 10^3 - 10^5 and 10^2 - 10^5 cfu·g⁻¹, respectively. Individual varieties of basil and individual mint species significantly differed as regards their contamination by bacteria, yeast, and moulds. In the basil, the average count of bacteria and moulds amounted to 10^6 and 10^4 cfu·g⁻¹, respectively, and those count levels were significantly higher than in the mint with those count levels being 10^5 and 10^3 cfu·g⁻¹. However, according to the HACCP requirements, the majority of herbs analyzed were characterized by a medium degree of contamination by mesophilic micro-organisms except for the 'Fine Verde' basil that showed a high contamination degree. The sanitary and hygienic condition of the bergamot mint and 'Red Rubin' basil raised reservations because they were contaminated by *E. coli*. The titre of coliforms oscillated between >0.1 and 0.001g. In no basil and mint samples, *Salmonella* sp. and staphylococci coagulase (+) occurred. In all the basil varieties and mint species, the mould fungi were mainly represented by *Alternaria*, *Cladosporium*, and *Botrytis*.

Key words: fresh herbs, basil, mint, microbiological contamination ☒

RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA, ANETA KOPEĆ

SUPLEMENTACJA DIETY STUDENTÓW WYŻSZYCH UCZELNI WOJEWÓDZTWA MAŁOPOLSKIEGO WITAMINAMI I/LUB SKŁADNIKAMI MINERALNYMI

Streszczenie

Celem pracy była ocena powszechności i częstotliwości suplementacji diety preparatami witaminowymi i/lub witaminowo-mineralnymi wśród studentów sześciu wyższych uczelni Krakowa.

Badaniami ankietowymi objęto grupę 450 kobiet i 293 mężczyzn w wieku 19 - 28 lat, w sezonie letnio-jesiennym i zimowo-wiosennym (2007/2008). Większość studentów deklarowała regularną (11 - 26 % osób z poszczególnych uczelni) lub sporadyczną (38 - 50 %) suplementację diety preparatami witaminowo-mineralnymi. Około 1/3 studentów (29 - 36 %) w ogóle nie uzupełniała swojej diety w żadne witaminy i składniki mineralne. Wykazano, że stosunkowo więcej kobiet niż mężczyzn ($P < 0,05$) uzupełnia swoją dietę suplementami. Najczęściej stosowanymi przez respondentów preparatami były zestawy witaminowo-mineralne, stosowane w szczególności podczas choroby.

Słowa kluczowe: suplementacja diety, witaminy, składniki mineralne, studenci

Wprowadzenie

Suplementacja to indywidualne przyjmowanie składnika odżywczego w formie jedno- lub wieloskładnikowego preparatu, który zależnie od dawki może być suplementem lub lekiem [9]. Poprzez suplementację racji pokarmowej w szybki i prosty sposób można uzupełnić lub zlikwidować występujące w niej niedobory składników odżywczych. Wyniki badań sposobu żywienia wskazują na regularnie powtarzające się niedobory bądź nadmiary niektórych składników odżywczych w racjach pokarmowych różnych grup ludności w naszym kraju. Do najczęściej deficytowych składników należą: witamina C, niektóre witaminy z grupy B, wapń, magnez, żelazo, miedź i inne [2, 11, 13, 15, 19].

Suplementy diety są ogólnodostępnymi środkami spożywczymi przeznaczonymi do uzupełniania całodziennej racji pokarmowej np. w witaminy, składniki mineralne,

aminokwasy lub kwasy tłuszczowe [9]. Jednak zbyt duże i nierozważne ich przyjmowanie może powodować przekroczenie zalecanego dziennego spożycia, a przy przedłużającym się czasie stwarzać ryzyko intoksykacji. Decyzja o przyjmowaniu suplementów powinna być konsultowana ze specjalistą, z uwagi na znaczne różnice w ich ilościowym składzie.

Celem pracy była ocena powszechności przyjmowania suplementów diety w zależności od typu uczelni, płci, pory roku, występowania choroby bądź sesji egzaminacyjnej oraz miejsca zameldowania i zamieszkania w trakcie roku akademickiego. Ponadto oceniono najczęściej przyjmowane rodzaje preparatów witaminowo-mineralnych przez studentów wyższych uczelni Krakowa.

Material i metody badań

Badaniami ankietowymi objęto łącznie 743 studentów (450 kobiet i 293 mężczyzn) w wieku 19 - 28 lat sześciu wyższych uczelni Krakowa: Akademii Górniczo-Hutniczej (AGH), Politechniki Krakowskiej (PK), Uniwersytetu Ekonomicznego (UEK), Uniwersytetu Jagiellońskiego (UJ), Uniwersytetu Pedagogicznego (UP) i Uniwersytetu Rolniczego (UR) (tab. 1), w okresie jesienno-zimowym (2007/2008).

W badaniach wykorzystano kwestionariusz opracowany w Katedrze Żywienia Człowieka Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Kwestionariusz składał się z dwóch części. Pierwsza część zawierała informacje ogólne dotyczące niektórych danych respondenta (wiek, płeć, typ uczelni, miejsce zameldowania i miejsce zamieszkania w trakcie roku akademickiego), natomiast w drugiej zawarto pytania o powszechność (regularne/sporadyczne/brak) suplementacji diety preparatami zawierającymi składniki mineralne i witaminy w okresie ostatniego roku oraz o ich rodzaj. Regularne przyjmowanie diety oznacza przyjmowanie preparatów witaminowych i/lub witaminowo-mineralnych codziennie w badanym okresie, natomiast sporadyczna suplementacja diety tj. rzadkie i nieregularne przyjmowanie preparatów w określonym czasie. Wypełnienie kwestionariusza było dobrowolne i anonimowe.

Wyniki oceniano za pomocą programu SPSS, wykorzystując test χ^2 Pearsona, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$, za pomocą którego stwierdzano, czy istnieje istotna zależność pomiędzy osobami suplementującymi dietę z poszczególnych uczelni (płcią, miejscem zameldowania, miejscem zamieszkania w trakcie roku akademickiego) a powszechnością przyjmowania tych preparatów.

Tabela 1

Udział w badaniach respondentów z poszczególnych uczelni.

Number of respondents from individual universities participating in the survey.

Uczelnie Universities	Respondenci / Respondents					
	kobiety / women		mężczyźni / men		razem / total	
	liczba osób number of persons	n ₁ [%]	liczba osób number of persons	n ₂ [%]	liczba osób number of persons N	N [%]
AGH / University of Science and Technology	67	9,0	97	13,1	164	22,1
PK / Cracow University of Technology	30	4,0	74	10,0	104	14,0
UEK / Cracow University of Economics	22	3,0	7	0,9	29	3,9
UJ / Jagiellonian University	67	9,0	52	7,0	119	16,0
UP / Pedagogical University of Cracow	119	16,0	22	3,0	141	19,0
UR / Agricultural University in Cracow	145	19,5	41	5,5	186	25,0
Ogółem / Total	450	60,5	293	39,5	743	100

Objaśnienia: / Explanatory notes:

n₁ – procent kobiet z ogółu respondentów / percent rate of women from all the respondents,

n₂ – procent mężczyzn z ogółu respondentów / percent rate of men from all the respondents.

Wyniki i dyskusja

Regularne uzupełnianie racji pokarmowych w składniki odżywcze zadeklarowało od 11 do 26 % studentów (tab. 2). Najniższy odsetek dotyczył studentów UEK, zaś najwyższy PK. Równocześnie około 1/5 studentów innych uczelni, tj. UJ, UP i AGH także stosowała suplementy regularnie. Prawie połowa respondentów stwierdziła, że preparaty takie spożywa sporadycznie, natomiast 1/3 studentów (29 - 36 %) w ogóle nie uzupełniała swojej diety w żadne witaminy czy składniki mineralne.

Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy procentowym udziałem studentów z poszczególnych uczelni deklarujących regularne/sporadyczne/brak stosowanie(a) suplementów diety ($p > 0,05$).

Badania Bujko i wsp. [3] przeprowadzone wśród studentów SGGW wykazują, że ponad 60 % respondentów stosowało suplementację diety. Nieznacznie niższy procent respondentów (57,5 %) stosujących suplementację diety stwierdzono w badaniach

Lebiedzińskiej i wsp. [12]. Filipiak-Florkiewicz i wsp. [8] przedstawiły podobne wyniki dotyczące regularności przyjmowania suplementów diety, przeprowadzając badania wśród młodzieży. Cieślik i wsp. [6] wykazały, że 51 % ogółu badanej młodzieży w wieku 16 - 18 lat sięgała po tego rodzaju preparaty. Natomiast wśród studentów wyższych uczelni Warszawy i Tarnowa tylko 38,2 % ankietowanych zadeklarowała stosowanie suplementów [17].

Tabela 2

Powszechność suplementacji diety wśród studentów [%].
Commonness of supplementing the diet among students [%].

Respondenci Respondents	Razem Total	Stosowanie suplementacji diety / Supplementing the diet		
		regularne regularly	sporadyczne occasionally	brak no supplementation
AGH / University of Science and Technology	100	20	45	35
PK / Cracow University of Technology	100	26	38	36
UEK / Cracow University of Economics	100	11	55	34
UJ / Jagiellonian University	100	23	48	29
UP / Pedagogical University of Cracow	100	22	42	36
UR / Agricultural University in Cracow	100	17	50	33
Kobiety ogółem Women in total	100	16	60	24
Mężczyźni ogółem Men in total	100	18	47	35

W grupie osób uzupełniających dietę preparatami witaminowymi i/lub mineralnymi, największy udział procentowy stanowili studenci, dla których głównym powodem sięgania po suplementy była choroba (tab. 3), a wśród nich studujący na UEK (40 %) i AGH (35 %). Słuchacze pozostałych uczelni, sięgający po te preparaty w wymienionym okresie, stanowili średnio 26 %. Nieznacznie mniej respondentów decydowało się na uzupełnianie diety w okresie zimowo-wiosennym. Sezon ten, charakteryzujący się mniejszym spożyciem świeżych warzyw i owoców, sprzyjał przyjmowaniu witamin czy składników mineralnych w postaci preparatów przez 18 - 27 % ankietowanych. W tym okresie najwięcej studentów uczelni humanistycznych (UP –

27 %, UJ - 26 %) stosowało suplementy diety. W okresie sesji, która jest czasem wzmożonej pracy umysłowej, intensywniejszego wysiłku psychicznego, a także często mniejszej aktywności fizycznej, suplementy powinny być częściej spożywane. Jednak przeprowadzone badania nie potwierdziły takiej zależności. Najczęściej sięgali po nie studenci UJ (19 %), natomiast słuchacze UEK nie uzupełniali swojej diety w żadne preparaty. W okresie letnio-jesiennym procent badanych osób stosujących suplementy był najniższy i wynosił od 3 (PK) do 10 (UR).

Tabela 3

Udział ankietowanych w stosowaniu suplementów diety w zależności od uczelni [%].
Number of the polled applying diet supplements according to the universities [%].

Okres / Season	Uczelnia / University					
	AGH	PK	UEK	UJ	UP	UR
Letnio-jesienny / Summer-autumn	4	3	4	6	4	10
Zimowo-wiosenny / Winter-spring	18	19	23	26	27	22
W czasie choroby / During an illness	35	27	40	26	23	28
W czasie sesji / During the period of exams	8	3	0	19	6	12
Codziennie/ Everyday	20	26	11	23	22	17

Typ uczelni, na którą uczęszczał student, nie był czynnikiem istotnie ($p > 0,05$) wpływającym na rozpowszechnienie przyjmowania suplementów.

Wykazano istotny ($p < 0,05$) wpływ płci na przyjmowanie suplementów diety. Więcej kobiet niż mężczyzn deklaroowało spożywanie tych preparatów, odpowiednio 76 i 65 %. Żadnych suplementów nie przyjmowało 24 % kobiet i 35 % mężczyzn (tab. 2).

Tabela 4

Udział ogółu ankietowanych w stosowaniu suplementów witaminowo-mineralnych z uwzględnieniem płci [%].

Number of all the surveyed students applying vitamin-mineral supplements according to their gender [%].

Okres / Season	Kobiety / Women	Mężczyźni / Men
Letnio-jesienny / Summer-autumn	5	4
Zimowo-wiosenny / Winter-spring	23	12
W czasie choroby / During an illness	23	26
W czasie sesji / During the period of exams	9	5
Codziennie/ Everyday	16	18

Przyczyną wzmożonego uzupełniania niedoborów witaminowo-mineralnych była choroba (tab. 4). W tym czasie odsetek kobiet i mężczyzn stosujących preparaty witaminowo-mineralne był podobny (23 i 26 %). Suplementację w sezonie zimowo-wiosennym zadeklarował taki sam procent kobiet, ale jedynie 12 % mężczyzn. Najniższy udział stanowili respondenci sięgający po suplementy w trakcie sesji oraz w okresie letnio-jesiennym (4 - 9 %).

Badania Chłopickiej i wsp. [5], przeprowadzone na przełomie roku 2002/2003 wśród młodych kobiet mieszkających w Polsce południowej, wykazały znacznie wyższą popularność uzupełniania diety preparatami witaminowo-mineralnymi, w szczególności zawierającymi w swoim składzie kwas foliowy. Spożywanie powyższych preparatów zadeklarowało niemal 80 % kobiet. Wyższe spożycie suplementów diety stwierdzono także w badaniach przeprowadzonych w 2005 roku wśród 260 studentów poznańskich uczelni. Ponadto u 65 % kobiet i 40 % mężczyzn, stosujących preparaty farmaceutyczne, stwierdzono zarówno niedobory niektórych składników (Ca, K, Cu), jak również nadmiary (Fe) [1]. W badaniach przeprowadzonych wśród studentów USA również wykazano, że kobiety częściej i przez dłuższy okres stosują suplementację niż mężczyźni [18]. Ponad 20 % studentów w Brazylii przyjmowało suplementy regularnie, a kolejne 30 % co najmniej 3 miesiące przed przeprowadzonymi badaniami. Najczęściej decydowali się na uzupełnianie diety bez wcześniejszego stwierdzenia występowania niedoborów, w celu utrzymania dobrego stanu zdrowia [16]. W badaniach Pietruszki i Brzozowskiej [14] przyjmowanie suplementów diety zadeklarowało 53 % respondentów. Małą popularność stosowania suplementów diety przez młode kobiety wykazano w USA, jedynie 9 % z nich przyjmowało multiwitaminy zawierające kwas foliowy [4].

Miejsce zamieszkania podczas roku akademickiego nie miało istotnego ($p > 0,05$) wpływu na spożycie suplementów. Studenci mieszkający w akademikach uzupełniali niedobory witaminowo-mineralne z podobną częstotliwością, jak mieszkający w domach rodzinnych (tab. 5).

Udział osób zameldowanych w mieście, uzupełniających swoją dietę, był zbliżony do udziału zameldowanych na wsi (odpowiednio 67 i 66 %) (tab. 5).

Według Filipiak-Florkiewicz i wsp. [8] różnice w częstotliwości suplementowania diety wśród młodzieży w wieku 15 - 19 lat, ze względu na zamieszkanie, również nie były statystycznie istotne. Udział uczniów mieszkających w mieście i z obszarów wiejskich, stosujących preparaty, wynosił 27 i 21 %. Z kolei Cieślik i wsp. [6] stwierdzili, że suplementy diety były bardziej popularne wśród młodzieży z dużego miasta, w porównaniu z pochodzącymi z miasta o mniejszej liczbie mieszkańców.

Spośród studentów stosujących suplementację diety, większość osób (56 %) przyjmowała je w formie zestawów witaminowo-mineralnych (tab. 6).

Tabela 5

Udział respondentów w stosowaniu suplementów diety w zależności od miejsca zamieszkania w trakcie roku akademickiego oraz miejsca zameldowania [%].

Number of respondents applying diet supplements according to their place of stay during academic year and to their usual residence [%].

Wyszczególnienie Items	Razem Total	Stosowanie suplementów diety / Supplementing the diet		
		regularne regularly	sporadyczne occasionally	brak no supplementation
Miejsce zameldowania / Place of usual residence				
miasto / town	100	19	47	34
wieś / village	100	18	49	33
Miejsce zamieszkania / place of stay during the studies				
akademik / student house	100	18	48	34
dom rodzinny /family house	100	20	44	36

Tabela 6

Najczęściej stosowane suplementy diety.

Diet supplements that are most frequently applied.

Rodzaj suplementu / Type of supplement	Liczba osób Number of persons	[%]
Jednoskładnikowe / Pills with one vitamin	103	21
Multiwitaminy / Multivitamin pill	113	23
Zestawy witaminowo-mineralne Vitamin-mineral composition sets	274	56

Preparaty multiwitaminowe były wybierane przez 23 % osób stosujących suplementy, a preparaty jednoskładnikowe przez 21 % osób. Najczęściej przyjmowanymi suplementami były multiwitaminy oraz zestawy witaminowo-mineralne.

Spośród preparatów zawierających witaminy i/lub składniki mineralne studenci z Gdańska, Grodna i Białegostoku także najczęściej wybierali zestawy witaminowo-mineralne [12]. Badania Białasa i wsp. [1] wskazują natomiast, że ok. 55 % studentów poznańskich uczelni stosuje preparaty multiwitaminowe, jako najbardziej popularną formę suplementów diety. Preparaty witaminowo-mineralne stosowało ok. 36 % badanych, a najrzadziej przyjmowane były preparaty mineralne. W badaniach przeprowadzonych na przełomie 2002/2003 roku, wśród 417 kobiet mieszkających w południowej Polsce wykazano, że do najczęściej stosowanych należały: Materna, Multi-tabs, Panvitan, Vitaral, Zdrowit, Bodymax. Do innych również często wymienianych należa-

ły Cetrum, Vigor oraz Pluszzz [5]. Z kolei studenci w Brazylii najczęściej suplementowali dietę preparatami witaminowo-mineralnymi lub tylko witaminą C [16].

Studenci zazwyczaj sami podejmują decyzję o uzupełnianiu diety preparatami witaminowo-mineralnymi w celu uzupełnienia ewentualnych niedoborów bądź zamiaru poprawy ogólnego samopoczucia i stanu zdrowia [10, 12]. Decyzję o suplementacji podejmują też często z powodu choroby. Na podobną motywację młodzieży w wieku szkolnym wskazywała Dąbrowska i wsp. [7]. Autorzy ci wykazali, że około połowa respondentów podjęła samodzielnie decyzję o przyjmowaniu preparatów uzupełniających dietę, natomiast 1/5 po konsultacji z lekarzem i podobny odsetek pod wpływem rodziców.

Wnioski

1. Większość studentów (ok. 66 %) deklarowała regularną lub sporadyczną suplementację diety preparatami witaminowo-mineralnymi.
2. Uczelnia, na którą uczęszczał student, nie była czynnikiem istotnie ($p > 0,05$) wpływającym na powszechność przyjmowania suplementów.
3. Kobiety (76 %) istotnie ($p < 0,05$) częściej niż mężczyźni (65 %) suplementowały całodzienne racje pokarmowe preparatami witaminowymi i/lub składnikami mineralnymi. Żadnych suplementów nie przyjmowało natomiast odpowiednio 23 i 35 % ankietowanych.
4. Miejsce zameldowania (miasto, wieś) oraz miejsce zamieszkania podczas trwania roku akademickiego (akademik, dom rodzinny) nie wpłynęło istotnie ($p > 0,05$) na odsetek osób stosujących suplementację.

Literatura

- [1] Białas S., Duda G., Saran A.: Ocena spożycia przez studentów składników mineralnych pochodzących z racji pokarmowych i suplementów. *Żyw. Człow. Metab.*, 2005, **32**, supl. 1, cz. II, 1304-1310.
- [2] Biezanowska-Kopeć R., Leszczyńska T., Pisulewski P.M.: Oszacowanie zawartości folianów i innych witamin z grupy B w dietach młodych kobiet (20 - 25 lat) z województwa małopolskiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 2007, **6 (55)**, 352-358.
- [3] Bujko J., Myszkowska-Ryciak J., Nitka I.: Ocena spożycia składników mineralnych wśród studentów SGGW w Warszawie. *Żyw. Człow. Metab.*, 2005, **32**, supl. 1, cz. I, 655-659.
- [4] Chacko M.R., Anding R., Kozinetz C.A., Grover J.L., Smith P.B.: Neural tube defects: knowledge and preconceptional prevention practices in minority young women. *Pediatrics*, 2003, **112 (3)**, 536-42
- [5] Chłopicka J., Zachwieja Z., Kowalski W.: Folic acid supplement use among women in Southern Poland. *First Int. Conf. on Foliates Analysis, bioavailability and health* 11-14 February 2004, pp. 176-178.
- [6] Cieślak E., Filipiak-Florkiewicz A., Kopeć A., Bodzioch A., Grzych-Tuleja E.: Suplementacja diety preparatami zawierającymi witaminy i/lub składniki mineralne przez młodzież w wieku 16 - 18 lat z terenu województwa małopolskiego. *Mat. Konf. Nauk. „Żywność wzbogacana i nutraceutyki”*, Oddz. Małopolski PTTŻ, Kraków 18-19 czerwca 2009, s. 91.


- [7] Dąbrowska A., Wnuk S., Babicz-Zielińska E.: Ocena stosowania suplementów diety wśród młodzieży. *Żyw. Człow. Metab.*, 2005, **32**, supl. 1 cz. II, 1286-1291.
- [8] Filipiak-Florkiewicz A., Cieślak E., Tłałka A.: Suplementacja diety oraz poziom wiedzy młodzieży na temat chorób dietozależnych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2005, **32**, supl. 1 cz. II, 1324-1330.
- [9] Gertig H., Gawęcki J.: Słownik terminów żywieniowych. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2001.
- [10] Jeżewska-Zychowicz M.: Stosowanie suplementów wśród młodzieży z uwzględnieniem kontroli ich stosowania. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, **1/2**, 481-485.
- [11] Kleszczewska E., Szpakow A., Jaszczuk A., Ostrowska J.: Zawartość witamin w diecie studentów wyższej szkoły kosmologii i ochrony zdrowia w Białymstoku. *Żyw. Człow. Metab.*, 2009, **36**, 205-214.
- [12] Lebedzińska A., Szpakow A., Hinc A., Filon J., Szefer P., Karczewska J.: Suplementacja witaminami i biopierwiastkami diety studentów polskich i białoruskich (Gdańsk, Grodno, Białystok). *Żyw. Człow. Metab.*, 2009, **36**, 55-60.
- [13] Marzec Z., Koch W., Marzec A.: Całodzienne racje pokarmowe oraz suplementacja źródłem wapnia i magnezu w żywieniu studentów. *Żyw. Człow. Metab.*, 2009, **36**, 61-65.
- [14] Pietruszka B., Brzozowska A.: Supplement and fortified food contribution to overall folate intake among adults living in Warsaw, Poland. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006, **15/56**, 97-102.
- [15] Pysz K., Leszczyńska T., Nowacka E., Kopeć A., Morawska M.: Ocena potrzeb suplementacji witaminami i składnikami mineralnymi diety dzieci i młodzieży z wybranych domów dziecka oraz ośrodków szkolno-wychowawczych. *Mat. Konf. Nauk. „Żywność wzbogacana i nutraceutyki”*, Oddz. Małopolski PTTŻ, Kraków 18-19 czerwca 2009, 105.
- [16] Santos K.M., Barros Filho A.A.: Use of vitamin supplements among university students in São Paulo, Brazil. *Rev Saude Publica*, 2002, **36**, 250-253.
- [17] Sigłowa A., Bertrandt B., Conder M., Bertrandt K., Lisiecka A., Kubiak P., Urbańska A.: Suplementacja diety wśród studentów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **4 (65)**, 236-249.
- [18] Spencer E.H., Bendich A., Frank E.: Vitamin and mineral supplement use among US medical students: A longitudinal study. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2006, **106**, 1975-83.
- [19] Stefańska E., Ostrowska L., Czapska D., Karczewski J.: Ocena zawartości witamin w całodziennych racjach pokarmowych kobiet o prawidłowej masie ciała oraz z nadwagą i otyłością. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **4 (65)**, 286-294.

DIET SUPPLEMENTATION WITH VITAMINS AND/OR MINERALS AMONG THE UNIVERSITY STUDENTS IN THE REGION OF MAŁOPOLSKA

Summary

The objective of the study was to assess the commonness and frequency of supplementing the diet with vitamin and/or vitamin-mineral preparations among the students of six Cracow universities.

The survey covered a group of 450 women and 293 men aged 19 to 28 and was conducted during the summer-autumn and winter-spring seasons (2007/2008). The majority of students declared to regularly (11-26% of the students from individual universities) or occasionally (38-50%) supplement their diet with vitamin and/or vitamin-mineral preparations. About one-third of the students polled (29-36%) didn't improve their daily diet with any vitamins and mineral supplements. It was evidenced that relatively more women than men ($P < 0,05$) added supplements to their daily diets. The most frequently used preparations among the respondents were sets of vitamins and minerals; the students polled used to apply them specifically during an illness.

Key words: supplementing the diet, vitamins, mineral components, students 

EWA BABICZ-ZIELIŃSKA, MARZENA JEŻEWSKA-ZYCHOWICZ,
WACŁAW LASKOWSKI

POSTAWY I ZACHOWANIA KONSUMENTÓW W STOSUNKU DO ŻYWNOSCI WYGODNEJ

Streszczenie

Badania konsumentów żywności wygodnej wykazały, że żywność ta znana była większości badanych, jednak jej spożycie było na poziomie ze średnią częstotliwością „od czasu do czasu”, a więc raz lub kilka razy w miesiącu. Płeć, aktywność zawodowa i miejsce zamieszkania nie wpłynęły w sposób istotny na spożycie tej żywności. Postawy pozytywne wobec żywności wygodnej deklarowała ponad połowa respondentów, były to przede wszystkim osoby młode. Niemal połowa respondentów nie dostrzegała ryzyka w spożyciu żywności wygodnej, a dla 1/4 respondentów walory zdrowotne oraz ryzyko wynikające ze spożycia żywności wygodnej były obojętne. Osoby o pozytywnych postawach, przekonane o walorach zdrowotnych żywności wygodnej i korzyściach wynikających z jej zastosowania w jadłospisach, częściej deklarowały spożycie jej w ciągu najbliższych trzech miesięcy. Osoby o negatywnych postawach oraz niezdecydowane, nie były zainteresowane spożyciem tej żywności w przyszłości. Przyczyną tego może być konserwatyzm oraz brak zainteresowania włączaniem do codziennego żywienia produktów innowacyjnych, wynikający głównie z wyższej ceny żywności wygodnej.

Słowa kluczowe: częstotliwość spożycia, konsument, postawy, poglądy, żywność wygodna

Wstęp

Pojęcie żywności wygodnej (*convenience food*) określa produkty o wysokim stopniu dyspozycyjności, zapewniające konsumentowi możliwość szybkiego przygotowania posiłku, czyli żywności wygodnej w użyciu. W polskim piśmiennictwie przyjęto termin żywność wygodna, która oznacza produkty do „wygodnego stosowania” [14].

Jest wiele definicji żywności wygodnej. Według Douglasa [6] żywność wygodna to: „wygodne produkty i usługi, które pozwalają konsumentom oszczędzić czas na

przygotowanie posiłków”; pojęcie to obejmuje również posiłki przygotowane w stołówkach i restauracjach. Z kolei Capps [4] do żywności wygodnej zalicza „całkowicie lub częściowo przygotowane posiłki, które w części lub całości zostały przygotowane przez osoby z zewnątrz”. Wg innej definicji żywność wygodna to „wszystkie produkty, które przeszły wtórną obróbkę, włączając w to posiłki gotowe, obrabiane mięso, pizze i pasztety, przystawki, zupy itp.”[2].

Wg Gawęckiego [7] żywność wygodną stanowią „produkty gotowe do bezpośredniego spożycia lub wymagające niewielkiej obróbki kulinarnej, porcjowane i pakowane, w sposób szczególnie dogodny dla konsumenta”. Mogą to być zarówno wyroby o dużym stopniu przetworzenia, jak i mało przetworzone artykuły do szybkiego spożycia. Bonke [1] podzielił żywność z uwagi na sposób przygotowywania z nich posiłków na trzy grupy: żywność tradycyjną – przygotowywanie posiłków ze świeżych produktów, żywność półwygodną (*semi-convenience*) – posiłki przygotowywane są z produktów wcześniej poddanych obróbce wstępnej (np. panierowane filety z ryb) oraz wygodną (*convenience food*), którą są gotowe posiłki i zupy, sosy, desery, wliczając w to posiłki spożywane na zewnątrz (w barach, restauracjach). Pomimo pewnych różnic w definicjach, we wszystkich występuje wspólny element, a mianowicie minimalny czas przygotowania posiłku.

W badaniach nad wykorzystaniem żywności wygodnej w żywieniu wykazano, że czynnikami wpływającymi na zainteresowanie żywnością wygodną są przede wszystkim [2, 15]:

- skrócenie czasu przygotowania gotowego posiłku (współczesny konsument woli częściej spożywać drobne przekąski niż jadać jeden obfity posiłek),
- wykorzystanie czasu wolnego na pracę lub odpoczynek,
- poświęcanie mniej czasu na sprzątanie,
- oszczędne gospodarowanie produktem.

Celem przeprowadzonych badań była konsumencka ocena żywności wygodnej z uwzględnieniem znajomości tego typu produktów, jak również poglądów i postaw w stosunku do tej formy żywienia, oceny korzyści i ryzyka wynikających z wprowadzenia jej do jadłospisu oraz częstotliwości spożycia rzeczywistej i deklarowanej.

Material i metody badań

Badanie konsumenckie zostało zrealizowane we wrześniu 2008 roku w 1002-osobowej, reprezentatywnej grupie Polaków powyżej 15 roku życia w ramach badania syndykatowego OMNIMAS. Charakterystykę demograficzno-społeczną badanych przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Charakterystyka badanej populacji.
Characteristics of the population surveyed.

Wyszczególnienie Items	Ogółem Total	Płeć / Gender [%]	
		mężczyzna male	kobieta female
Ogółem / Total	1002	47,8	52,2
Płeć: / Gender:			
mężczyzna / male	479	100,0	-
kobieta / female	523	-	100,0
Wiek: / Age:			
15 - 19 lat / 15 - 19 years old	84	9,0	7,8
20 - 29 lat / 20 - 29 years old	199	21,1	18,7
30 - 39 lat / 30 - 39 years old	168	17,7	15,8
40 - 49 lat / 40 - 49 years old	160	16,7	15,3
50 - 59 lat / 50 - 59 years old	178	17,7	17,7
60 lat i więcej / 60 years and more	214	17,7	24,6
Wykształcenie: / Education:			
podstawowe / primary	212	19,0	23,1
zasadnicze zawodowe / post-primary technical	246	28,9	20,7
średnie i pomaturalne / secondary and postsecondary	397	38,1	41,1
wyższe / university	146	14,0	15,1
Aktywność zawodowa: / Professional activity:			
pracuje zawodowo / active	469	57,0	37,5
nie pracuje zawodowo / non-active	533	43,0	62,5
Dochód gospodarstwa domowego: Household income:			
poniżej 1250 zł / less than 1250 PLN	89	7,9	9,7
1250 - 1999 zł / 1250 - 1999 PLN	161	12,6	19,3
2000 zł i więcej / 2000 PLN and more	333	37,4	29,4
odmowa odpowiedzi / refusing to answer	419	42,1	41,6
Miejsce zamieszkania / Place of usual residence:			
wieś / country	378	39,0	36,5
miasto do 20 tys. / town with max 20,000 residents	130	12,9	13,0
miasto od 20 do 100 tys. / town with 20,000 to 100,000 residents	196	19,2	19,9
miasto od 100 do 500 tys. / city with 100,000 to 500,000 residents	77	17,3	18,0
miasto powyżej 500 tys. / city with more than 500,000 residents	121	11,5	12,6

Źródło: badanie własne /the authors' own studies

Metoda badań została poddana walidacji we współpracy z firmą TNS OBOP, którą wybrano jako realizującą badanie empiryczne. Badanie przeprowadzono według metodologii CAPI podczas bezpośredniego kontaktu ankietera z respondentem. Zastosowano dobór typu random-route, czyli losowano adresy startowe i dobierano w ich

bezpośrednim otoczeniu, według ściśle określonych zasad, wyznaczoną liczbę adresów. Nie przeprowadzono wywiadu w punkcie startowym.

W badaniu wykorzystano autorski kwestionariusz zawierający pytania typu zamkniętego. Znalazły się w nim pytania dotyczące znajomości żywności wygodnej, częstotliwości jej spożywania, zamiaru jej spożycia w ciągu najbliższych 3 miesięcy oraz poglądy dotyczące walorów zdrowotnych, korzyści wynikających ze spożywania żywności wygodnej i ryzyka związanego z jej konsumpcją. Do oceny częstotliwości spożycia zastosowano następujące określenia: 6 – codziennie; 5 – mniej więcej 1 raz w tygodniu; 4 – kilka razy w miesiącu, ale rzadziej niż 1 raz w tygodniu; 3 – mniej więcej 1 raz w miesiącu; 2 – rzadziej niż 1 raz w miesiącu; 1 – nie spożywam w ogóle. Zamiar spożywania w ciągu najbliższych 3 miesięcy respondenci oceniali na 7-punktowej skali od 1 – w ogóle nie chciałbym/abym, do 7 – bardzo chciałbym/abym.

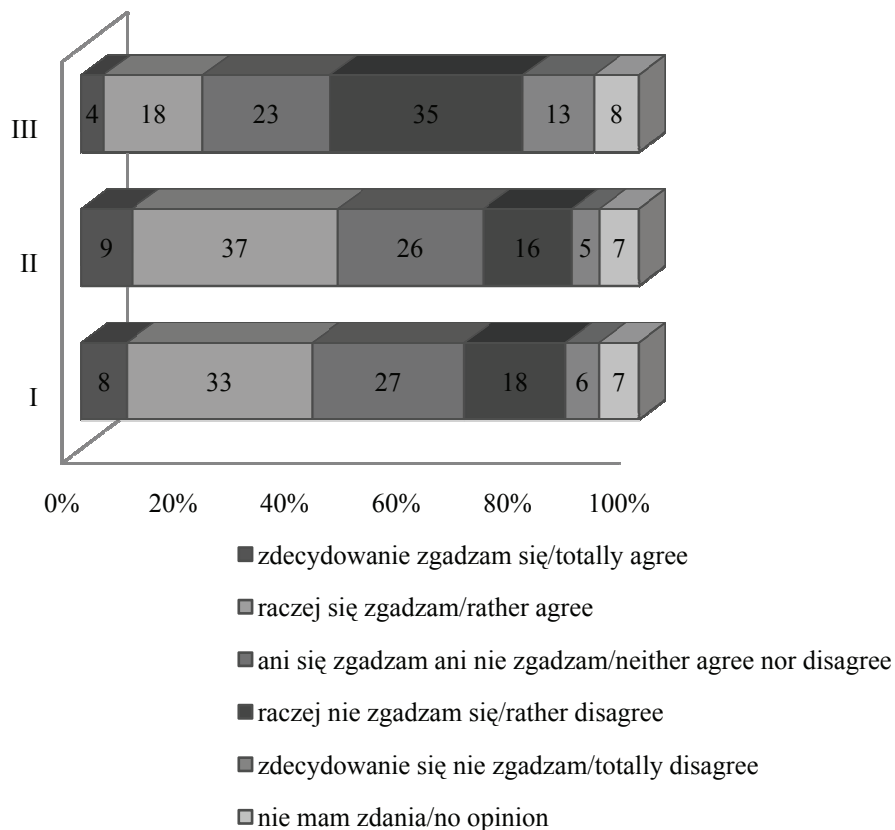
Do oceny poglądów respondentów odnośnie walorów zdrowotnych, korzyści z wprowadzenia do własnego jadłospisu oraz ryzyka związanego ze spożyciem żywności wygodnej zastosowano 5-punktowe skale, od 1 – całkowicie zgadzam się ze stwierdzeniem, 2 – raczej zgadzam się, 3 – ani się zgadzam, ani nie zgadzam, 4 – raczej zgadzam się 5 – całkowicie nie zgadzam się.

W analizie materiału empirycznego do opisu struktury populacji i poszczególnych zmiennych wykorzystano analizę częstości oraz tablice krzyżowe, do porównywania danych zastosowano test χ^2 , siłę związku między zmiennymi badano na podstawie współczynnika korelacji dwustronnej. Do wyodrębnienia jednorodnych pod względem znajomości i częstości spożywania poszczególnych rodzajów nowej żywności zastosowano analizę skupień. Jako poziom istotności przyjęto $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Poglądy i postawy w stosunku do żywności wygodnej

Żywność wygodna była znana 82 % respondentów. Płeć, aktywność zawodowa i miejsce zamieszkania nie wpłynęły w sposób istotny na jej znajomość. Najmniej znana była w grupie osób najstarszych, bardziej w grupie osób z wykształceniem wyższym, w grupie wiekowej 30 - 49 lat, o dochodach powyżej 2000 zł, należących do grupy społeczno-zawodowej kierowników i specjalistów (rys. 1).



Oznaczenia / Denotations:

I - żywność wygodna ma duże walory zdrowotne / convenience food has high healthful values;

II - istnieją duże korzyści z wprowadzenia żywności wygodnej do własnego jadłospisu / there are high benefits when introducing convenience food into individual menu/diet ,

III - istnieje duże ryzyko związane ze spożywaniem żywności wygodnej / it's highly risky to eat convenience food.

Rys. 1. Poglądy i postawy respondentów w stosunku do żywności wygodnej.

Fig. 1. Respondents' opinions on and attitudes towards convenience food.

Stwierdzenia: „żywność wygodna ma duże walory zdrowotne” oraz „istnieją korzyści wynikające z jej spożycia” uzyskały zbliżone do siebie oceny respondentów; odsetek wskazań potwierdzających zgodność z nimi wyniósł odpowiednio 41 i 46 %. Z tym poglądem nie zgodziło się 20 % respondentów. Prawie połowa (48 %) ankietowanych nie odczuwała ryzyka w spożyciu tej żywności; zdaniem większości respondentów spożywanie żywności wygodnej ma więcej korzyści niż ryzyka.

Dla 25 % respondentów walory zdrowotne oraz ryzyko wynikające ze spożycia żywności wygodnej były obojętne. To dość znaczny odsetek, można więc przypuszczać, że część konsumentów nie przywiązuje wagi do wartości zdrowotnej i bezpieczeństwa spożywanych przez siebie posiłków. Wprawdzie aż 75 % badanych deklaroowało, że wartość odżywcza spożywanej żywności jest dla nich ważna, ale nie do końca rzeczywista wartość żywności wygodnej była im znana.

Postawy pozytywne wobec żywności wygodnej deklarowała ponad połowa respondentów, głównie młodych. Im wyższy dochód i im większa liczba osób i dzieci w rodzinie, tym bardziej widoczne były pozytywne postawy. Wśród 20 % respondentów demonstrujących negatywne postawy do żywności wygodnej, najwięcej było osób z wykształceniem wyższym w wieku 50 - 59 lat, zamieszkałych w dużych aglomeracjach. W badaniu przeprowadzonym wśród mieszkańców Wielkopolski wykazano, że na pozytywne postawy znaczący wpływ miały wykształcenie i dochód. Im wyższy poziom wykształcenia i dochodów, tym postawy były bardziej pozytywne; postawy negatywne prezentowały osoby z wykształceniem niższym, o niskich dochodach i mieszkające na wsi [13]. W badaniach preferencji dań gotowych stwierdzono, że osoby z wyższym wykształceniem i lepszej sytuacji materialnej częściej niż inni deklarowały chęć korzystania z gotowych dań. Na preferencje dań gotowych wpływała też liczba osób w rodzinie; osoby samotne istotnie częściej korzystały z produktów ułatwiających przyrządzanie posiłków [8, 12]. Znaczący wzrost liczby osób prowadzących małe gospodarstwa domowe spowodował wzrost zapotrzebowania na tę formę żywienia [3]. Kupujący żywność wygodną w Polsce to przede wszystkim ludzie młodzi, konsumenci o wyższych dochodach, prowadzący mniejsze gospodarstwa domowe [9]. Wygoda i oszczędność czasu to główne powody wyboru tej formy żywienia w grupie młodych ludzi [12].

Osoby żyjące w większych gospodarstwach domowych, zwłaszcza gospodynie domowe, uznały, że istnieją duże korzyści z wprowadzenia żywności wygodnej do jadłospisów, choć były też bardziej przekonane o ryzyku związanym ze spożyciem tej żywności. W tym przypadku można mówić o przewadze względów praktycznych, takich jak oszczędność czasu i mniejsze zaangażowanie w przygotowaniu posiłków nad troską o zdrowie swoje i rodziny. W badaniu spożycia żywności wygodnej w formie tzw. obiadów szybkich, tj. posiłków kupowanych w sklepach i przygotowywanych w domach jedynie przez podgrzanie, wykazano, że najczęściej ta forma była stosowana przez osoby samotne, rzadziej w przypadku spożywania posiłków w gronie rodzinnym [15]. Wygoda w przygotowywaniu żywności jest więc istotnym czynnikiem dla osób samotnych, często spożywających posiłki bez udziału innych osób [11].

Coraz częściej jednak zwraca się uwagę nie tylko na korzyści, ale także na zagrożenia, jakie związane są z wykorzystaniem żywności wygodnej w codziennym żywie-

niu. Jako główne zagrożenia żywieniowe uważa się zmniejszenie zawartości witamin i ich aktywności biologicznej oraz zmniejszenie strawności gotowych produktów [7].

Częstotliwość spożycia żywności wygodnej

Rzeczywistą częstotliwość spożycia żywności wygodnej przedstawiono w tab. 2.

Tabela 2

Częstotliwość spożycia żywności wygodnej w zależności od wybranych cech socjoekonomicznych.
Frequency rate of consuming convenience food depending on some selected socioeconomic features.

Wyszczególnienie Items	Częstotliwość spożycia [%] Frequency rate of consumption					
	6**	5	4	3	2	1
Ogółem / Total	3	25	26	16	13	17
Płeć / Gender						
mężczyzna / male	4*	27	26	15	13	15
kobieta / female	2*	22	26	17	13	20
Wiek / Age						
15 - 19 lat / 15 - 19 years old	1	25	39*	15	14	6*
20 - 29 lat / 20 - 29 years old	6	34*	28	13	6*	13
30 - 39 lat / 30 - 39 years old	4	22	26	13	18	17
40 - 49 lat / 40 - 49 years old	2	21	30	17	15	15
50 - 59 lat / 50 - 59 years old	1	25	21	18	12	23*
60 lat i więcej / 60 years and more	1	21	22	19	14	24*
Wykształcenie / Level of education						
podstawowe / primary	1	19*	28	15	19*	18
zasadnicze zawodowe postprimary technical	0*	26	24	19	14	17
średnie i pomaturalne / secondary and postsecondary	5*	26	26	17	11	15
wyższe / university	1	29	29	11	7*	23
Aktywność zawodowa / Professionally activity						
pracuje zawodowo / active	4*	25	26	14	14	18
nie pracuje zawodowo / non-active	1*	25	27	18	12	17
Grupa społeczno-zawodowa / Socio-professional group						
kierownicy/specjaliści managers/specialists	2	25	38*	10	7	18
prywatni przedsiębiorcy private entrepreneurs	10	18	29	14	11	19
pracownicy administracji i usług administration and services employees	6	24	30	11	13	15
robotnicy / labourers	3	27	19*	17	18	16
rolnicy / farmers	0	15	11	20	15	40
gospodynie domowe / housewives	1	23	28	19	10	19
emeryci/renciści retired people and pensioners	1	23	20*	19	15	22*
uczniowie i studenci / pupils and students	2	31	45*	9*	6*	7*
bezrobotni / unemployed	0	20	21	28*	15	17

Dochód gospodarstwa domowego / Household income						
poniżej 1250 zł / less than 1250 PLN	0	30	17	17	15	21
1250 - 1999 zł / 1250 – 1999 PLN	0	24	27	19	14	15
2000 zł i więcej / 2000 PLN and more	2	21	30	16	11	20
Wielkość gospodarstwa domowego / Household size						
1 - 2 osoby / 1 - 2 persons	2	23	25	16	11	21*
3 osoby / 3 persons	2	29	22	15	17	16
4 osoby / 4 persons	2	21	32*	19	11	15
5 osób i więcej / 5 and more persons	5	27	27	13	14	14
Dzieci w gospodarstwie domowym / Children in household						
1 dziecko / 1 child	4	31*	32	11*	14	8*
2 dzieci / 2 children	1	14*	36*	16	13	19
3 dzieci i więcej / 3 and more	0	29	25	27	11	7
nie ma dzieci / no children	3	25	22*	17	13	21*
Miejsce zamieszkania / Place of usual residence						
wieś / country	1*	17*	28	15	17*	22*
miasto do 20 tys. town with 20,000 residents	2	19	28	17	3*	31*
miasto od 20 do 100 tys. town with 20,000 to 100,000 residents	3	35*	23	16	12	11*
miasto od 100 do 500 tys. city with 100,000 to 500,000 residents	3	29	28	21*	14	6*
miasto powyżej 500 tys. city with more than 500,000 residents	7	35*	21	11	8	18

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* wartość wyróżniająca się na poziomie istotności 0,05 / distinctive value at a significance level of 0.05

** 6 – codziennie / everyday; 5 – mniej więcej 1 raz w tygodniu / more or less once a week; 4 – kilka razy w miesiącu, ale rzadziej niż 1 raz w tygodniu / several times a month, but less frequent than once a week; 3 – mniej więcej 1 raz w miesiącu / more or less once a month; 2 – rzadziej niż 1 raz w miesiącu / less frequent than once a month; 1 – nie spożywam w ogóle / I don't eat it at all.

Żywność wygodna była spożywana z częstotliwością „raz w tygodniu” przez 25 % respondentów, 26 % spożywało ją z częstotliwością „kilka razy w miesiącu”, a tylko 3 % respondentów spożywało ją codziennie; 17 % respondentów nie spożywało jej w ogóle (tab. 2).

Raz w tygodniu najczęściej spożywały żywność wygodną osoby w wieku 20 - 29 lat (34 %), osoby stanu wolnego (29 %), z wykształceniem wyższym (29 %), osoby zamieszkałe głównie w miastach oraz o dochodach poniżej 1250 zł (35 %). Ten paradoks można wytłumaczyć faktem, że najczęściej byli to studenci (tab. 2).

Z częstotliwością „kilka razy w miesiącu” spożywali żywność wygodną głównie uczniowie i studenci (45 %), ale także osoby pracujące na kierowniczych stanowiskach (38 %) (tab. 2). W badaniach przeprowadzonych w grupie konsumentów o zróżnicowanym profilu socjodemograficznym [17] wykazano zwiększającą się tendencję do

korzystania z sieci placówek oferujących fast food, zwłaszcza wśród młodzieży, dla której spożywanie żywności w restauracjach szybkiej obsługi jest symbolem nowoczesnego stylu życia. Podobne wyniki uzyskano w badaniach Wierzbickiej i Roszkowskiego [16]; zwrócono przy tym uwagę na wykształcanie się wśród młodych konsumentów niewłaściwych nawyków żywieniowych, mogących w przyszłości wywołać niekorzystne skutki zdrowotne. W badaniach Cronina [5] wykazano dodatnią zależność między poziomem stresu a spożyciem żywności wygodnej. Ludzie, którzy żyją w stresie częściej korzystają z żywności wygodnej. Natomiast im większe zadowolenie z życia, im większa satysfakcja życiowa, tym rzadsze spożycie produktów zaliczanych do fast food.

Wielkość gospodarstwa domowego miała pewien wpływ; najczęściej żywność wygodną spożywały osoby żyjące w gospodarstwach – im więcej osób w rodzinie tym większa częstotliwość spożycia.

Jeżeli przyjąć jako „częste” spożycie codziennie i jeden raz w tygodniu, „od czasu do czasu” określające spożycie kilka razy w miesiącu i raz w miesiącu, a „rzadko, albo nigdy” – spożycie rzadziej niż raz w miesiącu oraz nigdy, to respondenci zwykle spożywali żywność wygodną z częstotliwością „od czasu do czasu” w 42 %, „często” spożywało ją 28 % respondentów, a „rzadko lub nigdy” – 30 %. Częstotliwość spożycia żywności wygodnej zmniejszała się z wiekiem. W grupie osób powyżej 50 roku życia odsetek respondentów nigdy nie spożywających żywności wygodnej był największy i wynosił 23 %. Byli to przede wszystkim rolnicy, emeryci i renciści oraz osoby zamieszkałe w małych miasteczkach i żyjące w małych gospodarstwach domowych (1 - 2 osoby). Podobną częstość spożycia żywności gotowej obserwowano w innych badaniach [8, 10].

Częściej żywność wygodna spożywana była w rodzinach posiadających dzieci oraz przez osoby zamieszkałe w dużych aglomeracjach. W grupie osób najmniej zainteresowanych spożyciem żywności wygodnej znajdowali się rolnicy, bezrobotni, emeryci i renciści, a także osoby zamieszkałe na wsi i w małych miasteczkach oraz żyjący w małych gospodarstwach domowych. Wprawdzie osoby starsze postrzegają zupy „wygodne” jako mniej zdrowe i smaczne niż tradycyjne, jednak mieszkające samotnie, uznały, że są łatwiejsze do przygotowania [11].

W badaniach Krełowskiej-Kułas [12] płeć i sytuacja materialna respondentów nie miała wpływu na częstość spożywania produktów zaliczanych do żywności wygodnej.

Poglądy respondentów na żywność wygodną nie wpłynęły w sposób istotny na częstotliwość jej spożycia (tab. 3). Osoby często spożywające żywność wygodną cechowały postawy pozytywne, widziały one więcej korzyści z jej spożycia, nie dostrzegały ryzyka. Osoby, które nigdy takiej żywności nie spożywały, wykazywały negatywne postawy, nie były przekonane o jej walorach zdrowotnych i korzyściach wynikających ze spożycia tego rodzaju żywności. Wnioskować można, że osoby te preferu-

ją tradycyjny sposób przygotowania posiłków i niechętnie są wszelkim nowościom rynkowym. Interesujące, że duży odsetek respondentów w tej grupie (44 %) nie widział też ryzyka wynikającego z jej spożycia.

Tabela 3

Poglądy respondentów na żywność wygodną w zależności od częstotliwości jej spożycia.
Consumers' opinions on convenience food depending on the frequency of consuming it.

Stwierdzenia Statements		Ogółem Total	Częstotliwość spożycia [%] Frequency rate of consumption					
			6	5	4	3	2	1
Duże walory zdrowotne High healthful values <0,001	tak / yes	44,2	71,4	63,3	51,6	49,6	29,0	15,2
	ani tak, ani nie / neither yes nor not	29,6	28,6	17,9	30,0	30,9	40,0	26,4
	nie / no	26,2	0,0	18,9	18,4	19,5	31,0	58,4
Duże korzyści High benefits <0,001	tak / yes	49,0	71,4	72,9	57,5	52,4	32,4	16,4
	ani tak, ani nie / neither yes nor not	28,2	14,3	15,1	28,5	30,2	31,4	33,6
	nie / no	22,9	14,3	12,1	14,0	17,5	36,3	50,0
Duże ryzyko High risk =0,006	tak / yes	23,6	31,8	19,0	21,4	16,8	17,8	30,3
	ani tak, ani nie / neither yes nor not	24,7	13,6	13,8	24,8	23,2	27,7	25,2
	nie / no	51,7	54,5	67,2	53,8	60,0	54,5	44,5
Pozytywna postawa Positive attitude <0,001	tak / yes	55,3	66,7	72,9	71,6	67,2	45,5	17,2
	ani tak, ani nie / neither yes nor not	25,3	33,3	15,6	20,9	21,9	38,6	19,7
	nie / no	19,4	0,0	11,6	7,6	10,9	15,8	63,7

Objaśnienia: / Explanatory notes:

6 – codziennie / everyday; 5 – mniej więcej 1 raz w tygodniu / more or less once a week; 4 – kilka razy w miesiącu, ale rzadziej niż 1 raz w tygodniu / a few times a month, but more seldom than once a week; 3 – mniej więcej 1 raz w miesiącu / more or less once a month; 2 – rzadziej niż 1 raz w miesiącu / more seldom than once a month; 1 – nie spożywam w ogóle / I don't eat at all.

Deklarowana chęć spożycia

Około 2/3 ankietowanych deklarowało chęć spożycia żywności wygodnej w ciągu najbliższych trzech miesięcy. Były to osoby w przedziale wiekowym 40 - 49 lat oraz 20 - 29 lat, z wykształceniem średnim i pomaturalnym, uczniowie i studenci, którzy i tak najczęściej tę żywność spożywali. Im wyższy dochód na osobę, tym większy był odsetek chętnych do spożywania żywności wygodnej.

Tabela 4

Poglądy respondentów na żywność wygodną a deklaracja jej spożycia.

Respondents' opinions on convenience food against their declarations on consuming it.

Stwierdzenia Items		Deklarowana chęć spożywania [%] Declaration of consumption		
		tak / yes	nie / no	trudno powiedzieć it's hard to say
Duże walory zdrowotne high healthful values <0,001	tak / yes	55,2	19,2	24,0
	ani tak, ani nie / neither yes nor not	27,9	31,4	52,0
	nie / no	16,8	49,4	24,0
Duże korzyści High benefits <0,001	tak / yes	61,7	20,5	20,0
	ani tak, ani nie / neither yes nor not	25,0	33,3	56,0
	nie / no	13,3	46,2	24,0
Duże ryzyko High risk <0,001	tak / yes	20,9	31,5	12,0
	ani tak, ani nie / neither yes nor not	21,6	30,4	48,0
	nie / no	57,5	38,1	40,0
Pozytywna postawa Positive attitude <0,001	tak / yes	69,4	22,1	33,3
	ani tak, ani nie / neither yes nor not	22,4	30,9	45,9
	nie / no	8,8	46,9	20,8

Osoby o pozytywnych postawach, przekonane o walorach zdrowotnych żywności wygodnej i korzyściach wynikających z jej zastosowania w jadłospisach, częściej deklarowały spożycie żywności wygodnej w ciągu najbliższych trzech miesięcy. Osoby o negatywnych postawach oraz niezdecydowane nie były zainteresowane spożyciem tej żywności w przyszłości (tab. 4).

Wnioski

1. Żywność wygodna była znana większości respondentów. Płeć, aktywność zawodowa i miejsce zamieszkania nie wpłynęły w sposób istotny na jej znajomość.
2. Postawy pozytywne wobec żywności wygodnej deklarowała ponad połowa respondentów, w większości były to osoby młode. Wyższy dochód i większa liczba osób oraz dzieci w rodzinie sprzyjały prezentowaniu wobec tej żywności postawy pozytywnej. Niemal połowa respondentów nie dostrzegła ryzyka w spożyciu żywności wygodnej.
3. Osoby żyjące w większych gospodarstwach domowych uznały, że ważniejsze są korzyści z wprowadzenia żywności wygodnej do jadłospisów, choć były one najbardziej krytyczne wobec jej spożycia. W tym przypadku można mówić o przewadze względów praktycznych, takich jak oszczędność czasu i mniejsze zaangażowanie w przygotowanie posiłków nad troską o zdrowie swoje i rodziny.

4. Poglądy respondentów na żywność wygodną nie wpłynęły w sposób istotny na częstotliwość jej spożycia. Żywność wygodna była spożywana ze średnią częstotliwością „od czasu do czasu”, a więc raz lub kilka razy w miesiącu. Osoby o pozytywnych postawach, przekonane o walorach zdrowotnych żywności wygodnej i korzyściach wynikających z jej zastosowania w jadłospisach, częściej deklarowały spożycie jej w ciągu najbliższych trzech miesięcy. Osoby o negatywnych postawach oraz niezdecydowane nie były zainteresowane spożyciem tej żywności w przyszłości. Przyczyną tego może być konserwatyzm oraz brak zainteresowania włączaniem do codziennego żywienia produktów innowacyjnych, wynikający głównie z wyższej ceny żywności wygodnej.

Praca finansowana z projektu badawczego własnego nr N N312 2867 33 realizowanego w latach 2007-2009

Literatura

- [1] Bonke J.: Economic influences on food choice – non convenience versus convenience food consumption. In: Meiselman & MacFie Eds. Food Choice Acceptance and Consumption. Blackie Academic, London 1996, pp. 293-317.
- [2] de Boer M., McCarthy M., Cowan C., Ryan I.: The influence of lifestyle characteristics and beliefs about convenience food on the demand for convenience foods in the Irish market. Food Qual. Prefer., 2004, **15**, 155-165.
- [3] Byrne D.: The state we're in. Marketing, 1998, **2**, 14-15.
- [4] Capps O., Tedford J.R., Havlíček J.: Impact of household composition on convenience and non-convenience food expenditures in the South. Southern J. Agric. Econ., 1983, 111-118.
- [5] Cronin T.: Convenience food consumption in Ireland. Thesis, Dublin City University and The National Food Centre, 1999.
- [6] Douglas S.: Cross-national comparisons and consumer stereotypes: a case study on working and non working wives in the US and France. J. Consum. Res., 1976, **3**, 226-231
- [7] Gawęcki J.: Żywność nowej generacji a racjonalne żywienie. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2002, **4 (33)**, 5-14.
- [8] Gutkowska K., Ozimek I.: Wybrane aspekty zachowań konsumentów na rynku żywności – kryteria różnicowania. Wyd. SGGW, Warszawa 2005.
- [9] Hełpa E., Trębacz A.: Dania gotowe w preferencjach konsumentów. Przem. Spoż., 1999, **2**, 44-46
- [10] Kabacińska A., Nazarewicz R., Czynniki wyboru oraz częstotliwość spożycia żywności wygodnej w wybranej grupie konsumentów. Roczn. Nauk. SERiA, 2005, VII, **8**, 93-97.
- [11] Kozłowska K., Szczecińska A., Roszkowski W.: Perception of convenience food by older people living in Warsaw. Pol. J. Food Nutr.Sci., 2006, 15/56, **2**, 227-233.
- [12] Krelowska-Kułas M.: Badania preferencji konsumenckich żywności wygodnej. Zesz. Nauk. AE w Krakowie 2005, **678**, 141-148.
- [13] Sojkin B., Małecka M., Olejniczak T., Bakalarska M.: Konsument wobec innowacji produktowych na rynku żywności. Wyd. UE, Poznań 2009.
- [14] Świderski F. (pod red.): Żywność wygodna i żywność funkcjonalna, WNT, Warszawa 1999.

- [15] Verlegh P.W.J., Candell M.J.J.M.: The consumption of convenience foods: reference group and eating situations. *Food Qual. Prefer.*, 1999, **10**, 457- 464.
- [16] Wierzbicka E., Roszkowski W.: Ocena spożycia żywności z uwzględnieniem fast food w wybranej grupie młodzieży. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, Supl, 561-566.
- [17] Zwierzyk J.: Żywność wygodna na przykładzie żywności spożywanej poza domem ze szczególnym uwzględnieniem sieci typu fast food. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, Supl, 555-559.

CONSUMER ATTITUDES AND BEHAVIOURS TOWARDS CONVENIENCE FOOD

S u m m a r y

Based on the survey of consumers as regards the convenience food, it was found that the majority of the surveyed knew this food, but the consumption thereof was at an average 'from time to time' frequency level, i.e. once or several times a month. The gender, professional activity, and place of usual residence did not substantially impact the consumption of convenience food. Positive attitudes towards the convenience food were declared by more than half of the respondents, first of all by the young respondents. Almost half of the polled did not see any risk in eating convenience food, and 1/4 of the survey did not care for healthful values of and risks involved in eating convenience food. The polled who showed positive attitudes and were convinced of the healthful values of convenience food and of benefits resulting from applying it in menu, declared more often that they were going to eat it during the coming three months. The persons showing negative attitudes or those undecided were not interested in consuming this food in the future. The reason thereof can be conservatism and lack of interest in including innovative products into everyday diet, being mainly a consequence of higher prices of convenience food.

Key words: frequency of consumption, consumer, attitudes, opinions, convenience food ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 30 czerwca 2010 r.

1. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 maja 2010 r. w sprawie niektórych wymagań weterynaryjnych, jakie powinny być spełnione przy produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego w określonych zakładach o małej zdolności produkcyjnej (Dz. U. 2010. Nr 98, poz. 629).

Zostały wprowadzone nowe wymagania weterynaryjne dotyczące konstrukcji, rozplanowania i wyposażenia, jakie powinny być spełnione przy produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego w zakładach rozbioru mięsa oraz zakładach produkujących mięso mielone lub surowe wyroby mięsne. Wymagania te dotyczą zakładów o małej zdolności produkcyjnej, w których tygodniowo produkuje się nie więcej niż:

- pięć ton mięsa bez kości lub równoważną ilość mięsa z kością – w przypadku zakładów rozbioru mięsa,
- siedem i pół tony łącznie mięsa mielonego lub surowych wyrobów mięsnych – w przypadku zakładów produkujących mięso mielone lub surowe wyroby mięsne.

2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 maja 2010 r. w sprawie niektórych wymagań weterynaryjnych, jakie powinny być spełnione przy produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego w rzeźniach o małej zdolności produkcyjnej (Dz. U. 2010. Nr 98, poz. 629).

Rozporządzenie określa niektóre wymagania weterynaryjne dotyczące konstrukcji, rozplanowania i wyposażenia, jakie powinny być spełnione przy produkcji produk-

tów pochodzenia zwierzęcego w rzeźniach o małej zdolności produkcyjnej, w których rocznie poddaje się ubojowi nie więcej niż:

- 1 000 jednostek przeliczeniowych zwierząt gospodarskich kopytnych lub kopytnych zwierząt dzikich utrzymywanych w warunkach fermowych, przy maksymalnej liczbie 20 jednostek przeliczeniowych zwierząt w tygodniu,
- 150 000 sztuk drobiu,
- 100 sztuk ptaków bezgrzebieniowych. ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR

WSPÓŁCZESNY LEKSYKON WIEDZY O ŻYWNOSCI

Prezentujemy 44. część haseł *Współczesnego leksykonu wiedzy o żywności*. Druk leksykonu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 3 (28), 2001.

AMFIBOLIZM / AMPHIBOLISM – przemiany biochemiczne prowadzące do powstawania metabolitów pośrednich, które mogą być włączone zarówno w procesy anaboliczne, jak i kataboliczne

CZYNNIKI ABIOTYCZNE / ABIOTIC FACTORS – czynniki natury fizycznej określające warunki środowiska nieorganicznego (przyrody nieożywionej), samodzielnie lub wraz z innymi czynnikami, wywierające wpływ na ekosystemy będące na różnym poziomie organizacji. Abiotyczne składniki środowiska w głównym stopniu kształtują biotop oraz wpływają istotnie na zamieszkujące go rośliny i zwierzęta, które muszą na drodze ewolucji przystosować się do nich

GLUKOZURIA / GLUCOSURIA – cukromocz, obecność cukru w moczu. W zależności od rodzaju cukru w moczu można rozróżnić: glukozurię – przy obecności glukozy, galaktozurię – przy obecności galaktozy, fruktozurię – przy obecności fruktozy, laktozurię – przy obecności laktozy, pentozurię – przy obecności cukrów z grupy pentoz, takich jak: ryboza, rybuloza, ksyloza, ksyluloza

PROTEINURIA / PROTEINURIA – białkomocz, występowanie białka w moczu. Rozróżnia się białkomocz fizjologiczny – dobową utratę białka ≤ 250 mg (występuje m.in. w stanach dużego wysiłku fizycznego). Białkomocz patologiczny – dobową utratę białka wynosi ≥ 500 mg (niektórzy podają wartość ≥ 300 mg)

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

TALASEMIA / THALASSEMIA – niedokrwistość hemolityczna wynikająca z niewystarczającego wytwarzania podjednostek α - lub β -hemoglobiny; α -talasemia jest spowodowana niewystarczającą syntezą α -globiny, a β -talasemia β -globiny

WITAMINA B₁₅ / VITAMIN B₁₅ – składa się z kwasu pangamowego i dimetyloglicyny. Kwas pangamowy jest stałym składnikiem diety, dlatego nie zawsze jest zaliczany do witamin. Podobnie dimetyloglicyna nie musi być dostarczana do organizmu z zewnątrz. Obydwa te związki, czyli witamina B₁₅, mają właściwości lipotropowe – wzmagają trawienie tłuszczów i uwalnianie wolnych kwasów tłuszczowych do krwi. Ponadto witamina B₁₅ stymuluje metabolizm komórkowy, zwiększając przyswajanie tlenu. Działa również na centralny układ nerwowy, zwiększając koncentrację, polepszając samopoczucie. Występuje w ziarnach i łuskach zbóż, drożdżach, nasionach dyni

WITAMINA B₁₇ / VITAMIN B₁₇ – inaczej nazywana amygdaliną lub letreilem. Jest to związek chemiczny (glikozyd) zbudowany z cukru, benzaldehydu i cyjanku. Jej rola fizjologiczna nie jest wyjaśniona. Prowadzone są badania jej właściwości przeciwnowotworowych. W dużych ilościach może być toksyczna ze względu na zawartość związków cyjanowych. Występuje w pestkach owoców, głównie moreli, jabłek, śliwek i czereśni

ZWIĄZKI ROZPRZĘGAJĄCE / UNCOUPLING COMPOUNDS – są to związki zdolne rozprzegać proces oksydacyjnej fosforylacji, co powoduje uniemożliwienie syntezy ATP, bez hamowania przebiegu łańcucha oddechowego. Związki te rozprzęgają przebieg łańcucha oddechowego od syntezy ATP, w związku z czym energia uwalniana jest w postaci ciepła. Należą do nich związki naturalne i syntetyczne. Do związków naturalnych należą białka rozprzęgające, stanowiące rodzinę białek transportujących aniony przez wewnętrzną błonę mitochondrialną oraz hormony tarczycy, tyroksyna i trójjodotyronina. Syntetycznymi związkami rozprzęgającymi są dinitrofenol i dinitrokrezol. Poza tym, czynnik fizyczny, jakim jest zimno, może również wywołać efekt rozprzegania fosforylacji oksydatywnej ☒

NOWE KSIĄŻKI

Food Processing Technology: Principles and Practice

[Technologia przetwórstwa żywności: zasady i praktyka]

Fellows P.J.

Wydawnictwo: Woodhead Publishing, 2009, ISBN 978-14-3980-821-4, stron 928, cena 73,95 USD

Zamówienia: www.crcpress.com

W książce dokonano wprowadzenia do szeregu technik wykorzystywanych w produkcji i przetwórstwie żywności. Wyjaśniono zasady dotyczące każdego procesu, zastosowanego wyposażenia technicznego, warunków pracy urządzeń produkcyjnych, skutków zanieczyszczenia żywności przez mikroorganizmy, jak również omówiono biochemiczne właściwości żywności i jej jakość żywieniową oraz sensoryczną.

Zasadniczy materiał poprzedza wyjaśnienie podstawowych pojęć z zakresu technologii żywności. Następnie opisano pojedyncze operacje, jakie zachodzą w temperaturze otoczenia lub po uwzględnieniu minimalnego ogrzewania żywności. W kolejnych rozdziałach analizie poddano techniki stosowane do ogrzewania żywności, zapobiegające jej zepsuciu lub zmieniające jakość żywieniową. W książce omówiono także operacje stosowane do usuwania ciepła z żywności w celu przedłużenia jej trwałości. W końcowych rozdziałach autor dokonał przeglądu operacji poprocesowych, uwzględniając m.in. pakowanie i logistykę dystrybucji.

Książka przeznaczona jest dla studentów studiujących na kierunkach technologii żywności, żywienia człowieka, towaroznawstwa i innych pokrewnych z obszaru nauk o żywności oraz osób, którzy zajmują się produkcją i przetwórstwem żywności.

Zarządzanie bezpieczeństwem żywności. Teoria i praktyka

Kołożyn-Krajewska D., Sikora T.

Wydawnictwo: C.H. Beck, 2010, ISBN 978-83-7526-702-0, stron 383, cena 55 zł.

Zamówienia: www.ksiegarnia.beck.pl

Bezpieczeństwo żywności jest dla współczesnego konsumenta najważniejszą cechą, której oczekuje od nabywanej żywności. Sfera zapewnienia tego bezpieczeństwa jest obecnie ściśle regulowana normami prawa unijnego i krajowego. W ostatnim dziesię-

cioleciu nastąpiło wiele zmian, poczynając od opublikowania dyrektywy 93/43/EEC w czerwcu 1993 r. do opublikowania „pakietu rozporządzeń higienicznych” w kwietniu 2004 r. i opublikowania norm ISO serii 22000. Książka jest kompleksowym opracowaniem problematyki związanej z zarządzaniem bezpieczeństwem żywności. Autorzy omawiają zwłaszcza takie zagadnienia, jak: podstawowe uwarunkowania zapewnienia jakości żywności, w tym zagrożenia biologiczne i chemiczne; podstawy ustawodawstwa żywnościowego; dobre praktyki produkcyjne i higieniczne; system HACCP; metody i systemy zapewnienia jakości i zarządzania nią w przetwórstwie żywności, w tym funkcje laboratoriów.

Przedstawione zagadnienia teoretyczne zostały poparte przez Autorów licznymi przykładami z praktyki gospodarczej. Zamieszczono także dwa aneksy zawierające przykładowe księgi: HACCP dla zakładu przetwórczego oraz GHP/GMP i HACCP dla zakładu gastronomicznego.

Publikacja jest przeznaczona zarówno dla wykładowców, doktorantów i studentów uczelni wyższych na kierunkach technologii żywności, żywienia człowieka, towaroznawstwa i innych pokrewnych z obszaru nauk o żywności, jak i dla wszystkich tych, którzy zajmują się przetwórstwem i dystrybucją żywności w praktyce.

Zarządzanie jakością i bezpieczeństwem żywności

Praca zbiorowa pod red. T. Trziszki

Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław 2009, ISBN 978-83-60574-88-1, stron 515.

Zamówienie: e-mail: wyd@up.wroc.pl

Problematyka zarządzania bezpieczeństwem żywności i jakością jest rozwijana w kolejnych ośrodkach w kraju. Owocem tej pracy jest nowy podręcznik akademicki opracowany przez zespół składający się w głównej mierze z pracowników Katedry Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością kierowany przez prof. Tadeusza Trziszkę. Podręcznik powstał w wyniku blisko 10-letniej pracy zespołu realizującego program dydaktyczny i naukowo-badawczy w zakresie zarządzania jakością na Wydziale Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Podręcznik składa się z dwóch części: teoretycznej (rozdz. I – VII), w której zaprezentowano aktualną wiedzę dotyczącą omawianej problematyki oraz praktycznej (rozdz. VIII) z przykładami w formie ćwiczeń. Został przygotowany z myślą o studentach studiów stacjonarnych i niestacjonarnych uniwersytetów przyrodniczych oraz słuchaczy studiów podyplomowych z zakresu zarządzania bezpieczeństwem żywności i jakością. Książkę można polecić także wszystkim zainteresowanym tą tematyką m.in. kadrze kierowniczej przemysłu spożywczego, urzędowych służb nadzoru, pracownikom jednostek certyfikujących oraz nauczycielom szkół średnich.

Mięso i przetwory drobiowe. Technologia, higiena, jakość

Grabowski T., Kijowski J.

Wydawnictwo: WNT, Warszawa 2009, ISBN 978-83-204-3601-3, stron 574, cena 53,10 zł.

Zamówienia: www.wnt.pl

W książce przedstawiono, z uwzględnieniem norm Unii Europejskiej, zagadnienia dotyczące technologii, higieny produkcji wyrobów z mięsa drobiowego oraz jakości mięsa drobiowego i przetworów drobiowych. Szczególną uwagę zwrócono na bezpieczeństwo zdrowotne produktów drobiowych oraz zasady sanitarne i weterynaryjne w produkcji mięsa i przetworów drobiowych. Omówiono też, ważny z punktu widzenia ochrony środowiska, temat ekologicznego gospodarowania wodą oraz ściekami w rzeźniach i przetwórnictwie drobiu.

Podręcznik jest przeznaczony przede wszystkim dla studentów akademii rolniczych, politechnik, instytutów branżowych – wydziałów technologii żywności, medycyny weterynaryjnej. Będzie również przydatny lekarzom weterynarii sprawującym nadzór sanitarny na terenie zakładów drobiarskich oraz technologom żywności i pracownikom związanym z produkcją i dystrybucją produktów drobiowych, hodowców i producentów drobiu, pracowników inspekcji weterynaryjnej.

Podstawy biotechnologii przemysłowej

Praca zbiorowa pod red. W. Bednarskiego i J. Fiedurka

Wydawnictwo: WNT, Warszawa 2009, ISBN 978-83-204-3492-7, stron 367, cena 72,00 zł.

Zamówienia: www.wnt.com.pl

W książce dokonano wprowadzenia w historię biotechnologii i wskazano jej tendencje rozwojowe. W podręczniku zostały przedstawione ogólne zasady procesów mikrobiologicznych, na których bazuje biotechnologia. Opisano zagadnienia inżynierii bioreaktorów w aspekcie przebiegających w nich procesów (mikrobiologicznych, biochemicznych, a także fizycznych). Omówiono także metody wydzielania, oczyszczania i utrwalania bioproduktów odprowadzanych z bioreaktorów oraz rolę i zastosowanie enzymów w technologii 'bio'. Podano także przykłady technologii wybranych bioproduktów tj. preparatów enzymatycznych, lipidów, kwasów organicznych, alkoholi, polisacharydów, aminokwasów, witamin, biosurfaktantów, a także nośników energii (np. biogaz).

Podręcznik kierowany jest do studentów biotechnologii, technologii żywności i żywienia człowieka, farmacji, inżynierii chemicznej i procesowej, a także dla pracowników naukowych i inżynierskich, zajmujących się praktyczną realizacją procesów biotechnologicznych.

Opracowała: *Anna Gręda*

TECHNOLOG ŻYWNOSCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 20 Nr 4

wrzesień 2010

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Polskie Towarzystwo Technologów Żywności

W tym roku mija 20. rocznica powołania Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności. Fakt, że daty dotyczące tej rocznicy przypadają w okresie wakacyjnym spowodował, że rocznica ta chyba nie została zauważona przez nasze środowisko. Otóż 23.06.1990 r. w Warszawie odbyło się zebranie założycielskie PTTŻ, a 17.08. 1990 r. Sąd Wojewódzki w Warszawie zarejestrował Towarzystwo. W dniu 4.09.1990 r. ukonstytuował się Zarząd Główny PTTŻ.

Oddział Małopolski

W dniach od 21 do 25 czerwca 2010 r. w Krakowie odbyła się XVIII Międzynarodowa Konferencja Skrobiowa. Konferencję zorganizowano przy współudziale: Oddziału Małopolskiego PTTŻ, Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, Russian Academy of Sciences, Institute of Biochemical Physics, Division of Storage and Processing of Farming Stuff of Russian Academy of Agricultural Sciences, All-Russia Institute of Starch Products Association of Russian Starch and Glucose Manufactures.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYNARODOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2010 r.

Wrzesień

- 1 - 3 **MIĘDZYDROJE = IX Krajowe Warsztaty Żywieniowe n.t. „Niepożądane reakcje pokarmowe i zaburzenia odżywiania”**
Organizator: Katedra Higieny Żywności Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
Kontakt: tel./fax (61) 848 73 32
- 5 - 8 VITORIA-GASTEIZ, SPAIN = Fourth European Conference on Sensory and Consumer Research: “A Sense of Quality”
Organizator: University of Basque Country
Kontakt: e-mail: eurosense@elsevier.com

20 - 22 POZNAŃ = ExTech 2010 – The 12th International Symposium on Advances in Extraction Technologies

Organizator: Zakład Koncentratów Spożywczych UP w Poznaniu
 Kontakt: tel: (61) 848 72 75 fax: (61) 848 73 14
 e-mail: zks@up.poznan.pl
 www.extech2010.org

Październik**7 - 8 KRAKÓW = III Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Modern trends in meat production”**

Organizatorzy: Oddział Małopolski PTTŻ, Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych i Małopolskie Centrum Monitoringu i Atestacji Żywności Wydz. TŻ UR im. H. Kołłątaja w Krakowie, British Society of Animal Science (BSAS), Institute of Animal Husbandry, Belgrad, Lithuanian Veterinary Academy Kaunas, Institute of Animal Science Skopje
 Kontakt: tel. (12) 662-47-85
 e-mail: w.migdal@ur.krakow.pl; wmgdal@bochnia.pl;

22 - 23 LASKI k. KĘPNA = Konferencja n.t. "Rozwój aparatury i prac naukowo-badawczych w przetwórstwie rolno-spożywczym, gospodarce rolnej i leśnej w zakresie automatyzacji procesów oraz w analityce"

Organizator: ITŻPR oraz COBRABiD Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
 Kontakt: tel.: (61) 848-7272, fax (61) 848-7314
 e-mail: sekitzpr@up.poznan.pl

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA
 TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI

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

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

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

Przy Oddziale Szczecińskim: **Hartim 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.**

Materiał zawarty w Nr 4 (71)/2010 Biuletynu podano według stanu informacji do 1 września 2010 r. Materiały do Nr 5 (72) /2010 prosimy nadsyłać do 1 października 2010 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, prof. UP 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